

# 角膜板层清创联合无缝线羊膜移植术治疗表浅真菌性角膜炎

张 皇, 艾 明

作者单位: (430060) 中国湖北省武汉市, 武汉大学人民医院眼科  
作者简介: 张皇, 在读硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 白内障、青光眼、临床眼科综合。

通讯作者: 艾明, 博士, 主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 眼底病、角膜病、白内障. wan@whu.edu.com

收稿日期: 2014-05-12 修回日期: 2014-07-25

## Clinical observation of corneal lamellar debridement combined with sutureless amniotic membrane transplantation for the treatment of superficial fungal keratitis

Huang Zhang, Ming Ai

Department of Ophthalmology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Correspondence to: Ming Ai. Department of Ophthalmology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China. wan@whu.edu.com

Received: 2014-05-12 Accepted: 2014-07-25

### Abstract

• AIM: To evaluate the clinical efficacy of corneal lamellar debridement combined with sutureless amniotic membrane transplantation for the treatment of superficial fungal keratitis.

• METHODS: Totally 22 cases (22 eyes) with superficial fungal keratitis were referred to our hospital from April 2012 to October 2013. The patients with persistent cornea ulcer after treatment of local and systemic antifungal drugs underwent corneal lamellar debridement combined with sutureless amniotic membrane transplantation, and the recipient bed was covered with an amniotic membrane using fibrin sealant during the operation. All patients were still given topical antifungal therapy for 1-2mo after operation. The followed-up time was 3mo or above. We observed the corneal healing and amniotic membrane adhesion by split lamp microscope, and investigated the transformation of amniotic membrane and fungal infection recurrence with confocal microscope.

• RESULTS: Corneal edema and anterior chamber reaction of 21 patients disappeared gradually, and no amniotic membrane graft dissolved and shed off within 1-2wk postoperatively. Two weeks after operation, the graft integrated into the corneal and the corneal wounds' thickness increased gradually, the corneal epithelium reconstructed and corneas became clear. Four weeks after operation, the corneal scarring developed gradually and fluorescence staining was negative. Nineteen cases'

amniotic membranes that adhered with the cornea dissolved 4wk after operation. There were different degrees of corneal nebula or macula remained 3mo postoperatively. All patients' vision improved in varying degrees, except in 1 case with fungal keratitis who had been cured by lamellar keratoplasty.

• CONCLUSION: Corneal lamellar debridement combined with sutureless amniotic membrane transplantation can effectively remove the foci of inflammation, improve the local efficacy, shorten the operation time, relieve the postoperative reaction, and promote cornea union, which is an effective way to treat superficial fungal keratitis.

• KEYWORDS: corneal lamellar debridement; amniotic membrane; transplantation; fibrin sealant; fungal keratitis

Citation: Zhang H, Ai M. Clinical observation of corneal lamellar debridement combined with sutureless amniotic membrane transplantation for the treatment of superficial fungal keratitis. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(9):1615-1617

### 摘要

目的: 观察角膜板层清创联合无缝线羊膜移植术治疗表浅真菌性角膜炎的临床疗效。

方法: 选取 2012-04/2013-10 在我院确诊的表浅真菌性角膜炎患者经局部+全身抗真菌药物治疗效果欠佳者 22 例 22 眼, 采用角膜板层清创联合无缝线羊膜移植手术治疗, 术中采用生物纤维蛋白粘合剂粘合固定羊膜植片。术后局部抗真菌治疗坚持 1~2mo, 随访 3mo 以上, 裂隙灯观察角膜愈合、羊膜黏附等情况, 共焦显微镜观察羊膜转归、真菌感染复发等。

结果: 患者 21 例术后 1~2wk 角膜水肿、前房反应逐渐消退, 未见羊膜植片脱落、溶解, 未见羊膜下积液等; 2wk 后羊膜植片逐渐与角膜融为一体, 创面逐渐增厚, 角膜上皮重建、透明度增加; 4wk 后病变区逐渐瘢痕化, 荧光素染色阴性; 3mo 后角膜创面遗留程度不等的角膜云翳或斑翳, 视力较术前有不同程度提高。其中 19 例术后 4wk 羊膜基本或完全吸收。术后 1 例真菌感染复发, 经板层角膜移植后治愈。

结论: 角膜板层清创联合无缝线羊膜移植可有效清除炎症病灶, 提高局部药效, 缩短手术时间, 减轻术后反应, 促进角膜愈合, 是治疗表浅真菌性角膜炎的一种有效方法。

关键词: 角膜板层清创; 羊膜; 移植; 纤维蛋白粘合剂; 真菌性角膜炎

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2014.09.15

引用: 张皇, 艾明. 角膜板层清创联合无缝线羊膜移植术治疗表浅真菌性角膜炎. 国际眼科杂志 2014;14(9):1615-1617

## 0 引言

真菌性角膜炎是致病性真菌感染引起的一种致盲性角膜病,在我国居感染性角膜病致盲率的首位<sup>[1]</sup>。因临床上治疗棘手,尚缺乏有效的抗真菌药物,多数患者在单纯药物治疗期间病情恶化明显,部分最终导致失明。虽然角膜移植手术仍是治疗严重真菌性角膜炎的最有效方法,但角膜供体来源缺乏限制了角膜移植手术的开展<sup>[2]</sup>。因此,通过有效的方法清除角膜坏死组织,并提高药物疗效来阻止角膜溃疡及穿孔尤为重要,我科于2012-04/2013-10采用板层角膜清创联合无缝线羊膜移植术治疗表浅真菌性角膜炎22例,取得了良好的效果,现报告如下。

## 1 对象和方法

**1.1 对象** 收集2012-04/2013-10于我院治疗的真菌性角膜炎患者22例22眼,男14例,女8例,年龄35~75(平均57)岁,发病后就诊时间3~16(平均10)d。所有患者均为单眼发病,右眼12例,左眼10例;明确有植物外伤史15例。全部病例均经角膜刮片10% KOH湿片法检查或活体共焦显微镜查到菌丝以确诊。裂隙灯下见溃疡直径未超过3mm,病灶表浅、未超过角膜1/3厚度;其中17例溃疡未累及瞳孔区,5例溃疡累及瞳孔区。所有病例术前已行局部50g/L那他霉素眼药水+全身2g/L氟康唑注射液抗真菌治疗1wk,无明显疗效且炎症有扩大趋势。材料:选择健康足月剖宫产产妇的胎盘组织取新鲜羊膜(产前均已进行血清学检查,排除乙肝、丙肝、梅毒及获得性免疫缺陷综合征等感染性疾病,无菌条件下去除绒毛膜、海绵层,用抗生素稀释浸泡、漂洗后,经无水甘油脱水冷冻保存备用,保存时间应小于1mo)。采用生物纤维蛋白粘合剂,使用前将配制好的主体胶和催化剂溶液分别注入双筒注射器内,末端连接钝头针,置于针座上备用。

**1.2 方法** 所有患者治疗前均进行了详细的眼科检查,包括视力、眼压、裂隙灯检查等。

**1.2.1 药物治疗** 手术前后局部给予抗真菌(50g/L那他霉素眼药水,术前及术后1wk内1次/h,术后1wk改为6次/d,2wk后依病情适度减量)、抗细菌(左氧氟沙星眼药水,4次/d)、非甾体类抗炎(双氯芬酸钠眼药水,4次/d)、促角膜修复(重组牛碱性成纤维细胞生长因子眼药水,4~6次/d)、扩瞳(复方托吡卡胺眼药水,3次/d;阿托品眼用凝胶,1次/睡前)等药物治疗。全身采用2g/L氟康唑注射液200mg,静滴,1次/d,首剂加倍。对眼压升高者全身加用甘露醇250mL,1次/d;必要时加用醋甲唑胺片50mg,口服,1~3次/d。

**1.2.2 手术治疗** 术前告知病情,介绍不同治疗方案,强调该术式的必要性、手术过程、目的、以及特殊治疗风险、预后和并发症等情况,征得患者及家属知情同意,消除患者心理恐惧。手术均在显微镜下进行,常规消毒铺巾,表面麻醉或联合球后麻醉,活力碘及生理盐水冲洗结膜囊。用圆刀片刮除病灶表面坏死组织,蘸干角膜表面水分后,用板层刀于浸润边界约1~1.5mm处健康角膜开始对灰白色浸润灶予以反复剥切,深度不宜超过1/3角膜厚度。术中应注意对浸润灶逐层切除、修整,以保持创面平整、边界光滑,确保板层切除后植床下方角膜组织相对透明、光滑,尽量做到无灰白浸润区残留。清创彻底后给予活力碘+2g/L氟康唑注射液消毒冲洗结膜囊。取术前已解冻、复水的羊膜,用生理盐水+2g/L氟康唑注射液冲洗,并将植片大小修剪至略小于植床。此时,蘸干植床创面及羊膜植片水分,缓慢将上述双筒注射器内溶液摇匀后等量、适量推至植床创面上形成粘合剂涂层,再迅速将羊膜植片(上皮面向上)粘帖并利用斜视勾展平于创面上,羊膜即与组

织粘合剂粘合。术毕时涂氧氟沙星眼膏加压包扎术眼。

**1.2.3 观察和处理** 术后继续全身抗真菌治疗,2d后开放点药。每日检查视力,裂隙灯下观察角膜创面愈合、羊膜是否脱落溶解、羊膜与粘合剂的黏附稳定性、羊膜下有无积液、以及前房反应等情况,共焦显微镜观察羊膜转归、有无真菌感染复发等。部分存在眼部疼痛患者给予消炎镇痛处理,有全身基础病患者则积极治疗原发病。术后应根据病情适当调整用药频率,为防止复发,局部抗真菌治疗需坚持1~2mo。出院后需定期复诊3mo以上。

统计学分析:应用SPSS 16.0统计软件,患者手术前、后视力比较采用Wilcoxon秩和检验,以 $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 视力** 除1例累及瞳孔区的真菌感染复发者行板层角膜移植感染控制良好外,17例未累及瞳孔区者术前视力0.05~0.3,4例溃疡累及瞳孔区者视力均 $< 0.05$ 。术后3mo,2例术前感染未累及瞳孔区但合并有白内障者视力0.05~0.3,其余15例视力均 $> 0.3$ ;4例累及瞳孔区者2例视力 $< 0.05$ ,2例 $> 0.3$ 。术后视力较术前有不同程度提高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**2.2 裂隙灯检查** 术后3~5d羊膜植片平整、轻度水肿,随后水肿逐渐消退且透明。1wk内未见羊膜植片脱落、溶解,未见羊膜下积液。10d左右患者角膜水肿、前房反应均明显消退。1~2wk后角膜上皮完全覆盖羊膜表面,荧光染色见上皮完整、光滑。2wk后羊膜植片逐渐与角膜组织融合为一体,创面开始逐渐增厚。19例患者术后4wk羊膜基本或完全吸收,病变区逐渐瘢痕化,荧光素染色阴性。3mo后角膜创面遗留程度不等的角膜云翳或斑翳。

**2.3 共焦显微镜检查** 患者21例术后1mo未见真菌感染复发患者中,2例可观察到羊膜组织,其表面的角膜上皮层厚度、形态与周边健康角膜上皮无差异,其余19例患者角膜上皮组织未见异常。1例真菌感染复发者术后2wk发现真菌菌丝,及时行板层角膜移植后感染控制。

## 3 讨论

真菌性角膜炎大多有明显的植物外伤史,多见于男性农民。真菌感染后引起角膜组织损伤的机制除了真菌本身及毒素的侵袭作用,还有炎症过程中大量中性粒细胞的浸润参与,其释放的胶原酶及蛋白溶解酶等,能溶解角膜胶原纤维促发角膜溃疡<sup>[3]</sup>。目前公认的最有效的抗真菌药物仍是多烯类,代表药物那他霉素,体外药敏试验证实那他霉素对丝状真菌的敏感性高达80%以上<sup>[4]</sup>,但近年来国内外学者<sup>[5,6]</sup>报道,由于其组织穿透性差,临床上单纯用药对丝状真菌性角膜炎的治愈率仅65%。因此,对全身和局部联合应用抗真菌药物治疗后炎性不能控制者,应及时手术干预。虽然板层角膜移植、穿透性角膜移植均可有效的治疗本病,但由于角膜供体来源缺乏、治疗成本高,在一定程度上限制了角膜移植手术的开展<sup>[1]</sup>。结膜瓣覆盖术作为一种传统的治疗角膜疾病的方法,近年来因其疗效不确切,手术创伤大、瓣膜透明度差、术后角膜血管翳等情况,现已很少应用于临床。如何在病变早期,提高局部药物穿透性、有效杀灭角膜深层真菌,从而提高临床药物治愈率、改善患者视力是个亟待解决的问题。

我们在临床上对于部分表浅真菌性角膜炎,直径未超过3mm,感染深度未超过1/3角膜厚度,且药物治疗效果欠佳的患者,及时施行角膜板层清创+无缝线羊膜移植术,取得了良好的疗效。术中清创能有效的清除病灶表面坏死组织、真菌及其毒素、以及大量的炎症细胞,尽可能的减轻术后炎症反应。刘敬等<sup>[7]</sup>认为,真菌性角膜炎的病原

结构及其生长方式的特点决定了早期行病灶板层剥除并加以药物辅助可控制大部分感染病例。及时的角膜板层清创可有效去除真菌感染病灶内大多数致病菌,利于那他霉素等眼表作用较强的抗真菌药物直接接触残余真菌,从而达到抑制真菌生长的效果。在板层剥切手术技巧方面,肖璇等<sup>[8]</sup>指出,角膜剖面的层间白色拉丝样纤维结构易于板层剥离,这为角膜的板层剥切提供了理论解剖基础。病灶剥切后能形成光滑平整的创面,有利于角膜上皮细胞的迁移和修复。得益于以上手术技巧,我们在术中还应注意以下几点:(1)自浸润边界约1~1.5mm处健康角膜开始对病灶板层剥除。(2)保持角膜及创面干燥,这样利于板层刀在纤维层间更容易使病灶层层剥离。(3)每剥离一薄板层片后,需通过点水再次观察浸润区域颜色及透明度,以判断病灶是否清除干净(残留浸润区大都呈现灰白色),但值得注意的是,显微镜下此方法目测清创范围仍存在一定缺陷,术后部分患者存在潜在复发倾向;对于术中发现感染超过1/3角膜厚度或术后复发者,应及时行板层角膜移植从而提高疗效。(4)修整创面边界,使其平整、光滑,为羊膜植片的无缝线粘创造良好的基础。(5)操作中应手法娴熟、力度轻柔。

近年来,羊膜移植已经成为了治疗许多眼表疾病的重要手段。相关研究表明,羊膜组织具有独特的生物学特性<sup>[9]</sup>,其抗原性低,所表达的多种抗血管生成因子、抗炎因子、蛋白酶抑制剂等,对抑制炎症、新生血管形成作用明显;同时具有抑制瘢痕、促进上皮增生和分化、抗感染<sup>[10]</sup>等作用,有利于促进角膜溃疡的愈合,减少角膜新生血管和瘢痕的形成。羊膜植片作为缺损区理想的基底膜,可利用上皮细胞移行加强底层上皮细胞黏附,促进上皮分化、增生的同时亦能防止上皮细胞程序性凋亡,减少溃疡穿孔<sup>[11]</sup>。

随着医用粘合剂的迅速发展,生物粘合剂也开始出现并应用于临床当中,其中以生物纤维蛋白粘合剂(fibrin sealant,FS)为代表,自1970年代末开始在欧洲商业化使用,1990年代得到广泛的发展<sup>[12]</sup>。它通过模拟人体凝血机制的最后阶段反应,形成不溶性纤维蛋白凝块,使创面牢固黏附,并起到防水、止血、促进愈合的作用<sup>[13]</sup>。由于其粘合迅速(形成涂层后5~10s即可形成凝块)、固化快、组织相容性好、生物降解快,且无毒、不良反应少、能促进局部组织生长和修复,具有抑菌性等优点,近些年已被医学界广泛采用。在眼科应用中,因其用量少,能较好地被眼组织耐受。近年来,国外也有FS应用于结膜手术、角膜感染和溃疡穿孔联合羊膜移植、眼表重建手术、青光眼手术和斜视手术等的报道<sup>[14]</sup>。Duchesne等<sup>[15]</sup>曾报道了用FS联合羊膜移植治愈数例角膜溃疡致穿孔的患者,并认为角膜溃疡时裸露的角膜基质含有大量的胶原,FS可与富含胶原的组织相互交联、粘连,FS中存在的纤维蛋白稳定因子具有刺激成纤维细胞增殖的作用,可促进溃疡愈合。陈蔚等<sup>[16]</sup>在兔角膜上用微型角膜刀联合纤维蛋白胶作无缝线光学板层角膜移植术获得成功,说明此手术简便、安全,术后角膜创伤愈合好、反应轻微,纤维蛋白胶体不影响角膜的光学性能。

本研究当中,我们采用FS来完成22例无缝线羊膜移植手术,取得了很好的效果。相比于缝线固定羊膜移植,我们认为,FS粘羊膜移植具有以下优点:(1)术中病灶板层剥切后形成光滑平整的创面,使得液态粘合剂涂层整齐平坦,FS与创面角膜基质层接触更充分、粘合更紧密。(2)无缝线羊膜移植后眼组织异物感轻,减少了泪液浸渍及眼睑摩擦,减少缝线对羊膜的刺激,利于溃疡愈合。

(3)省去了缝合步骤,手术时间明显缩短,患者耐受力好。(4)无缝线刺激,角膜周边炎症反应轻,有利于角膜病变的修复,尽可能减少角膜瘢痕,增加角膜透明度。但值得注意的是:(1)术前告知病情,介绍该治疗方案的手术过程、目的、以及特殊治疗风险、预后和并发症等情况,同时注意术中使用的的方法和技巧。(2)在应用FS前,应尽量保证植片、植床创面的干燥,避免胶体的稀释以及增加无效接触面积。(3)依创面大小取适量FS,待涂层形成,迅速放置羊膜植片,利用斜视勾展平植片。(4)及时挤除植片与植床间过多的胶体,避免术后植片隆起、增加睑结膜摩擦导致脱落,以及胶体固化后易松动而出现植片下积液的风险。

所有患者术后应继续通过局部、全身抗真菌药物治疗;为防止复发,局部抗真菌治疗需坚持1~2mo。仅1例患者术后2wk发现真菌感染复发,通过及时的板层角膜移植获得了治愈。其余21例患者均未见羊膜脱落及膜下积液,术后2wk羊膜植片逐渐与角膜组织融为一体,创面开始逐渐增厚。19例患者术后4wk时通过共焦显微镜检查发现羊膜基本或完全吸收;2例可观察到羊膜组织,其表面的角膜上皮层厚度、形态与周边健康角膜上皮无差异。3mo后角膜创面遗留程度不等的角膜云翳或斑翳,视力较术前明显提高。

综上所述,对于表浅真菌性角膜炎患者,如果能施行角膜板层清创+无缝线羊膜移植术,将有效的清除病灶,大大提高局部药物治疗有效性,缩短手术时间,缩短病程,减轻术后反应,促进溃疡愈合,尽可能提高患者视力。但对于浸润较深、病情较重的真菌性角膜炎患者,直接实行板层或穿透性角膜移植术仍是控制感染的首选治疗方法。

#### 参考文献

- Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP. Corneal blindness: a global perspective. *Bull World Health Organ* 2001;79(3):214-221
- 谢立信. 真菌性角膜炎. *中华眼科杂志* 2003;39(10):638-640
- Augsten R, Dawczynski J, Pfister W, et al. See 1 citation found using an alternative search. *Ophthalmology* 2008;115(11):1043-1045
- 王志昕,王智群,罗时运,等. 眼部真菌感染的病原学及体外药物敏感性分析. *眼科研究* 2007;25(2):145-147
- 王冬梅,陈光胜,黄明汉. 那他霉素在真菌性角膜溃疡愈合中的治疗作用. *国际眼科杂志* 2010;10(4):744-745
- Prajna NV, Mascarenhas J, Krishnan T, et al. Comparison of natamycin and voriconazole for the treatment of fungal keratitis. *Arch Ophthalmol* 2010;128(6):672-678
- 刘敬,谢立信,史伟云. 主要致病真菌在角膜内生长方式的研究. *眼科研究* 2008;26:26-29
- 肖璇,谢立信,赵靖,等. 角膜溃疡板层清创术治疗中浅层真菌性角膜炎的显微手术技巧. *中华显微外科杂志* 2009;32(4):340-341
- Yildiz EH, Nurozler AB, Ozkan Aksoy N, et al. Amniotic membrane transplantation: indications and results. *Eur J Ophthalmol* 2008;18(5):685-690
- Dua HS, Gomes JA, King AJ, et al. The amniotic membrane in ophthalmology. *Surv Ophthalmol* 2004;49(1):51-77
- 文道源,曾祥云,罗瑛. 羊膜建库及眼科临床的应用. 南昌:江西高校出版社 2006:205-214
- Sharma A, Kaur A, Kanur R, et al. Fibrin glue versus N-butyl-2-cyanoacrylate in corneal perforations. *Ophthalmology* 2003;110(2):291-298
- 秦应祥,赵敏. 组织粘合剂在眼科中的应用. *国际眼科杂志* 2004;4(4):690-694
- Bloom JN, Duffy MT, Davis JB. A light-activated surgical adhesive technique for sutureless ophthalmic surgery. *Lab Sci* 2003;121(11):1591-1595
- Duchesne B, Tahiri H, Galand A. Use of human fibrin glue and amniotic membrane transplant in corneal perforation. *Cornea* 2001;20(2):230-232
- 陈蔚,瞿佳,吕帆,等. 微型角膜刀联合纤维蛋白黏合剂性无缝线光学板层角膜移植术的实验研究. *中华眼科杂志* 2004;40(5):331-336