

微孢子虫感染导致角膜穿孔 1 例并文献复习

王玲¹, 黎明^{1,2}, 应方微¹, 王玉¹, 温文¹, 姚晓明¹

1. 深圳市眼科医院 眼病防治研究所, 广东 深圳 518040

2. 深圳市眼科医院 角膜病科, 广东 深圳 518040

摘要: **目的** 探讨微孢子虫感染性角膜穿孔的诊疗方法, 临床特点、诊断依据和研究进展。 **方法** 回顾性分析 1 例微孢子虫感染导致角膜穿孔患者的临床资料并复习相关文献进行总结。 **结果** 微孢子虫感染性角膜溃疡穿孔是罕见的眼部感染性疾病, 传染途径暂不明确, 可能与患者不洁手卫生史有关。角膜组织病检及荧光增白剂染色、宏基因组检测可确诊。在病程早期及时进行宏基因组检测对于尽早明确病原体类型、及时治疗用药具有关键性的指导作用。 **结论** 近年来, 微孢子虫感染引起角膜疾病的病例越来越多, 临床医生在诊断结膜炎相关的非典型点状上皮性角膜炎的过程中, 应考虑微孢子虫感染的角膜结膜炎, 避免发展为角膜穿孔, 严重危及视力。

关键词: 角膜溃疡; 微孢子虫; *Vittaforma corneae*; 角膜移植; 宏基因组测序

中图分类号: R770.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-3770(2024)05-0095-05

引用格式: 王玲, 黎明, 应方微, 等. 微孢子虫感染导致角膜穿孔 1 例并文献复习[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2024, 38(5): 95-99. WANG Ling, LI Ming, YING Fangwei, et al. Corneal perforation caused by microsporidia infection: a case report and literature review[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2024, 38(5): 95-99.

Corneal perforation caused by microsporidia infection: a case report and literature review

WANG Ling¹, LI Ming^{1,2}, YING Fangwei¹, WANG Yu¹, WEN Wen¹, YAO Xiaoming¹

1. Shenzhen Eye Institute, Shenzhen Eye Hospital, Shenzhen 518040, Guangdong, China

2. Corneal Disease Department, Shenzhen Eye Hospital, Shenzhen 518040, Guangdong, China

Abstract: Objective To investigate the diagnosis, treatment, clinical features, diagnostic principles, and research progress of corneal perforations caused by Microsporidia infection. **Methods** We retrospectively analyzed the clinical data of a patient with corneal perforation caused by Microsporidia infection and reviewed relevant literature. **Results** Microsporidial infection of corneal ulcer perforation is a rare infectious ocular disease. The transmission route is unclear but could be related to unclean hand hygiene. The diagnosis can be confirmed through corneal tissue examination, fluorescent whitening agent staining, and metagenomic detection. Early metagenomic detection during the disease course is crucial for the early identification of pathogen types and timely medication prescriptions. **Conclusion** In recent years, increased cases of Microsporidium keratoconjunctivitis have occurred in healthy individuals. Clinicians should consider Microsporidium keratoconjunctivitis in diagnosing conjunctivitis-related atypical punctate epithelial keratitis to avoid corneal perforation, which seriously endangers vision.

Key words: Corneal ulcer; Microsporidium; *Vittaforma corneae*; Cornea transplantation; Metagenomics Next-Generation Sequencing

微孢子虫是一种专性细胞内寄生的单细胞真核病原菌, 早期分类学一直将微孢子虫归为原生动物, 但最新的分子进化和系统发育研究表明微孢子虫与真菌亲缘关系更近^[1,2]。角膜微孢子虫感染是一种较罕见的眼部感染性疾病, 正常人多见点状基质角膜炎, 免疫缺陷人群为浅表性角结膜炎, 通常 HIV 感染的患者是微孢子虫的易感人群, 但是近年来健康人被感染的病例也越来越多^[3,4]。目前, 微

孢子虫角膜炎在东南亚地区多见, 尤其是印度和新加坡地区, 可能与接触了被污染的水源和泥土有关, 我国发病率较低。深圳市眼科医院角膜病科收治 1 例角膜微孢子虫感染并发角膜穿孔患者, 现报道如下。

1 病历资料

1.1 一般资料

患者男, 69 岁, 因右眼眼红眼痛 5 个月余, 热泪

流出 1 周入院。患者 5 个月余前无诱因出现右眼眼红、眼痛,伴有视力下降及同侧头痛,无恶心、呕吐、视物变形、视物重影。否认高血压等其他相关病史,否认新冠病毒病人接触史。2016 年曾因“真菌性角膜溃疡 od”行抗真菌治疗后治愈。

1.2 治疗

入我院进行眼科检查,右眼视力(visio oculus dexter, VOD):手动/眼前,非接触式眼压计(non-contact tonmeter, NCT):T-1,右眼结膜混合充血(+++),角膜中央偏下可见一圆形溃疡灶,约 5×4 mm 大小,虹膜嵌顿其间,其上可见脓性分泌物附着,周边角膜基质层水肿,后弹力层呈放射状皱褶(+),周边角膜缘可见新生血管长入,上方前房深度约 1/2CT,虹膜纹理尚清,下方前房消失,晶状体混浊,眼内未见明显积脓,瞳孔约 3 mm 大小,对光反射迟钝,余眼内结构窥不清(图 1)。辅助检查:眼部 B 超:右眼玻璃体混浊(图 2);眼前节光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT):周边前房消失(图 3)。

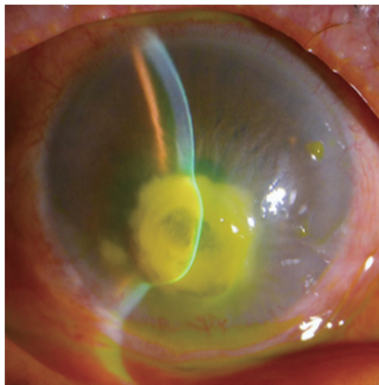


图 1 裂隙灯检查
Figure 1 Slit lamp examination

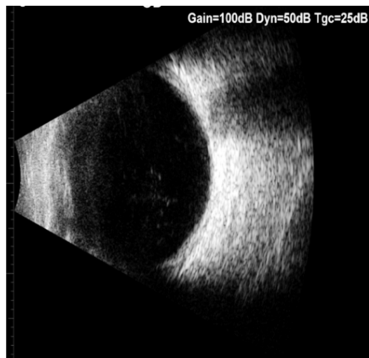


图 2 右眼部 B 超
Figure 2 Right eye ultrasound

根据以上检查结果诊断为角膜溃疡 od、角膜穿孔 od。术前予氧氟沙星、妥布霉素滴眼液进行抗炎、抗感染;氧氟沙星、妥布霉素眼膏,保护角膜溃疡创面并延长药物的作用时间。术中行穿透性角膜移

植术,2 mL 妥布霉素稀释液冲洗前方(8 万单位妥布霉素+50 mL 0.9%氯化钠溶液稀释),确定眼内前房清理干净后,用无菌 BSS 液冲洗前房,保证前房中无妥布霉素溶液残留^[5]。前房选取供体角膜植片间断缝合至植床,形成前房,并取角膜溃疡组织送宏基因组测序。术后用头孢唑辛钠 750 mg+氯化可的松 100 mL 日 1 次静滴,连用 3 d;妥布霉素地塞米松眼液、眼膏 1 d 后,荧光增白剂染色角膜基质清晰可见微孢子虫孢子(图 4),宏基因组结果(表 1)确定,该患者为角膜条纹微孢子虫 *Vittaforma corneae* 感染,并停用妥布霉素地塞米松眼液、眼膏,加用伏立康唑滴眼液每日 4 次,普拉洛芬滴眼液、聚乙二醇滴眼液点眼每日 4 次,减轻炎症反应、预防感染及术后 1 周加用他克莫司滴眼液预防排斥反应发生。术后 6 d 出院。

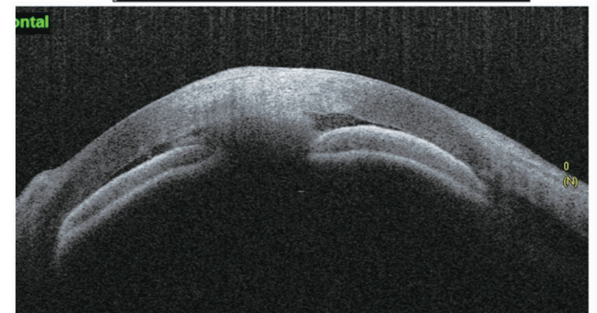
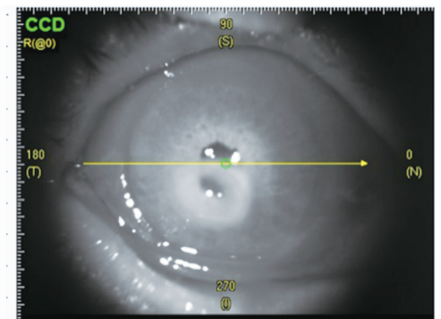


图 3 眼前节 OCT
Figure 3 Ocular coherence tomography of anterior segment

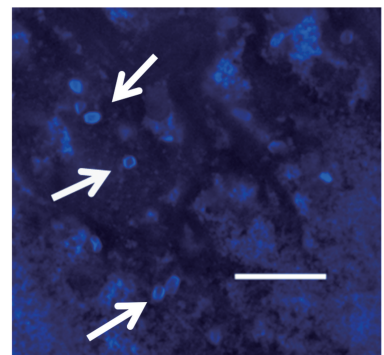


图 4 微孢子虫孢子。荧光增白剂(Calcofluor White M2R)染色后,激光扫描共聚焦显微镜检测(10 μm)
Figure 4 Microsporidian spores, stained with Calcofluor White M2R and captured by laser scanning confocal microscopy (10 μm)

表 1 mNGS 测序结果列表
Table 1 The results of metagenomics next-generation sequencing

类别	种属	名称	中文名称	序列数
Eukaryota	Vittiforma	<i>Vittiforma corneae</i>	Vittiforma corneae	22 430
Bacteria	Cutibacterium	<i>Cutibacterium acnes</i>	痤疮丙酸杆菌	3
Viruses	Lymphocryptovirus	<i>Human gammaherpesvirus 4</i>	EBV	2
Bacteria	Acinetobacter	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	约氏不动杆菌	1
Bacteria	Corynebacterium	<i>Corynebacterium matruchotii</i>	马棒状杆菌	1

2 讨论

微孢子虫是一种专性细胞内病原体,系统发育研究表明,微孢子虫与隐菌门并列为真菌界的分支^[6]。微孢子虫产生独特的单细胞孢子,具有耐环境性^[7,8]。这些孢子的形状和大小因物种而异,有圆球形或卵圆形或细长形的孢子,成熟的孢子可感染宿主。已报道有 10 个属的共 14 种微孢子虫可感染人体^[3],可以引起微孢子虫角膜炎的除了条纹孢子虫属(*Vittiforma*)的角膜条纹微孢子虫(*Vittiforma corneae*)外,还有脑炎微孢子虫属(*Encephalitozoon*)的脑炎微孢子虫(*Encephalitozoon cuniculi*)、海伦脑炎微孢子虫(*E.hellem*)、粗糙多孢微孢子虫属(*Trachipleistophora*)的人粗糙多孢微孢子虫(*Trachipleistophora hominis*)、微孢子虫属(*Nosema*)的眼微孢子虫(*N.ocularum*)、锡兰微孢子虫(*M.ceylonensis*)、非洲微孢子虫(*M.africanum*)以及腕虫属(*Brachiola*)的阿氏腕虫(*B.algerae*)等微孢子虫都可以引起角结膜炎甚至角膜溃疡^[9]。微孢子虫角膜炎有两种临床表现:免疫功能正常患者的角膜基质感染和免疫受损患者的双侧弥漫性点状上皮性角膜病变,艾滋病患者是微孢子虫的易感人群。在免疫功能受损的人群中,眼部微孢子虫感染的发病率比在免疫功能正常的人中更常见^[10]。对微孢子虫角膜炎进行准确的诊断是有效治疗的基础。光学显微镜是检测微孢子虫的常用手段,透射电镜是微孢子虫诊断和种属鉴定的金标准,可以观察到微孢子虫的超微结构^[11],是微孢子虫鉴定和分类的主要依据之一,但是由于对仪器设备和实验技术要求较高,一般医院检验科室不具备电镜检测条件。除此之外也可以采用染色方法检查微孢子虫感染。苏木素-伊红染色法对感染微孢子虫的角膜组织染色时,可观察到微小的椭圆形折射体;改良齐-尼二氏抗酸染色法及荧光增白剂染色法检出率最高^[12]。宏基因组二代测序技术(metagenomics Next-Generation Sequencing, mNGS)是目前较为快速准确的检测和鉴定微生物的方法^[13-16]。借助二代测序平台快速测序获得样

品中的核酸序列,并进一步与各个物种的基因组序列对比,从而得知微生物的种类和比例。本文患者右眼眼红眼痛伴视力下降 5 个月余,期间就诊进行抗感染治疗无缓解,但是未进行宏基因组检测或其他实验室检测来明确病因,导致来我院就诊时已出现角膜穿孔,也提醒临床医生在诊断结膜炎相关的非典型点状上皮性角膜炎的过程中,应考虑微孢子虫感染的角膜结膜炎,及时诊断治疗,避免发展为重症。

目前对于微孢子的分类和治疗有三种争议性的观点:微孢子虫目前公认为真菌,其细胞壁上含有一些几丁质成分,因此将其归为属于真菌类并给予抗真菌治疗^[17],大多数微孢子感染相关的眼科文献都采纳该观点;国际原生动物学学会(International Society of Protistologists)于 2017 年发布的《真核生物系统分类》(Systematics of the Eukaryotes)的修订版^[18],结合了分子、形态学和生态学数据,认为微孢子虫属于微孢子虫亚门;许隆祺教授主编的《图说寄生虫学与寄生虫病》^[9]以及国际通用的默沙东手册中,将微孢子虫归为寄生虫类,可给予阿苯达唑、富马西林(又名烟曲霉素, Fumagillin)、甲硝唑、奥曲肽(Octreotide)、磺胺二甲基异噁唑等药物进行治疗,可能对部分微孢子虫感染有一定的效果。目前已有研究证明,阿苯达唑对感染人类和动物的脑炎微孢子虫是有效的;眼部微孢子虫引起的角膜病变可每 2~4 h 使用 1%~2% 伏立康唑滴眼进行局部治疗,连续治疗 1~6 周可治愈^[19-21]。因此,结合前人的研究成果和治疗经验,我们建议对于该病进行联合用药治疗,局部可给予伏立康唑滴眼液,联合氟康唑滴眼液、氟康唑眼膏及抗生素滴眼液治疗防治并发症,并口服阿苯达唑治疗。

微孢子虫角膜炎在东南亚地区多见,截至 2009 年新加坡每年新增约 55 例微孢子虫角膜炎病例^[21]。水生生物是微孢子虫疾病传播的主要媒介,包括鱼类和甲壳类动物,如虾、龙虾、蛤蜊等^[22]。被污染的水源也会传播微孢子虫,包括作物灌溉用水、海水、饮用水、地下水、废水、环境中的排泄物和污泥等^[23,24]。

在兔子、绵羊和非人类灵长类动物中也观察到了从母体到后代的垂直传播^[24,25]。在人类感染病例中,通过粪口和气溶胶传播也可能发生^[26]。由于微孢子虫在一般的环境条件下能存活数天至数周,因此吃煮熟的食物、饮用煮沸的水,保持手卫生,避免接触不干净的环境和动物对预防微孢子虫感染性疾病非常重要^[27]。本病例中的患者于 2016 年曾因“右眼真菌性角膜溃疡”行抗真菌治疗后治愈,且患者有不洁手卫生史,因此形成的角膜病损灶在自身免疫力下降的情况下更容易被手部携带的微孢子虫感染,所以术后对患者进行手卫生以及感染性角膜疾病的科普讲解对于预后也是非常必要的。

参考文献:

- [1] Ryan ET, Hill DR, Solomon T, et al. Acknowledgments [M]//Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases. Amsterdam: Elsevier, 2020; vi. doi:10.1016/b978-0-323-55512-8.00224-6
- [2] Han B, Pan GQ, Weiss LM. Microsporidiosis in humans [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2021, 34(4): e0001020. doi:10.1128/CMR.00010-20
- [3] Sak B, KváčM, Kučerová Z, et al. Latent microsporidial infection in immunocompetent individuals - a longitudinal study [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2011, 5(5): e1162. doi:10.1371/journal.pntd.0001162
- [4] Didier ES, Stovall ME, Green LC, et al. Epidemiology of microsporidiosis: sources and modes of transmission [J]. *Vet Parasitol*, 2004, 126(1/2): 145-166. doi:10.1016/j.vetpar.2004.09.006
- [5] 张斌, 李威, 何伟. 大气泡法辅助深板层角膜移植治疗圆锥角膜的临床观察 [J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2021, 35(1): 92-94. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2020.095
ZHANG Bin, LI Wei, HE Wei. Big bubble assisted deep lamellar keratoplasty surgery for keratoconus [J]. *Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University*, 2021, 35(1): 92-94. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2020.095
- [6] James TY, Pelin A, Bonen LD, et al. Shared signatures of parasitism and phylogenomics unite Cryptomycota and microsporidia [J]. *Curr Biol*, 2013, 23(16): 1548-1553. doi:10.1016/j.cub.2013.06.057
- [7] Weber R, Deplazes P, Schwartz D. Diagnosis and clinical aspects of human microsporidiosis [J]. *Contrib Microbiol*, 2000, 6: 166-192. doi:10.1159/000060360
- [8] Manual of clinical microbiology [M]. 12th Edition. American Society for Microbiology Press, 2011
- [9] 许隆祺. 图说寄生虫学与寄生虫病 [M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2016
- [10] Didier ES. Microsporidiosis: an emerging and opportunistic infection in humans and animals [J]. *Acta Trop*, 2005, 94(1): 61-76. doi:10.1016/j.actatropica.2005.01.010
- [11] 莫碧莹, 包佳玲, 周泽扬. 人类微孢子虫检测方法研究进展 [J]. *微生物学报*, 2021, 61(5): 1031-1043. doi:10.13343/j.cnki.wsxb.20200290
MO Biying, BAO Jialing, ZHOU Zeyang. Research progress in detection methods of human microsporidia [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(5): 1031-1043. doi:10.13343/j.cnki.wsxb.20200290
- [12] 黄敏君, 黄松如. 眼部微孢子虫病研究进展 [J]. *传染病信息*, 2010, 23(5): 314-318. doi:10.3969/j.issn.1007-8134.2010.05.021
HUANG Minjun, HUANG Songru. Research progress of ocular microsporidiosis [J]. *Infectious Disease Information*, 2010, 23(5): 314-318. doi:10.3969/j.issn.1007-8134.2010.05.021
- [13] 戴媛媛, 马筱玲. 宏基因组二代测序技术在临床病原学诊断中的应用 [J]. *临床检验杂志*, 2021, 39(1): 1-5. doi:10.13602/j.cnki.jcls.2021.01.01
DAI Yuanyuan, MA Xiaoling. Application of metagenome second-generation sequencing technology in clinical etiological diagnosis [J]. *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*, 2021, 39(1): 1-5. doi:10.13602/j.cnki.jcls.2021.01.01
- [14] Blauwkamp TA, Thair S, Rosen MJ, et al. Analytical and clinical validation of a microbial cell-free DNA sequencing test for infectious disease [J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(4): 663-674. doi:10.1038/s41564-018-0349-6
- [15] Gu W, Miller S, Chiu CY. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection [J]. *Annu Rev Pathol*, 2019, 14: 319-338. doi:10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012751
- [16] 宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用专家共识组. 宏基因组分析和诊断技术在急危重症感染应用的专家共识 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2019, 28(2): 151-155. doi:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2019.02.005
- [17] Hibbett DS, Binder M, Bischoff JF, et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi [J]. *Mycol Res*, 2007, 111(Pt 5): 509-547. doi:10.1016/j.mycres.2007.03.004
- [18] Adl SM, Bass D, Lane CE, et al. Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of eukaryotes [J]. *J Eukaryot Microbiol*, 2019, 66(1): 4-119. doi:10.1111/jeu.12691
- [19] Huang AS, Cho JS, Bertram BA. Microsporidial keratitis related to water exposure: a case series [J]. *Cureus*,

- 2021, 13(6): e15760. doi:10.7759/cureus.15760
- [20] Alabduljabbar M, Sirajuddin F, Maktabi A, et al. A rare microsporidial infection in lamellar corneal tissue, following transepithelial photorefractive keratectomy [J]. *Case Rep Ophthalmol*, 2023, 14(1): 127-133. doi:10.1159/000528894
- [21] Arnalich-Montiel F, de-Arriba-Palomero P, de Dompablo E, et al. *Vittaforma Corneae* keratoconjunctivitis; an emerging pathology among travelers returning from Southeast Asia [J]. *Arch Soc Esp Oftalmol*, 2020, 95(11): 569-572. doi:10.1016/j.oftal.2020.04.017
- [22] Doboși AA, Bel LV, Paștiu AI, et al. A review of *Encephalitozoon cuniculi* in domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)-biology, clinical signs, diagnostic techniques, treatment, and prevention [J]. *Pathogens*, 2022, 11(12): 1486. doi:10.3390/pathogens11121486
- [23] Malik S, Ishaq M, Nayyar S, et al. Microsporidial keratitis- first case series of a rare pathogen in the wake of flood disasters of 2022 in Pakistan [J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2022, 32(12): SS165-SS167. doi:10.29271/jcpsp.2022.Supp0.SS165
- [24] Sarabeev V, Ovcharenko M, Jarosiewicz A, et al. Data-
- base on eukaryotic symbionts of native and invasive gammarids (Crustacea, Amphipoda) in the Baltic region of Poland with information on water parameters for sampling sites [J]. *Data Brief*, 2023, 49: 109308. doi:10.1016/j.dib.2023.109308
- [25] Akossi RF, Delbac F, El Alaoui H, et al. The intracellular parasite *Anncaliia algerae* induces a massive miRNA down-regulation in human cells [J]. *Noncoding RNA Res*, 2023, 8(3): 363-375. doi:10.1016/j.ncrna.2023.05.003
- [26] Carella F, De Vico G. Pathology, epidemiology, and phylogeny of mussel egg disease due to the microsporidian *Steinhausia mytilovum* (Field, 1924) in the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*) [J]. *J Invertebr Pathol*, 2023, 198: 107927. doi:10.1016/j.jip.2023.107927
- [27] Mohanty A, Sahu SK, Sharma S, et al. Past, present, and prospects in microsporidial keratoconjunctivitis- A review [J]. *Ocul Surf*, 2023, 28: 364-377. doi:10.1016/j.jtos.2021.08.008

(编辑:王磊)

(上接第 94 页)

- [22] Dey S, Agarwal M. Frontoethmoidal mucocele causing proptosis and visual loss [J]. *Natl J Maxillofac Surg*, 2020, 11(1): 121-123. doi:10.4103/njms.NJMS_93_18
- [23] 刘冉冉, 王建国, 韩振强, 等. 蝶筛窦黏液囊肿引起视力下降 1 例并文献复习 [J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2014, 28(6): 101-102. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2014.290.
- LIU Ranran, WANG Jianguo, HAN Zhenqiang, et al. Ethmoid and sphenoid sinus mucocele caused decreased visual acuity: one case report and a literature review [J]. *Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University*, 2014, 28(6): 101-102. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2014.290

(编辑:曾婕)