

# 海南省 81 例真菌性角膜溃疡病原学分析

何宏<sup>1</sup>, 刘红山<sup>1</sup>, 陈晓莲<sup>1</sup>, 吴娇婵<sup>1</sup>, 钟兴武<sup>1,2</sup>

基金项目: 2016年海南省重点研发项目(No. ZDYF2016111); 2016年海南省自然科学基金项目(No. 20168335)  
作者单位:<sup>1</sup>(570010)中国海南省海口市, 中山大学中山眼科中心海南眼科医院 海南省眼科重点实验室;<sup>2</sup>(510060)中国广东省广州市, 中山大学中山眼科中心 国家眼科重点实验室  
作者简介: 何宏, 博士, 主治医师, 研究方向: 眼表疾病防治。  
通讯作者: 钟兴武, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 眼表疾病、近视眼防治。xingzh88@hotmail.com  
收稿日期: 2016-07-16 修回日期: 2017-06-07

## Pathogenologic analysis on fungal keratitis in 81 eyes in Hainan Province

Hong He<sup>1</sup>, Hong-Shan Liu<sup>1</sup>, Xiao-Lian Chen<sup>1</sup>, Jiao-Chan Wu<sup>1</sup>, Xing-Wu Zhong<sup>1,2</sup>

**Foundation items:** Hainan Key Research and Development Program 2016 (No. ZDYF2016111); Natural Science Foundation of Hainan 2016 (No. 20168335)

<sup>1</sup>Hainan Eye Hospital Branch of Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University; Key Laboratory of Ophthalmology in Hainan, Haikou 570010, Hainan Province, China; <sup>2</sup>Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University; National Key Laboratory of Ophthalmology, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China

**Correspondence to:** Xing-Wu Zhong. Hainan Eye Hospital Branch of Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University; Key Laboratory of Ophthalmology in Hainan, Haikou 570010, Hainan Province, China; Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University; National Key Laboratory of Ophthalmology, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China. xingzh88@hotmail.com

Received: 2016-07-16 Accepted: 2017-06-07

## Abstract

• **AIM:** To analyze the etiological and epidemiological characteristics of fungal keratitis in the Hainan Province of China with a warm and humid tropical climate.

• **METHODS:** Eighty-one patients (81 eyes) with fungal keratitis who attended the Corneal Services of Hainan Province Eye Hospital from January 2014 to December 2016 were retrospectively reviewed. The characteristics of fungal population, the age distributions of patients, the seasonal distribution of disease and the risk factor were analyzed. The treatment of fungal keratitis was reviewed. The positive rates of KOH based smear and fungal culture were assessed and analyzed using the Chi-squared test.

• **RESULTS:** Eighty-one patients of fungal keratitis (including 81 eyes) were involved. The ration of the

male and female was 2:1. The median age was 51 years. Corneal trauma seems to be the most common risk factor. Of all cases, 45 patients (55%) were greater than or equal to 50 years old. Twenty-eight (35%) were between 30-50 years old. Eight (10%) were less than or equal to 30 years old. Twenty-nine cases (36%) appeared in the first quarter indicated that fungal keratitis was most popular in the winter in Hainan Province. Standard fungal cultures were performed in 81 cases. Seventy-one of the 81 samples (88%) grew fungi. Fungal smear tests were performed in 80 cases. Forty-one cases (51%) were confirmed to be fungal keratitis by 10% KOH count. Statistical differences were found in the positive rates between fungal culture and fungal smear test ( $\chi^2 = 23.730, P < 0.01$ ). The predominant fungal species isolated was *Fusarium* sp. in 34 cases (48%) followed by asporogenous strain in 11 cases (15%). Antifungal drugs were applied in all cases. Conjunctival flap transplantation was performed in 23 cases (28%), penetrating keratoplasty in 9 cases (11%), and evisceration in 7 cases (9%).

• **CONCLUSION:** The predominant fungal species isolated is *Fusarium* sp. followed by asporogenous strain. The fungal keratitis is most popular in the first quarter in Hainan Island. Corneal trauma seems to be the most common risk factor. Multidisciplinary approach, including the combined application of surgery and antifungal drugs is the treatment strategy common used for the fungal keratitis. The positive rate of fungal culture is higher than fungal smear test.

• **KEYWORDS:** fungal; keratitis; pathogeny

**Citation:** He H, Liu HS, Chen XL, *et al.* Pathogenologic analysis on fungal keratitis in 81 eyes in Hainan Province. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2017;17(7):1330-1333

## 摘要

**目的:** 探讨中国海南省真菌性角膜溃疡的病原学特点及流行病学特征。

**方法:** 收集 2014-01/2016-12 在中山大学中山眼科中心海南眼科医院住院治疗的真菌性角膜溃疡确诊病例 81 例 81 眼的基本资料。分析致病真菌种群分布特点、患者年龄分布特点、患病季节分布构成比以及疾病危险因素。回顾分析真菌性角膜溃疡治疗方式, 计算角膜溃疡坏死组织的真菌培养及鉴定、真菌涂片结果阳性率, 卡方检验比较两种实验室检查方法阳性检出率。

**结果:** 选取临床诊断真菌性角膜溃疡患者 81 例 81 眼, 其中男 54 眼, 女 27 眼, 年龄中位数 51 岁。角膜外伤是最常见的危险因素。≥50 岁患病人数 45 眼 (55%), 占比

最大;其次为>30~<50岁年龄段人群组28眼(35%);≤30岁人群组8眼(10%),占比最小。第一季度是全年真菌性角膜溃疡的高发时段,患病人数占36%。81份真菌培养样本阳性例数71眼,阳性率88%。80份角膜坏死物涂片样本,阳性样本共41眼,阳性率51%。真菌涂片阳性检出率低于真菌培养,差异有统计学意义( $\chi^2=23.730, P<0.01$ )。主要致病性真菌依次为镰刀菌属34眼(48%),不产孢子菌11眼(15%)。治疗上均采用了多种抗真菌药物治疗,23眼(28%)联合角膜清创+结膜瓣遮盖术治疗;9眼(11%)联合角膜移植术;7眼(9%)联合眼内容物剜除术。

**结论:**中国海南省本岛真菌性角膜溃疡的最主要致病菌是镰刀菌属、不产孢子菌,高发季节为1~3mo。患者多有角膜外伤史。抗真菌药物及手术治疗是目前真菌性角膜溃疡的主要治疗手段。与真菌涂片相比较,真菌培养具有更高的阳性检出率。

**关键词:**真菌性;角膜溃疡;病原学

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2017.7.34

**引用:**何宏,刘红山,陈晓莲,等.海南省81例真菌性角膜溃疡病原学分析.国际眼科杂志2017;17(7):1330-1333

## 0 引言

真菌性角膜溃疡是一类在全球范围内广泛发生的严重致盲性眼病<sup>[1-2]</sup>。诊疗过程常因为致病微生物鉴定困难、抗真菌药物不敏感、治疗费用昂贵等原因导致患者病情迁延不愈最终失明<sup>[3-10]</sup>。近年来多个研究指出,相对于气候寒冷干燥的地区以及工业发达国家,该疾病尤其好发于气候温暖湿润的热带发展中国家和地区,且其发病率呈逐年上升的趋势<sup>[2-3,6-7,10-12]</sup>。海南省地处中国最南端,全岛位于南北回归线之间,是中国唯一的热带岛屿省份,常年高热,气候湿润,农牧业发达。不论是自然环境还是人文环境都有利于真菌性角膜溃疡的发生<sup>[13-14]</sup>。此项研究,通过收集2014-01/2016-12中山大学中山眼科中心海南眼科医院确诊为真菌性角膜溃疡住院患者临床及实验室相关资料,分析海南省真菌性角膜溃疡致病菌分布情况、发病特点、治疗方式等,为中国热带地区真菌性角膜溃疡的临床诊疗提供研究依据。

## 1 对象和方法

**1.1 对象** 收集2014-01/2016-12中山大学中山眼科中心海南眼科医院确诊真菌性角膜溃疡的连续病例81例81眼,采集患者基本资料(包括年龄、性别、是否有眼外伤史等)。诊断标准参考第五版《眼科学》<sup>[15]</sup>,除结合患者病史、临床表现、角膜溃疡形态外,凡100g/L氢氧化钾(KOH)涂片检查和/或真菌培养阳性的患者,即确诊为真菌性角膜溃疡,纳入研究队列。

**1.2 方法** 角膜取材及实验室检查:5g/L丁卡因对患者患眼实施表面麻醉,无菌条件下标本采集刀片刮取溃疡边缘与健康角膜交界处角膜坏死浸润组织,做直接涂片并送真菌培养。直接涂片检查采取100g/L氢氧化钾湿片法。真菌培养和鉴定则采用沙保弱培养基,在28℃条件下恒温培养箱培养3~10d。根据菌丝形态、有无孢子、孢子特点等对菌种进行鉴定。真菌的湿片检查以及真菌培养、鉴定均由有经验的2名技师在双盲前提下进行。

统计学分析:用SPSS22.0进行数据统计,采用构成比对致病真菌菌属、疾病发生年龄、发生季节、危险因素、治疗方式进行描述性统计分析。真菌培养及真菌涂片两种实验室检测方法的检出率的比较采用卡方检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 患者性别及年龄分布特点** 真菌性角膜溃疡确诊病例81例81眼。患者地域分布上涵盖了海南省全境14个主要城镇(包括海口、三亚、东方、文昌、琼中、万宁等)。其中男54眼,女27眼,年龄8~97(平均49.8)岁,中位数51岁。≥50岁患者45眼(55%);>30~<50岁患者28眼(35%);≤30岁患者8眼(10%)。其中50岁以上人群组患病人数最多。农民70眼(86%)。角膜外伤43眼(53%)。

**2.2 主要致病真菌实验室检验情况及分布特点** 本研究纳入真菌性角膜溃疡确诊病例81眼,真菌培养阳性例数71眼,阳性率88%,其中发现混合真菌感染病例2眼(茎点霉+不产孢子菌1眼;茎点霉+杂色曲霉1眼),混合细菌感染1眼(茄病镰刀菌+铜绿假单胞菌)。主要致病性真菌依次为镰刀菌属34眼(48%),不产孢子菌11眼(15%),茎点霉7眼(10%),曲霉菌6眼(8%),见表1。80份角膜坏死物直接涂片样本,阳性样本共41眼,阳性率51%。真菌培养检出率明显高于直接涂片检出率,差异有统计学意义( $\chi^2=25.194, P<0.01$ )。

**2.3 真菌性角膜溃疡的季节分布特点** 四个季度真菌性角膜溃疡患病例数分布不均匀。第一季度(1~3mo)真菌性角膜溃疡发病例数最多,共29眼(36%);其次为第四季度(10~12mo),共21眼(26%);第二季度发病例数15眼(19%);第三季度发病例数16眼(20%)。

**2.4 危险因素和治疗方式** 本研究中明确伴有眼外伤的患者43眼(53%),其中动植物性角膜损伤39眼,其他原因损伤4眼(包括“砂轮”“铁钉”“砂石”“睫毛膏”),无明显诱因38眼。81眼患者就诊时都首先采用多种抗真菌药物治疗(那他霉素滴眼液、氟康唑滴眼液、氟康唑眼膏、伏立康唑胶囊)。因为角膜溃疡严重或抗真菌药物治疗效果不佳的患者继而接受了联合手术治疗。其中联合角膜清创+结膜瓣遮盖术23眼(28%),联合角膜移植术9眼(11%),联合眼内容物剜除术7眼(9%)。

## 3 讨论

真菌性角膜溃疡是一类严重的感染性眼表疾病,具有较高的致残率,尤其高发于热带农业发达地区<sup>[16-17]</sup>。该疾病在临床诊断上往往存在滞后性。其主要原因包括:(1)真菌致病菌谱变异性大<sup>[18-20]</sup>;(2)临床表现上缺乏高度的特异性,早期临床诊易与细菌性角膜溃疡、阿米巴性角膜溃疡等其他病原体引起的感染性眼表疾病混淆<sup>[18,21]</sup>;(3)缺乏高效快速经济的实验室病原鉴定手段。传统病原学鉴定手段(如真菌培养、真菌涂片)主要基于对病原体的形态学认识,对检查人员的专业知识水平有极高的依赖性,且存在耗时长、准确度相对较低的问题。现代的病原学鉴定手段(如角膜共聚焦显微镜、分子生物学检测)虽然提高了诊断的检出率和准确性,但是对检查设备和人员要求极高且检查费用昂贵<sup>[20,22-23]</sup>。除了诊断上的滞后性,目前治疗药物的选择上也缺乏高效、低毒、广谱的抗真菌药物<sup>[24]</sup>。因此,真菌性角膜溃疡在临床诊疗过程中常常表现出病程长、费用高、疗效差的特点。海



表1 致病真菌种属构成特点

真菌	菌种数(株)	构成比(%)
镰刀菌属	34	48
茄病镰刀菌	32	45
串珠镰刀菌	1	1
尖孢镰刀菌	1	1
不产孢子菌	11	15
茎点霉	7	10
曲霉菌	6	8
黑曲霉	2	3
烟曲霉	1	1
土曲霉	1	1
杂色曲霉	1	1
构巢曲霉	1	1
酵母属	2	3
枝顶孢属	4	6
其他	7	10
犬小孢子菌	1	1
互隔链隔孢	4	6
阿萨希毛孢子菌	1	1
赛多孢属	1	1
合计	71	100

南省作为中国唯一的热带岛屿省份拥有独特的地理和气候特性,是典型的热带农业发达地区。高温湿热的环境,农业为主的生活方式都导致了真菌性角膜溃疡的高发。但是回顾文献我们发现,近5a来海南省真菌性角膜溃疡的分析报道却十分有限,因此本研究着眼于海南省本岛真菌性角膜溃疡,对致病真菌谱、疾病特点、治疗手段进行了横断面的分析研究。

我们的研究指出真菌性角膜溃疡患者中86%为农民,这与陈王灵等<sup>[13]</sup>2007年关于海南地区真菌性角膜溃疡研究的报道结果相似。我们推断农业工作大大增加了患者与动植物接触的机会,从而增加了真菌感染几率。此外,本研究显示真菌性角膜溃疡男女比例达到2:1,50岁及50岁以上人群占比最高。这些证据均指出壮年务农男性是海南省真菌性角膜溃疡的高发人群。此结果与2007年陈王灵等<sup>[13]</sup>的报道有差异。在陈王灵的报道中,海南地区真菌性角膜溃疡患者多为女性。但是在陈王灵的研究中男性患者56例,女性58例,事实上男女患者数量差异并不明显。回顾历史文献,多个研究明确指出真菌性角膜溃疡的相关危险多种多样,包括角膜外伤、隐形眼镜配戴、慢性眼表疾病等。英国等欧洲高纬度发达国家中隐形眼镜配戴以及慢性眼表疾病为其主要危险因素<sup>[25]</sup>。印度等低纬度发展中国家则以角膜外伤,尤其是植物相关角膜外伤为主<sup>[26]</sup>。我们的研究中43眼(53%)有明确角膜外伤史,这与低纬度发展中国家地区研究结果一致,证明角膜外伤是海南省真菌性角膜溃疡的主要危险因素。所以,在可能导致眼外伤的工作中(尤其是农业工作中)应尽量配戴防护眼镜,一旦发生角膜外伤应及时就医,避免揉搓。

除此之外,我们还发现海南省真菌性角膜溃疡的发病具有其独特的季节特性。上海地区真菌性角膜溃疡的好发季节为7~9mo<sup>[27]</sup>,山东为7~12mo<sup>[28]</sup>。但是,海南

省真菌性角膜溃疡的高发季节是1~3mo。与中国大陆地区不同,1~3mo海南的大部分地区处于高温,高湿的环境当中,再加上避开秋季台风后,海南的农民在1~3mo再次进入农忙季节。这些都为真菌性角膜溃疡的高发创造了条件。

本研究显示,海南省真菌性角膜溃疡的主要致病菌中占比最大的仍然是镰刀菌属,这与国内其他地区报道相同<sup>[13,27-29]</sup>。但是,我们同时发现不产孢子菌在海南省真菌性角膜溃疡主要致病真菌构成谱中的占比很大,达到15.1%。国内关于不产孢子菌的报道十分少见,且主要见于南方地区<sup>[29]</sup>。在2006年陈玮<sup>[29]</sup>的真菌性角膜溃疡研究中,成功分离了215株真菌,其中仅仅发现3例不产孢子菌,占比1.4%。国外关于不产孢子菌病原微生物的报道则多见于以马来西亚为代表的热带国家和地区<sup>[30-31]</sup>。本研究对不产孢子菌的界定依据的是真菌形态观察及其在培养过程中表现出的无孢子产生的特殊生物特性。结果发现本研究报道的不产孢子菌菌株数以及菌株所占比例显著高于我国其他地区,我们认为其原因与海南省地处热带这一特殊的地理位置和气候特征紧密相关。由于目前我们对于不产孢子菌的认识相对较少,且目前所有抗真菌药物对不产孢子菌的治疗效果较差,所以在将来的研究中我们还将对不产孢子菌的生物学特性特点展开进一步研究。

在真菌性角膜溃疡的治疗上,目前首选治疗策略仍然是多种抗真菌药物的局部及全身运用。那他霉素、伏立康唑、复方两性霉素B、氟康唑等均是主要用药。对于保守治疗效果不佳,以及就诊时角膜溃疡情况严重的患者,我们多根据具体病情以及及时医疗资源配置情况,选择性联合结膜瓣遮盖、角膜移植甚至眼内容物剜出术。我们的研究显示,多种方式联合治疗的及时运用可以起到杀灭、抑制、移除致病真菌病灶,防止真菌向眼外扩散的作用。

综上所述,真菌性角膜溃疡致病真菌菌谱研究中普遍存在认识上的不完善性,尤其对于某些特殊类型的致病真菌缺乏了解。治疗上仍存在新药开发力度不够,真菌耐药性增加,角膜移植供体不足等挑战。我们的研究虽然对于中国热带地区真菌性角膜溃疡致病真菌的分类、疾病特点做出了有益的补充,并对该疾病的治疗现状进行了分析,但是仍然存在以下不足:(1)搜集病例数相对较少;(2)患者的地理分布仅包含海南本岛的主要城镇,未包含三沙市、南沙群岛等离岛岛屿情况;(3)本研究虽然明确指出了不产孢子菌在海南本岛致病真菌谱中的特殊地位,但并未就不产孢子菌的生物学特征及诊疗策略等进行过深入研究。这些现状都要求广大研究者进一步努力推进工作,对真菌性角膜溃疡的认识提供新的更成熟的见解,对该疾病防治提出更完善而有效的治疗策略及方案。

参考文献

- 1 Leck AK, Thomas PA, Hagan M, et al. Aetiology of suppurative corneal ulcers in Ghana and south India, and epidemiology of fungal keratitis. *Br J Ophthalmol* 2002;86(11): 1211-1215
- 2 Medina N, Samayoa B, Lau-Bonilla D, et al. Burden of serious fungal infections in Guatemala. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017;36(6):965-969
- 3 Gu gnani HC, Denning DW. Estimated Burden of Serious Fungal Infections in Jamaica by Literature Review and Modelling. *West Indian*

Med J 2015; 64(3): 245–249

4 Rodriguez-Tudela JL, Alastruey-Izquierdo A, Gago S, *et al.* Burden of serious fungal infections in Spain. *Clin Microbiol Infect* 2015;21(2): 183–189

5 Osmanov A, Denning DW. Burden of serious fungal infections in Ukraine. *Mycoses* 2015;58(Suppl 5): 94–100

6 Gugnani HC, Denning DW, Rahim R, *et al.* Burden of serious fungal infections in Bangladesh. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017;36(6): 993–997

7 Gugnani HC, Denning DW. Burden of serious fungal infections in the Dominican Republic. *J Infect Public Health* 2016; 9(1): 7–12

8 Ibrahim MM, de Angelis R, Lima AS, *et al.* A new method to predict the epidemiology of fungal keratitis by monitoring the sales distribution of antifungal eye drops in Brazil. *PLoS One* 2012; 7(3): e33775

9 Faini D, Maokola W, Furrer H, *et al.* Burden of serious fungal infections in Tanzania. *Mycoses* 2015; 58(Suppl 5): 70–79

10 Gangneux JP, Bougnoux ME, Hennequin C, *et al.* An estimation of burden of serious fungal infections in France. *J Mycol Med* 2016;26(4):385–390

11 Khwakhali US, Denning DW. Burden of serious fungal infections in Nepal. *Mycoses* 2015; 58(Suppl 5): 45–50

12 Gopinathan U, Garg P, Fernandes M, *et al.* The epidemiological features and laboratory results of fungal keratitis: a 10-year review at a referral eye care center in South India. *Cornea* 2002;21(6):555–559

13 陈王灵,赵普宁,欧波,等. 海南地区真菌性角膜溃疡病原菌及其鉴定分析. *海南医学* 2007;18(11): 159–160

14 韩萍. 真菌性角膜溃疡 84 例临床分析. *中国热带医学* 2009; 9(6): 1054

15 惠延年. *眼科学*. 第 5 版. 北京: 人民卫生出版社 2002: 83–84

16 Gopinathan U, Sharma S, Garg P, *et al.* Review of epidemiological features, microbiological diagnosis and treatment outcome of microbial keratitis: experience of over a decade. *Indian J Ophthalmol* 2009;57(4):273–279

17 Aruljyothi L, Radhakrishnan N, Prajna VN, *et al.* Clinical and microbiological study of paediatric infectious keratitis in South India: a 3-year study (2011–2013). *Br J Ophthalmol* 2016; 100(12): 1719–1723

18 Mascarenhas J, Lalitha P, Prajna NV, *et al.* Acanthamoeba, fungal, and bacterial keratitis: a comparison of risk factors and clinical features. *Am J Ophthalmol* 2014; 157(1):56–62

19 Gower EW, Keay LJ, Oechsler RA, *et al.* Trends in fungal keratitis in the United States, 2001 to 2007. *Ophthalmology* 2010; 117(12): 2263–2267

20 Garg P, Roy A, Roy S. Update on fungal keratitis. *Curr Opin Ophthalmol* 2016;27(4):333–339

21 Mellado F, Rojas T, Cumsille C. Fungal keratitis: review of diagnosis and treatment. *Arq Bras Oftalmol* 2013;76(1): 52–56

22 Kuo MT, Chang HC, Cheng CK, *et al.* A highly sensitive method for molecular diagnosis of fungal keratitis: a dot hybridization assay. *Ophthalmology* 2012;119(12):2434–2442

23 Bhadange Y, Sharma S, Das S, *et al.* Role of liquid culture media in the laboratory diagnosis of microbial keratitis. *Am J Ophthalmol* 2013; 156(4):745–751

24 FlorCruz NV, Peczon IV, Evans JR. Medical interventions for fungal keratitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;CD004241

25 Galarreta DJ, Tuft SJ, Ramsay A, *et al.* Fungal keratitis in London; microbiological and clinical evaluation. *Cornea* 2007;26(9): 1082–1086

26 Basak SK, Basak S, Mohanta A, *et al.* Epidemiological and microbiological diagnosis of suppurative keratitis in Gangetic West Bengal, eastern India. *Indian J Ophthalmol* 2005;53(1):17–22

27 范德章. 真菌性角膜溃疡 318 例临床分析. *中华眼科杂志* 1981; 17(6):321–326

28 鹿秀海. 真菌性角膜溃疡 334 例的病原学分析. *中华眼科杂志* 2013;49(1):12–15

29 陈玮. 真菌性角膜溃疡致病菌种类及其药物敏感性分析. *中国医师杂志* 2006;8(4):565–566

30 Krajaejun T, Sathapatayavongs B, Prachartam R, *et al.* Clinical and epidemiological analyses of human pythiosis in Thailand. *Clin Infect Dis* 2006;43(5):569–576

31 Murdoch D, Parr D. *Pythium insidiosum* keratitis. *Aust N Z J Ophthalmol* 1997;25(2):177–179