



ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ГРИБКОВОГО КЕРАТИТА. ЧАСТЬ I

© Е.В. Скрябина¹, Ю.С. Астахов², Я.С. Коненкова¹, Ф.О. Касымов^{1, 3},
Н.Г. Зумбулидзе³, Т.С. Варганова¹, В.П. Петухов¹, А.А. Пиргунова³,
Я. Масян³, Н.Н. Климко⁴, Т.С. Богомолова⁴, Е.А. Десятник⁴

¹ СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург;

² Кафедра офтальмологии с клиникой ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург;

³ Кафедра офтальмологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург;

⁴ НИИ медицинской микологии им. Н.П. Кашкина СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Для цитирования: Скрябина Е.В., Астахов Ю.С., Коненкова Я.С., и др. Диагностика и лечение грибкового кератита. Часть I // Офтальмологические ведомости. — 2018. — Т. 11. — № 3. — С. 63–73. doi: 10.17816/OV11363-73

Поступила в редакцию: 20.08.2018

Принята к печати: 10.09.2018

✧ Грибковый кератит (ГК) представляет собой сложную диагностическую задачу для офтальмологов. **Цель** — ознакомление практикующих врачей с диагностическим алгоритмом, разработанным в Офтальмологическом центре СПб ГБУЗ «ГМПБ № 2», с применением современных методов исследования, а также оценка эпидемиологии грибкового кератита в Северо-Западном регионе. **Материалы и методы.** Пациентам проводили лабораторную диагностику (флуоресцентную микроскопию соскобов с роговицы, посев материала на селективные среды), конфокальную *in vivo* микроскопию, оптическую когерентную томографию. **Результаты.** За период с 2007 по 2017 г. на базе ГМПБ № 2 был обнаружен 41 случай ГК. Возбудителями в 32 случаях (78 %) являлись нитчатые грибы, в 9 (22 %) — дрожжевые. В проведённый нами анализ включены пациенты с грибковым кератитом, выявленным за последние три года. Все пациенты прошли полный цикл диагностики. Нитчатые грибы среди них обнаружены у 12 чел. (63 %), дрожжевые — у 7 (37 %). Наши данные, учитывающие статистику ГК по Северо-Западу — региону с высоким уровнем урбанизации и индустриализации, расположенному в умеренном поясе, показывают превалирование возбудителей нитчатых грибов (в 1,3 раза). Разработанная нами схема диагностики кератитов — HRT/RCM-, OCT-диагностика, культуральное исследование — зарекомендовала себя как надёжный способ выявления грибковых возбудителей в роговице и может быть использована в практической офтальмологии.

✧ **Ключевые слова:** грибковый кератит; эпидемиология; лабораторная диагностика; конфокальная микроскопия; оптическая когерентная томография.

DIAGNOSIS AND TREATMENT OF FUNGAL KERATITIS. PART I

© Y.V. Skryabina¹, Yu.S. Astakhov², Y.S. Konenkova¹, F.O. Kasymov^{1, 3},
N.G. Zumbulidze³, T.S. Varganova¹, V.P. Petukhov¹, A.A. Pirgunova³,
J. Masian³, N.N. Klimko⁴, T.S. Bogomolova⁴, E.A. Desyatnik⁴

¹ City Multi-Field Hospital No 2, Saint Petersburg;

² Department of Ophthalmology, I.P. Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Saint Petersburg;

³ Department of Ophthalmology, North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, Saint Petersburg;

⁴ Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, Saint Petersburg

For citation: Skryabina YV, Astakhov YS, Konenkova YS, et al. Diagnosis and treatment of fungal keratitis. Part I. *Ophthalmology Journal*. 2018;11(3):63-73. doi: 10.17816/OV11363-73

Received: 20.08.2018

Accepted: 10.09.2018

✧ Fungal keratitis (FK) is a difficult diagnostic challenge for ophthalmologists. **The aim** is to familiarize practicing physicians with the diagnostic algorithm worked out in the Ophthalmological Center of SPB City

hospital No. 2 using modern research methods, and to assess the epidemiology of fungal keratitis in the North-West Region. **Materials and methods.** Patients underwent laboratory diagnostics (fluorescence microscopy of corneal scrapings from the cornea, culture on Sabouraud agar and broth), confocal in vivo microscopy, optical coherence tomography. **Results.** During the period from 2007 to 2017, 41 cases of FK were identified in the City hospital No. 2, of which filamentous fungi were the causative agent in 32 cases (78%), yeast fungi — in 9 cases (22%). Our analysis included patients with fungal keratitis over the past three years, all of them underwent a full diagnostic cycle. Filamentous fungi were found among 12 of them (63%), yeast — in 7 (37%). Our data, considering the statistics of fungal keratitis in the North-West of Russia — a region with a high level of urbanization and industrialization, and located in the temperate zone — showed a predominance of filamentous fungi as pathogens (prevalence 1.3 times higher). Our scheme of keratitis diagnostics — confocal in vivo microscopy, OCT, fungal culture — is a reliable way to identify fungal pathogens in the cornea, and can be recommended for use in practical ophthalmology.

✧ **Keywords:** fungal keratitis; epidemiology; laboratory diagnostics; confocal microscopy; optical coherence tomography.

ВВЕДЕНИЕ

Грибковый кератит — это инфекционно-воспалительное заболевание роговицы, возникающее вследствие инвазии патогенных грибов и представляющее серьёзную проблему практической офтальмологии в связи с гиподиагностикой, тяжёлым течением, сложной и длительной терапией с не всегда благоприятным исходом, так как часто приводит к помутнению роговицы, слепоте и даже гибели глазного яблока [1–6].

Эпидемиология. Рост заболеваемости грибковым кератитом наблюдается во всём мире [7]. Увеличение частоты, возможно, связано как с улучшением диагностических возможностей, так и, главным образом, с возрастанием числа провоцирующих факторов, куда входят: нерациональное применение антибиотиков и кортикостероидов, нарушение правил ношения контактных линз, рост иммунодефицитных состояний. Особую роль в возникновении заболевания играет наличие в анамнезе травм роговицы [8].

До сих пор не сложилось единого мнения по поводу эпидемиологии микозов роговицы. Распространённость грибкового кератита значительно варьирует между географическими регионами и даже между отдельными областями одной и той же страны. Это заболевание чаще встречается в развивающихся странах, чем в развитых. В сообщении исследователей из Хайдарабада (Индия) указывается о 1360 культурально подтверждённых случаях грибковых кератитов за 10 лет [9], в сообщении из Северного Китая — о 654 пациентах за 6 лет [10]. Напротив, всего 56 глаз (56 пациентов) с микотическим кератитом были зарегистрированы в Мельбурне (Австралия) и 61 глаз (57 пациентов) в Нью-Йорке (США) за 8-летний и 16-летний периоды соответственно [11, 12]. Индо-Венгерская рабочая группа по грибковому кератиту (Indo-Hungarian Fungal Keratitis (ИФК) Working group) опубликовала глобальный эпидемиологический обзор, в котором сообщается,

Таблица 1 / Table 1

Группы грибов, вызывающих кератиты [14]
Groups of fungi causing keratitis [14]

Нитчатые грибы		Дрожжи	Диморфные
непигментированные	пигментированные		
Fusarium	Curvularia	Candida	<i>Blastomyces</i>
Aspergillus	<i>Alternaria</i>	<i>Cryptococcus</i>	<i>Coccidioides</i>
<i>Acremonium</i>	<i>Phialophora</i>	<i>Geotrichum</i>	<i>Paracoccidioides</i>
<i>Paecilomyces</i>	<i>Bipolaris</i>	<i>Malassezia</i>	<i>Sporothrix</i>
<i>Penicillium</i>	<i>Exserohilum</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Histoplasma</i>
<i>Scedosporium</i>	<i>Cladosporium</i>		
<i>Beauveria</i>	<i>Lasiodiplodia</i>		
<i>Metarhizium</i>	<i>Phoma</i>		

Примечание. Наиболее часто встречающиеся и описанные в литературе грибы выделены жирным шрифтом.

что плесневые грибы преобладают среди возбудителей кератита в тропических и субтропических районах, а дрожжи превалируют в развитых странах и в районах с умеренным климатом [7]. В Великобритании проводилось исследование, по данным которого распространённость микотического кератита в общей популяции составила 0,32 случая на миллион жителей в год [13] (с индексом достоверности 95 %).

Микробиология. Более 70 видов грибов верифицированы как причина грибковых кератитов. Основными возбудителями являются нитчатые грибы и дрожжи. Ещё одну группу составляют диморфные грибы, которые в зависимости от условий модифицируются в дрожжи или в плесени и очень редко вызывают кератит [7, 14].

Пигментированные нитчатые (или феоидные мицелиальные) грибы более редкие, чем непигментированные. Они имеют септированный мицелий и большое количество меланина в клеточной стенке. Гиалиновые (непигментированные) гифомицеты — группа грибов с септированным мицелием и отсутствием меланина (табл. 1).

Патогенез. Возникновению грибковой инфекции способствует нарушение защитных систем роговицы (эпителиальный барьер, слёзная плёнка, моргание). Реакция на инфекцию зависит от скорости размножения грибов, от микотоксинов, грибковых антигенов и протеолитических ферментов [3]. Грибы получают доступ к строме роговицы при образовании дефекта эпителия в результате травмы (в том числе и при ношении контактных линз), различных патологических состояний поверхности глаза и хирургических вмешательств. Когда гифы проникают в строму роговицы, активизируются иммунные клетки организма (нейтрофилы, макрофаги и дендритные), распознающие структуру грибковой клеточной стенки, главным образом через Toll-подобные и NOD-подобные рецепторы лектинов С-типа. Лектиновые рецепторы С-типа, такие как Dectin-1 и Dectin-2, способствуют секреции хемокинов (CXCL1 и CXCL2) и провоспалительных цитокинов (IL-1b и TNF α). Грибы могут проникать в глубокие слои стромы через неповреждённую десцеметову оболочку в переднюю камеру, индуцируя эндофтальмит. Согласно гистологическим исследованиям Р.К. Mukherjee et al. [15], при размножении грибов образуется покровная биологическая плёнка — важный фактор стабилизации роста колоний. Кортикостероиды и другие иммунодепрессанты способствуют развитию и прогрессированию грибковых инфекций путём

ингибирования транскрипции провоспалительных цитокинов и хемокинов, снижения противомикробной активности макрофагов и способности нейтрофилов к адгезии.

Выявить грибковый кератит на начальном этапе заболевания получается не всегда. Это может быть связано с несвоевременным обращением пациентов, отсутствием врачебной настороженности ввиду редкой встречаемости данной патологии, поздним взятием посевов и соскобов с роговицы и длительностью ожидания результатов, отсутствием HRT с роговичным модулем (позволяет провести дифференциальную диагностику с другими микроорганизмами, в частности, акантамёбами, и поставить предварительный диагноз уже в день обращения). При этом задержка этиотропного противогрибкового лечения более чем на 2 недели [16] представляет собой один из факторов, существенно ухудшающих прогноз.

Цель — ознакомление практикующих врачей с разработанным в Офтальмологическом центре СПб ГБУЗ «ГМПБ № 2» диагностическим алгоритмом с использованием современных методов исследования и представление данных по эпидемиологии грибкового кератита в Северо-Западном регионе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выявления грибкового кератита наряду с традиционными офтальмологическими методами мы применяем современную лабораторную диагностику и новые инструментальные методики исследований.

При сборе *анамнеза* необходимо выявить один или несколько факторов риска: травмы роговицы; ношение контактных линз; сферу деятельности, из-за которой возможен занос частиц растений или земли в глаза; нарушения местного и/или системного иммунитета.

Пациентам проводится полное офтальмологическое обследование, включающее визорефрактометрию, бесконтактную тонометрию, периметрию, биомикроскопию, офтальмоскопию.

При кератите функции глаза страдают в зависимости от степени воспаления, расположения и величины патологического очага, инфильтрата, отёка роговицы, реакции влаги передней камеры.

При помощи *биомикроскопии* осуществляется поиск признаков, указывающих на активность инфекции: инъекция, хемоз конъюнктивы, наличие дефекта эпителия роговицы. Важно оценить характер инфильтрата роговицы, локализован

ли он или имеется диффузный (гнойный) стромальный и др. свойство, инфильтрат, отметить расположение, цвет, плотность, размеры, форму, глубину инфильтрата, а также наличие областей расплавления, некроза, стромального истончения, наличие «спутниковых» инфильтратов, неоваскуляризации, опалесценции влаги передней камеры. Должна быть определена чувствительность роговицы.

Указать на грибковый кератит могут следующие признаки [14]:

- сероватый эпителий роговицы с изъязвленной поверхностью;
- «сухой» стромальный инфильтрат с неровными, подрывными краями;
- микроинфильтраты; иммунные кольцевидные инфильтраты; «спутниковые» повреждения, «отсевы»;
- пигментные отложения в глубине язвы (пигментированные нитевидные грибы);
- эндотелиальные бляшки (дисковидные очаги повреждения эндотелия), гипопион.

Инфекция иногда может приобретать вид микрокристаллической кератопатии (вызывается грибами рода *Candida*).

Идентификация бывает затруднена в случаях инфекции, вторичной по отношению к патологии роговицы, или в случае предыдущего лечения антибиотиками. Отсутствие положительной динамики при применении антибиотиков и ухудшение при применении кортикостероидов служат косвенными признаками, указывающими на грибковую этиологию инфекционного процесса.

Грибковые кератиты отличаются упорным течением с распространением процесса на всю толщину роговицы и тенденцией к образованию язвы с перфорацией. К сожалению, далеко не всегда своевременно устанавливается точный диагноз и назначается противогрибковая терапия, что приводит к тяжёлым последствиям в виде стойкого помутнения роговицы с образованием бельма, утрате предметного зрения и потере глаза как органа [17].

Для подтверждения грибковой природы заболевания проводят *лабораторную диагностику* — применяют микроскопию и культуральное исследование.

Соскоб с роговицы является стандартным методом получения образца для микроскопии и посева. Он выполняется офтальмологом на щелевой лампе или под операционным микроскопом во время хирургических манипуляций. Для точности диагностики процедуру желательнее всего выполнить до

любого противогрибкового лечения. Под местной поверхностной анестезией (остатки анестетика непосредственно перед забором следует удалить с поверхности роговицы и из конъюнктивальной полости обильным орошением стерильным физиологическим раствором) с помощью стерильного одноразового микрохирургического ножа-расслаивателя осуществляют забор инфильтрата в максимально возможном количестве, избегая при этом прикосновений к конъюнктиве. Образец фиксируют на предметном стекле. Образцы роговицы должны быть направлены в лабораторию в течение 2 часов после соскабливания.

На протяжении многих лет сотрудники НИИ медицинской микологии им. Н.П. Кашкина и кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова — ведущих научно-практических учреждений России в этой области — проводят микробиологическую диагностику, консультирование клиницистов-микологов по лечению, терапии антимикотиками, осуществляют наблюдение пациентов.

Для обнаружения элементов грибов в соскобах с роговицы применяется *флуоресцентная микроскопия* с увеличением микроскопа $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$. В мазки соскобов с роговицы добавляют раствор калькофлуора белого, который служит флуоресцирующим маркером для хитина клеточной стенки грибов. Раствор калькофлуора белого готовят с добавлением красителя — голубого Эванса. При прямой микроскопии соскоба можно обнаружить мицелий, псевдомицелий и дрожжевые клетки. Выявление дрожжевых почкующихся клеток и псевдомицелия свидетельствует о кандидозе, но этиология будет доказана только при положительном посеве.

Для идентификации возбудителя необходим посев материала из очага поражения на агаризованную и жидкую питательную среду Сабуро. Выделенные культуры микромицетов устанавливают по морфологическим и физиологическим особенностям с помощью определителей грибов, в необходимых случаях используют молекулярные методы. Рост дрожжей на питательной среде обычно происходит через 24–48 часов, мицелиальных грибов — через 2–5 дней. Для отдельных видов грибов, таких как *Fusarium*, может потребоваться более длительный период ожидания их роста — от 1 до 3 недель. В среднем микробиологическое исследование занимает 7–14 дней.

В настоящее время микроскопия соскобов роговицы и посева на селективные среды остаются стандартными методами идентификации возбу-

телей грибкового кератита. По культуральным и микроморфологическим признакам (особенности строения органов спороношения) грибы определяют до уровня рода и во многих случаях — вида. Однако для видовой идентификации некоторых грибов, например, рода *Fusarium*, включающего более 900 видов, необходимы молекулярно-генетические методы (ДНК-секвенирование). Подобные исследования занимают много времени, требуют соответствующей квалификации исследователя и могут задержать лечение [18, 19]. В последние годы более широкое применение приобретают метод конфокальной микроскопии, оптическая когерентная томография. От постановки диагноза в более короткие сроки напрямую зависят результаты лечения. Поэтому необходим выбор наиболее быстрого, чувствительного и удобного способа для эффективной диагностики [18–22, 24].

Конфокальная микроскопия — быстрый, неинвазивный, безопасный метод послойной визуализации слоёв роговицы. Изображения представляются в виде микроструктурных снимков различных слоёв роговицы с высоким разрешением в увеличении до 3500 раз. Неинвазивность и высокая разрешающая способность позволяют отображать клеточные детали, инфильтраты и внеклеточные элементы, залегающие в глубоких слоях роговицы.

Если лабораторная микроскопия направлена на обнаружение грибковых возбудителей в условиях *in vitro* в биологическом материале, полученном из очага поражения, то конфокальная микроскопия обеспечивает *in vivo* визуализацию грибов непосредственно в ткани роговицы.

В консультативно-диагностическом офтальмологическом отделении СПб ГБУЗ «ГМПБ № 2» конфокальную микроскопию выполняют на роговичном модуле Гейдельбергского ретинального томографа третьего поколения HRT-3/RCM (Heidelberg Retina Tomograph 3 Rostock Cornea Module) с увеличением 400 × 400. Метод даёт возможность проводить прижизненную визуализацию мицелиальных и плесневых грибов.

При помощи роговичного модуля HRT также выявляют ветвистую морфологию нитчатых грибов. Визуализируются они в виде одиночных или переплетённых под разными углами белых высококонтрастных нитей (гиф) диаметром 3–10 мкм и длиной 200–400 мкм. Размеры соответствуют определяемым при электронно-лучевой микроскопии [21, 23, 24]. Метод позволяет отличить гифы от суббазальных нервов, имеющих диаметр 0,3–0,8 мкм, и стромальных нервов, для

которых характерны линейная форма с толщиной 0,5–5 мкм и ветвление под острым углом. Кроме того, гифы в отличие от стромальных нервов локализируются только в пределах очага поражения и на любой глубине стромы. Псевдомицелий грибов рода *Candida* в строме инфицированной роговицы выглядит как высококонтрастные структуры веретеновидной формы 10–40 мкм в длину и 5–10 мкм в ширину [25].

Благодаря данному методу удаётся визуализировать и другие микроорганизмы, в частности, акантамёбы, дифференцировать их от грибов. Кроме того, он обладает уникальными преимуществами, с помощью которых можно контролировать терапевтический ответ по наличию гиф [21, 24, 26, 27]. Конфокальная микроскопия даёт возможность определить глубину инвазии возбудителя в строму, что не позволяет ни один другой метод исследования роговицы.

Оптическая когерентная томография (ОКТ) предоставляет широкий спектр качественной и количественной информации, включающей толщину роговицы на разных участках, размеры и форму очага поражения. ОКТ используют в динамическом наблюдении за состоянием роговицы и контроле за течением болезни. Последовательное повторное сканирование через одну и ту же область роговицы по стандартизированным протоколам позволяет оценивать патологический процесс в динамике. На начальных стадиях микробного кератита в области инфильтрата роговица утолщена. Эпителий и эндотелий обычно отображаются как гиперрефлективные слои по сравнению со стромой. Отёк визуализируется как диффузное утолщение стромы, что приводит к изменению выпуклости задней поверхности роговицы. По мере того как инфекция и воспаление разрешаются, утолщение роговицы становится менее выраженным. На более поздних стадиях заболевания развиваются рубцовые процессы и поражённая роговица может стать тоньше, чем смежные здоровые участки, за счёт ретракции рубцовой ткани. Специфическим ОСТ-признаком агрессивных форм грибкового кератита [28] являются ограниченные, разного размера кистозные образования в строме (некротизированная ткань).

Данные ОКТ служат одним из показаний к выполнению покрытия дефектов роговицы конъюнктивально-теноновой тканью, роговично-склеральными аллоплантами и т. д. с последующей оценкой их состоятельности.

Мы в своей работе используем прибор RTVue-100 (Optovue).

РЕЗУЛЬТАТЫ

У наших больных к грибковому поражению, среди других причин, чаще всего приводили травмы глаз (5 пациентов), ношение мягких контактных линз (8 пациентов), загрязнение конъюнктивальной полости землёй (2 пациента). В клинической картине выделялись кернеальный, увеальный, болевой синдромы, пациенты предъявляли жалобы на различной степени снижение зрения.

С 2007 по 2017 г. в ГМПБ № 2 грибковая этиология была обнаружена в 41 случае кератитов, возбудителями в 32 случаях (78 %) являлись нитчатые грибы, в 9 (22 %) — дрожжевые. В проведённый нами анализ включены пациенты с грибковыми кератитами, выявленными за последние три года. Все больные (19 чел.) прошли полный цикл диагностики: 11 чел. — мужчины (58 %), 8 чел. — женщины (42 %). Возраст больных при обращении колебался от 27 до 77 лет, в среднем составил 47 лет (рис. 1).

Большинство больных поступили на стационарное лечение позже чем через 1 нед. от начала заболевания — 17 чел. (89,5 %). Из них 4 чел. (21 %) — позже чем через 1 мес. Только 2 пациента госпитализированы меньше чем через 1 нед. после возникновения жалоб.

Поражение роговицы на момент поступления выражалось в виде центрально и парацентрально расположенных язвенно-инфильтративных очагов диаметром от 3 до 5 мм. Также в ряде случаев имели место характерные для инфильтратов микотической этиологии перифокальные очаги «спутники».

Нитчатые грибы среди них выявлены у 12 чел. (63 %), дрожжевые — у 7 (37 %). Большинство больных были жителями Северо-Западного региона — Санкт-Петербург (15 чел., 79 %), Псковская, Новгородская и Вологодская области (3 чел., 16 %). Из КНР был 1 чел. (5 %).

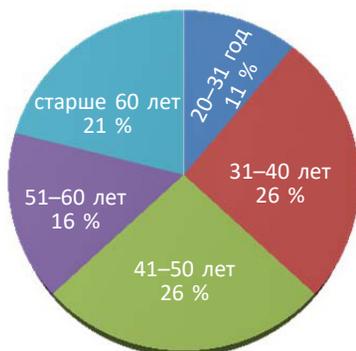


Рис. 1. Распределение пациентов по возрастным категориям

Fig. 1. Distribution of patients by age categories

Как уже упоминалось выше, из научных публикаций следует, что распространённость различных родов возбудителей микозов роговицы зависит от географической широты, климата, доли в структуре экономики сельского хозяйства и экономического развития той или иной страны. Из стран с высоким уровнем развития и небольшой долей аграрного сектора в народном хозяйстве сообщают о преобладании дрожжевых грибов [11]. Иммунодефициты, широкое применение антибиотикотерапии, кортикостероидов создают благоприятные условия для возникновения кератитов, вызванных грибами рода *Candida*. Обзоры, касающиеся развивающихся стран, свидетельствуют о том, что в этих странах, где высока доля занятых в сельском хозяйстве, чаще встречаются кератиты, вызванные нитчатыми грибами. И основной путь инфицирования грибковой биотой — травмирование роговицы в условиях сельской местности.

Наши данные, учитывающие статистику грибковых кератитов по Северо-Западу России — региону с высоким уровнем урбанизации и индустриализации и расположенному в умеренном поясе, показывают превалирование возбудителей нитчатых грибов (в 1,3 раза), большое количество кандидозных кератитов — 37 %, немалую долю культурально не идентифицированных грибов — 16 % (рис. 2).

Одним из начальных этапов диагностики в предлагаемом нами алгоритме является проведение конфокальной микроскопии. Среди наших больных НРТ/RCM-диагностика была выполнена 11 пациентам. Частым препятствием для применения метода было угрожающее прободение язвы роговицы. Такие пациенты оперировались в экстренном порядке. Возбудитель у них определяли микробиологически.

Гифы нитевидных грибов на конфокальных срезах — это высококонтрастные структуры, залегающие в пределах очага инфильтрации. Количество гиф демонстрирует степень обсеменённости микроорганизмами — от изолированных образцов до образующих обильную ветвистую сеть (рис. 3).

Псевдомицелий дрожжевых грибов также хорошо выделяется в конфокальных срезах. Псевдофиламенты видны как высококонтрастные веретеновидные частицы с булавоподобным концом (рис. 4).

Во всех случаях выявления в конфокальных оптических срезах структурно-морфологических элементов грибов — гиф при нитевидных возбу-

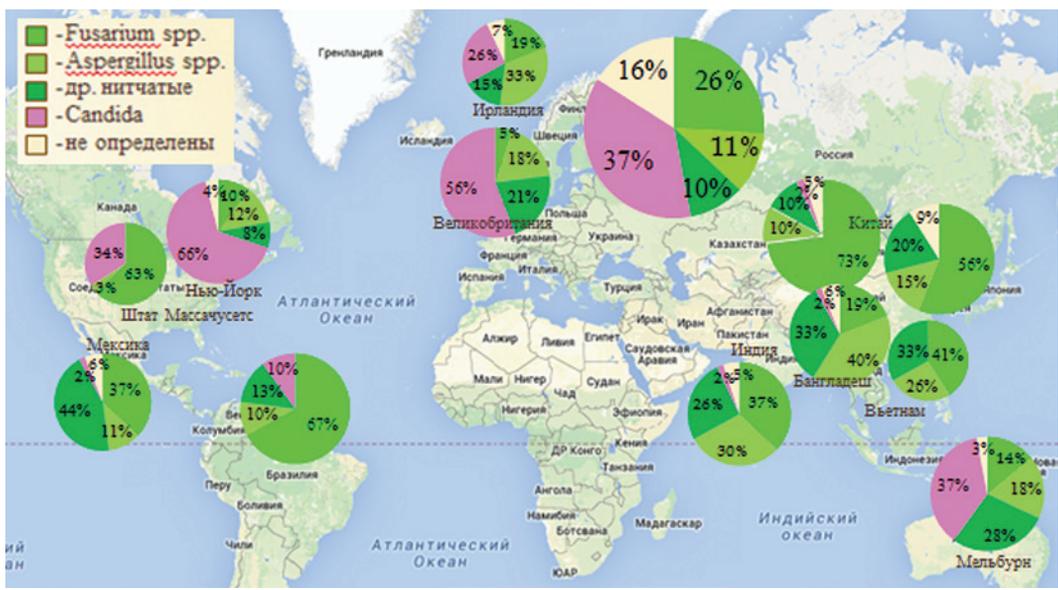


Рис. 2. География возбудителей грибковых кератитов и распределение их по родам [20, 29]

Fig. 2. Geography of pathogens of fungal keratitis and their distribution by genus [20, 29]

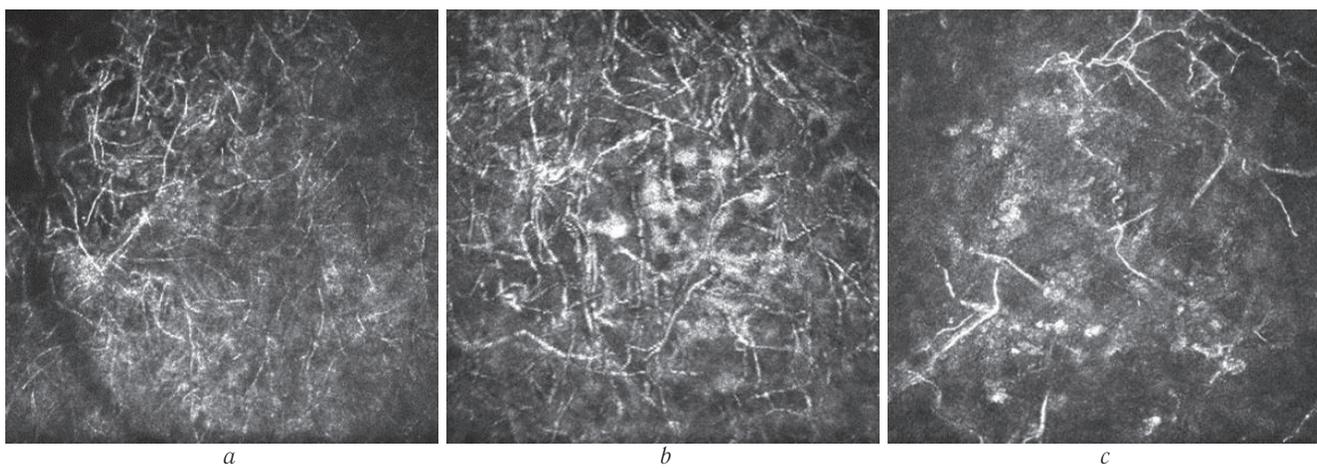


Рис. 3. Гифы грибов в срезах роговицы на разной глубине у разных пациентов: а — больная К., 68 лет; б — больной Л., 67 лет; с — больной И., 52 года

Fig. 3. Hyphae of fungi in cornea sections at different depths in different patients: a — patient K., 68 years old; b — patient L., 67 years old; c — patient I., 52 years old

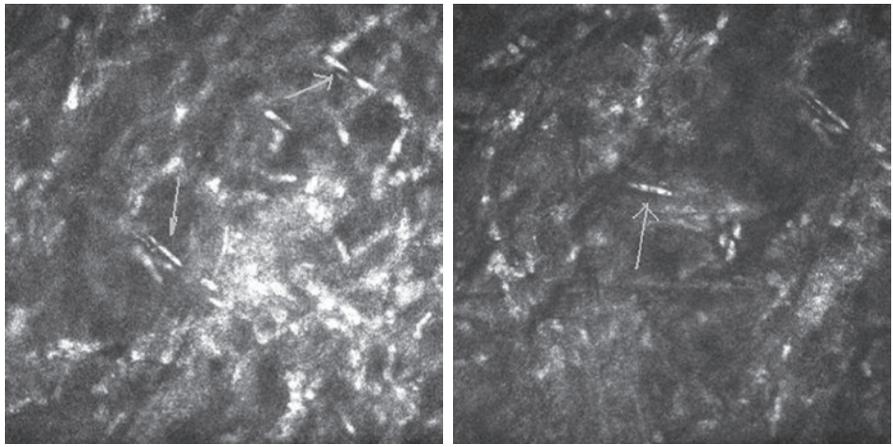


Рис. 4. Псевдомицелий дрожжевых грибов (стрелки) (больная М., 52 года)

Fig. 4. Pseudo-mycelium of yeast fungi (arrows)

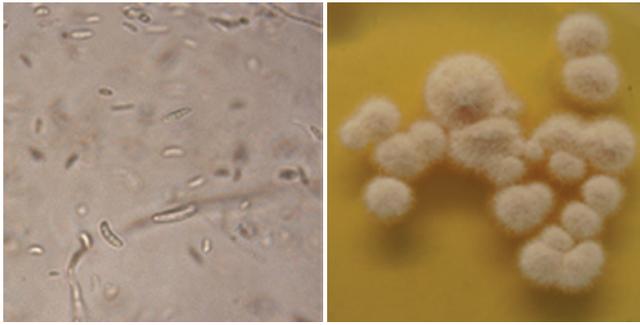


Рис. 5. Микроскопия (ув. $\times 400$) и рост культуры *Fusarium spp.*

Fig. 5. Microscopy of culture (mag. $\times 400$). Culture grew *Fusarium spp.*

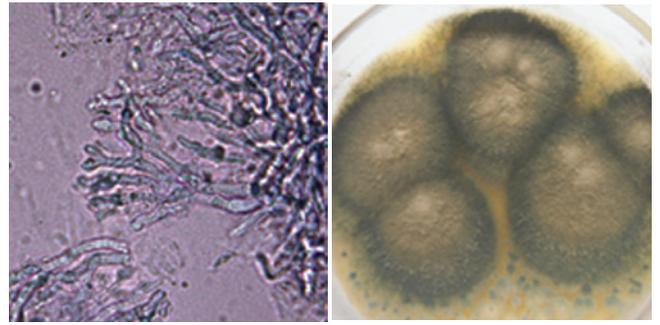


Рис. 6. Прямая микроскопия соскоба с роговицы и рост культуры *Aspergillus fumigatus*

Fig. 6. Direct light microscopy of corneal scrapings. Culture grew *Aspergillus fumigatus*

дителях и псевдофиламентов при дрожжевых — находилось подтверждение при флуоресцентной микроскопии или посеве на среды.

Анализ чувствительности метода конфокальной микроскопии проведён на 11 пациентах, у которых имелись данные НРТ/РСМ-диагностики и микробиологического исследования. В 9 из 11 случаев обнаружения в конфокальных оптических срезах структурно-морфологических элементов грибов — гиф при нитчатых грибах и псевдофиламентов при дрожжевых — находилось лабораторное подтверждение. Таким образом, чувствительность конфокальной микроскопии при установлении грибковой инвазии роговицы составляет 82 %. Нитчатые грибы были выявлены у 8 чел. (73 %), дрожжевые — у 3 (27 %) (рис. 5, 6).

Культурально идентифицировать грибовозбудитель удалось в 13 случаях (68 %), при этом видовая принадлежность грибов была определена только в 5 случаях (38 %), в остальных случаях идентификация ограничилась определением только рода гриба. Среди возбудителей нитчатых грибов встречались *Fusarium spp.*, *Aspergillus* (виды *fumigatus*, *flavus*), *Penicillium spp.* и

Acronium spp., дрожжевых — грибы рода *Candida* (виды *tropicalis*, *albicans*).

Толщину роговицы в очаге поражения оценивали при помощи ОКТ с целью динамического наблюдения за состоянием роговицы и решения вопроса о необходимости проведения хирургического лечения.

На представленных рисунках можно отметить критическое истончение роговицы в очаге поражения (211 μm), требующее оперативного вмешательства (рис. 7).

Показанием к тектонической кератопластике является угрожающее перфорацией истончение роговицы — глубокие язвы с утратой более 50 % толщины стромы и десцеметоцеле. Данные [9] показывают, что хирургическое лечение при грибковых кератитах требуется чаще — в 50,8 % (в 691 случае из 1360), чем при других микробных (негрибковых) кератитах — в 44,1 % (в 971 случае из 2203).

В нашей стране придерживаются более консервативной тактики в отношении язв роговицы. По данным Росстата, в 2016 г. число зарегистрированных заболеваний язвой роговицы составило 12 159 случаев, по поводу которой выполнена

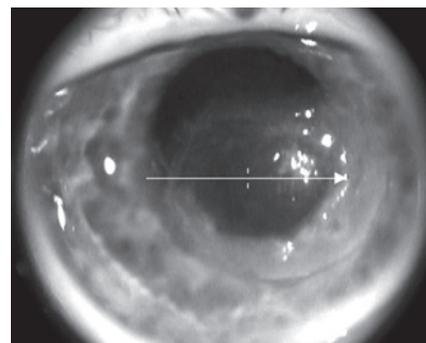
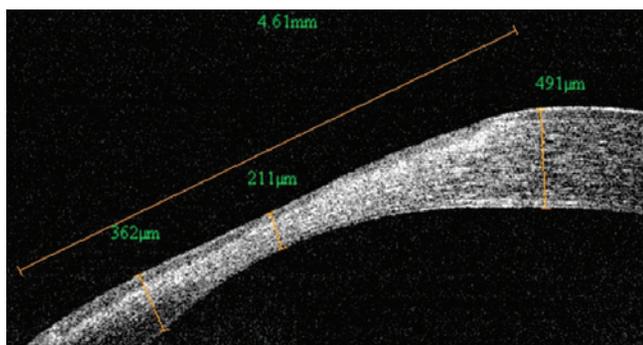


Рис. 7. Оптическая когерентная томография переднего отрезка глаза (больная К., 68 лет)

Fig. 7. Optical coherence tomography of the anterior segment of the eye

4661 операция (из официального ответа на наш запрос Федеральной службы государственной статистики № 1776/ОГ от 05.12.2017), что составляет 38,3 %. Этот показатель соответствует и данным нашего исследования. У нас хирургическое лечение потребовалось в 36,8 % (в 7 случаях из 19).

ВЫВОДЫ

1. По данным нашего исследования, основными факторами, обуславливающими возникновение грибковых кератитов, служат ношение контактных линз (42 %) и травмы с повреждением роговой оболочки (26 %).

2. Распространённость родов грибов напрямую зависит от уровня урбанизации и индустриализации. В странах с преобладанием аграрного сектора удельный вес кандидозных кератитов составляет 1–2 %, в странах с развитой промышленностью — 10–40 %, в странах постиндустриального мира — стремится превысить порог 50 %.

3. Разработанная нами схема диагностики кератитов — НРТ/РСМ-, ОСТ-диагностика, культуральное исследование — представляет собой надёжный способ выявления грибковых возбудителей в роговице и может быть рекомендована к применению в практической офтальмологии.

4. Конфокальная микроскопия является оперативным и высокочувствительным методом обнаружения грибковой биоты в роговице. Данный способ может быть использован для раннего выявления возбудителя *in vivo* и назначения этиотропного лечения до результатов микробиологического исследования. Сочетание этого исследования с методами посева соскоба с роговицы позволяет объективно и в максимально короткие сроки установить диагноз.

5. Оптическая когерентная томография переднего отрезка даёт возможность проводить объективное динамическое наблюдение за состоянием роговицы и своевременно формулировать показания к выполнению аутоконтрактивных трансплантатов.

Конфликт интересов отсутствует, финансовой заинтересованности у авторов нет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Huang W, Ling S, Jia X, et al. Tacrolimus (FK506) suppresses TREM-1 expression at an early but not at a late stage in a murine model of fungal keratitis. *PLoS One*. 2014;9(12):e114386. doi: 10.1371/journal.pone.0114386.
- Hu J, Hu Y, Chen S, et al. Role of activated macrophages in experimental *Fusarium solani* keratitis. *Exp Eye Res*. 2014;129:57-65. doi: 10.1016/j.exer.2014.10.014.
- Karthikeyan RS, Leal SM, Jr, Prajna NV, et al. Expression of innate and adaptive immune mediators in human corneal tissue infected with *Aspergillus* or *Fusarium*. *J Infect Dis*. 2011;204(6):942-950. doi: 10.1093/infdis/jir426.
- Qu X, Che C, Gao A, et al. Association of Dectin-1 and DC-SIGN gene single nucleotide polymorphisms with fungal keratitis in the northern Han Chinese population. *Mol Vis*. 2015;21:391-402.
- Xu Q, Zhao G, Lin J, et al. Role of Dectin-1 in the innate immune response of rat corneal epithelial cells to *Aspergillus fumigatus*. *BMC Ophthalmol*. 2015;15:126. doi: 10.1186/s12886-015-0112-1.
- Zhu CC, Zhao GQ, Lin J, et al. Dectin-1 agonist curdlan modulates innate immunity to *Aspergillus fumigatus* in human corneal epithelial cells. *International Journal of Ophthalmology*. 2015;8(4):690-696. doi: 10.3980/j.issn.2222-3959.2015.04.09
- Kredics L, Narendran V, Shobana C, Grou I-H. Filamentous fungal infections of the cornea: a global overview of epidemiology and drug sensitivity. *Mycoses*. 2015;58:243-260. doi: 10.1111/myc.12306.
- Астахов Ю.С., Скрябина Е.В., Коненкова Я.С., и др. Диагностика и лечение грибковых кератитов // Офтальмологические ведомости. — 2013. — Т. 6. — № 2. — С. 75–80. [Astakhov YS, Skryabina EV, Konenkova YS, et al. Diagnosis and treatment of fungal keratitis. *Ophthalmology Journal*. 2013;7(2):75-80. (In Russ.)]
- Gopinathan U, Sharma S, Garg P, Rao GN. Review of epidemiological features, microbiological diagnosis and treatment outcome of microbial keratitis: experience of over a decade. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2009;57:273-279. doi: 10.4103/0301-4738.53051.
- Xie L, Zhong W, Shi W, Sun S. Spectrum of fungal keratitis in north China. *Ophthalmology*. 2006;113:1943-1948.
- Bhartiya P, Daniell M, Constantinou M, et al. Fungal keratitis in Melbourne. *Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2007;35:124-130. doi: 10.1111/j.1442-9071.2006.01405.x.
- Ritterband DC, Seedor JA, Shah MK, et al. Fungal keratitis at the New York Eye and Ear Infirmary. *Cornea*. 2006;25:264-267. doi: 10.1097/01.icc.0000177423.77648.8d.
- Tuft SJ, Tullo AB. Prospective study of fungal keratitis in the United Kingdom 2003–2005. *Eye (London)*. 2009;23:308-313. doi: 10.1038/eye.2008.298.
- Bourcier T, Sauer A, Dory A, et al. Fungal keratitis. *Journal Français d'Ophthalmologie*. 2017;40:307-313. doi: 10.1016/j.jfo.2017.08.001.
- Mukherjee PK, Chandra J, Yu C, et al. Characterization of *Fusarium* keratitis outbreak isolates: contribution of biofilms to antimicrobial resistance and pathogenesis. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2012;53:4450-7. doi: 10.1167/iov.12-9848.
- Keay LJ, Gower EW, Iovieno A, et al. Clinical and microbiological characteristics of fungal keratitis in the United States, 2001–2007: a multicenter study. *Ophthalmology*. 2011;118(5):920-6. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.09.011.
- Камилов Х.М., Абдуллаев Ш.П., Касымова М.С. Особенности клинического течения посттравматического грибкового бакте-

- риального язвенного кератита // Вестник проблем биологии и медицины. — 2012. — № 3. — Т. 1 (94). — С. 59. [Kamilov XM, Abdulaev SR, Kasymova MS. Features of the clinical course of posttraumatic fungal bacterial ulcerative keratitis. *Vestnik problem biologii i mediciny*. 2012;(3):59. (In Russ.)]
18. Lan L, Wang FY, Zeng G. Staining with methylthioninium chloride for the diagnosis of fungal keratitis. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2013;6(5):1229-1232. doi: 10.3892/etm.2013.1288.
 19. Thomas PA, Kaliamurthy J. Mycotic keratitis: epidemiology, diagnosis and management. *Clinical microbiology and Infection*. 2013;19(3):210-220. doi: 10.1111/1469-0691.12126.
 20. Ansari Z, Miller D, Galor A. Current thoughts in fungal keratitis: diagnosis and treatment. *Curr Fungal Infect Rep*. 2013;7(3):209-218. doi: 10.1007/s12281-013-0150-110.1007/s12281-013-0150-1.
 21. van Diepeningen AD, Brankovics B, Iltes J, et al. Diagnosis of fusarium infections: approaches to identification by the clinical mycology laboratory. *Current Fungal Infection Reports*. 2015;9(3):135-143. doi: 10.1007/s12281-015-0225-2.
 22. Zhao G, Zhai H, Yuan Q, et al. Rapid and sensitive diagnosis of fungal keratitis with direct PCR without template DNA extraction. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014;20(10):0776-0782. doi: 10.1111/1469-0691.12571.
 23. Labbe A, Khammari C, Dupas B, et al. Contribution of *in vivo* confocal microscopy to the diagnosis and management of infectious keratitis. *Ocular Surface*. 2009;7:41-52.
 24. Ledbetter EC, Norman ML, Starr JK. *In vivo* confocal microscopy for the detection of canine fungal keratitis and monitoring of therapeutic response. *Veterinary Ophthalmology*. 2015;19(3):220-229. doi: 10.1111/vop.12287.
 25. Азнабаев Б.М., Алимбекова З.Ф., Мухаммадиев Т.Р., Габбасов А.Р. Лазерная сканирующая томография глаза: передний и задний отрезок. — М., 2008. — С. 90–92. [Aznaev BM, Alimbekova ZF, Muhamadeev TR, Gabbasov AR. Lazer skaniruyushaya tomographya glaza: perednii i zadnii otrezok. Moscow; 2008. P. 90-92. (In Russ.)]
 26. Villani E, Baudouin C, Efron N, et al. *In vivo* confocal microscopy of the ocular surface: from bench to bedside. *Current Eye Research*. 2014;39(3):213-231. doi: 10.3109/02713683.2013.842592.
 27. Wang LY, Xu ZZ, Zhang JJ, et al. [Topical voriconazole as an effective treatment for fungal keratitis]. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*. 2016;52(9):657-62. doi: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2016.09.005.
 28. Soliman W, Fathalla AM, El-Sebaity DM, Al-Hussaini AK. Spectral domain anterior segment optical coherence tomography in microbial keratitis. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2013;251(2):549-553. doi: 10.1007/s00417-012-2086-5.
 29. Bongomin F, Gago S, Oladele RO, Denning DW. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases — Estimate Precision. *J Fungi (Basel)*. 2017;3(4):57-86. doi: 10.3390/jof3040057.

Сведения об авторах

Елена Владимировна Скрыбина — врач-офтальмолог отделения микрохирургии глаза № 4 СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург. E-mail: scryabelena@mail.ru.

Юрий Сергеевич Астахов — д-р мед. наук, профессор кафедры офтальмологии. Кафедра офтальмологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: astakhov73@mail.ru.

Янина Станиславовна Коненкова — заведующая отделением микрохирургии глаза № 4 СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург. E-mail: Krocon@mail.ru.

Фарход Олимджанович Касымов — канд. мед. наук, ассистент кафедры офтальмологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова, врач-офтальмолог отделения микрохирургии глаза № 2 СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург. E-mail: farkkas@yahoo.com.

Наталья Гурамовна Зумбулидзе — канд. мед. наук, ассистент кафедры офтальмологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург. E-mail: zumbulenok@mail.ru.

Татьяна Сергеевна Варганова — канд. мед. наук, врач-офтальмолог консультативно-диагностического отделения СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург. E-mail: Varganova.ts@yandex.ru.

Владимир Павлович Петухов — врач-офтальмолог отделения микрохирургии глаза «лазерное» СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург. E-mail: v.p.petukhov@gmail.com.

Information about the authors

Yelena V. Skryabina — MD, ophthalmologist, Microsurgery Department No 4, City Multi-Field Hospital No 2, Saint Petersburg, Russia. E-mail: scryabelena@mail.ru.

Yuriy S. Astakhov — MD, Doctor of Medical Science, Professor. Department of Ophthalmology. I.P. Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Saint Petersburg, Russia. E-mail: astakhov73@mail.ru.

Yanina S. Konenkova — MD, Head of Department, Microsurgery Department No 4, City Multi-Field Hospital No 2, Saint Petersburg, Russia. E-mail: Krocon@mail.ru.

Farkhod O. Kasymov — MD, PhD, Assistant Professor, Ophthalmology Department North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, ophthalmologist, Microsurgery Department No 2, City Multi-Field Hospital No 2, Saint Petersburg, Russia. E-mail: farkkas@yahoo.com.

Nataliya G. Zumbulidze — MD, PhD, Assistant Professor, Ophthalmology Department North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, ophthalmologist, Saint Petersburg, Russia. E-mail: zumbulenok@mail.ru.

Tatiana S. Varganova — MD, Candidate of Medical Sciences, ophthalmologist, Consultative-Diagnostic Department of Ophthalmology, City Multi-Field Hospital No 2, Saint Petersburg, Russia. E-mail: Varganova.ts@yandex.ru.

Vladimir P. Petukhov — MD, ophthalmologist, Department of Laser Microsurgery, City Multi-Field Hospital No 2, Saint Petersburg, Russia. E-mail: v.p.petukhov@gmail.com.

Сведения об авторах

Алёна Александровна Пиргунова — ординатор 2-го года кафедры офтальмологии. Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург. E-mail: cvcv4698@yandex.ru.

Янек Масян — ординатор 2-го года кафедры офтальмологии. Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург. E-mail: phaser.j@gmail.com.

Николай Николаевич Клишко — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой клинической микологии, аллергологии и иммунологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург. E-mail: n_klimko@mail.ru.

Татьяна Сергеевна Богомолова — канд. биол. наук, доцент кафедры медицинской микробиологии им. И.И. Мечникова, заведующая НИЛ микологического мониторинга и биологии грибов НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург. E-mail: tatiyna.bogomolova@szgmu.ru.

Екатерина Александровна Десятник — аллерголог-иммунолог микологического отделения НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург. E-mail: e_desyatnik@mail.ru.

Information about the authors

Alyona A. Pirgunova — second year ophthalmology resident. Department of Ophthalmology. North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. E-mail: cvcv4698@yandex.ru.

Janek Masian — second year ophthalmology resident. Department of Ophthalmology. North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. E-mail: phaser.j@gmail.com.

Nikolai N. Klimko — MD, Doctor of Medical Science, Professor, Head of the Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology of North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia. E-mail: n_klimko@mail.ru.

Tatyana S. Bogomolova — PhD, Associate Professor of the Medical Microbiology Department of the North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov Head of the Research Laboratory of Mycological Monitoring and Fungal Biology of the P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, St. Petersburg, Russia. E-mail: tatiyna.bogomolova@szgmu.ru.

Ekaterina A. Desyatnik — allergologist-immunologist of the Mycological Department of the P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology of North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia. E-mail: e_desyatnik@mail.ru.