

# Эффективность ПЦР-диагностики грибковых кератитов



Г.И. Кричевская



Л.А. Ковалева



И.Д. Зюрняева



П.В. Макаров

А.Е. Андриюшин

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
ул. Садовая-Черногрозская, 14/19, Москва, 105062, Российская Федерация

## РЕЗЮМЕ

**Офтальмология. 2020;17(4):824–829**

Кератомикозы вызываются разными грибами. Для верификации диагноза используют микробиологические анализы (микроскопия мазка, посев на культуральные среды). Недостатки микробиологических методов: существенное снижение чувствительности под влиянием предыдущего лечения, длительность получения ответа (посев учитывают на 3–7-й день). **Цель.** Оценить эффективность полимеразной цепной реакции (ПЦР) в диагностике кератомикозов в сравнении с культуральным методом.

**Пациенты и методы.** Наблюдения выполнены у семи пациентов с тяжелой тотальной язвой роговицы длительностью более 3 недель. Биоматериал (соскобы с язвы роговицы и фрагменты роговиц, удаленных при сквозной кератопластике) исследовали в ПЦР реального времени и микробиологическими методами. В ПЦР использовали диагностический набор для дифференциального выявления ДНК *Candida albicans* и суммарной ДНК грибов (*Fungi*), позволяющий обнаруживать большинство патогенных грибов без определения их вида. Микробиологические методы включали микроскопию мазков, окрашенных по Грамму и 1 % раствором метиленовой сини, посев на питательные среды, в том числе на селективную среду для грибов (агар Сабуро с хлорамфениколом). **Результаты.** ПЦР: во фрагментах всех удаленных при кератопластике роговиц (6 пациентов) выявлена общая для грибов ДНК (ДНК *Fungi*) и не обнаружена ДНК *Candida albicans*, что коррелировало с результатами посева на среду Сабуро (плесневые грибы обнаружены в 5 из 6 роговиц). В соскобах с роговиц, взятых до операции, также выявлена ДНК *Fungi*; однако рост грибов при посеве на различные питательные среды не был обнаружен. **Заключение.** Грибковые язвы роговицы — тяжелое заболевание, нередко приводящее к инвалидизации по зрению. Быстрое определение этиологии и правильный выбор терапии определяют исходы заболевания. Преимущество ПЦР по сравнению с культуральным методом: быстрота получения результатов (4 часа вместо 3–7 дней); высокая чувствительность, позволяющая выявлять грибы не только в ткани удаленной роговицы, но и в соскобах с язвы роговицы больных, ранее получавших противогрибковую терапию. Наличие коммерческих наборов для дифференциального выявления общей для грибов ДНК и ДНК *Candida albicans* расширяет возможности ПЦР при скрининговой диагностике грибковых кератитов и выборе препаратов до определения вида возбудителя.

**Ключевые слова:** грибковые язвы роговицы, лабораторная диагностика, ПЦР

**Для цитирования:** Кричевская Г.И., Ковалева Л.А., Зюрняева И.Д., Макаров П.В., Андриюшин А.Е. Эффективность ПЦР-диагностики грибковых кератитов. *Офтальмология*. 2020;17(4):824–829. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2020-4-824-829>

**Прозрачность финансовой деятельности:** Никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах

**Конфликт интересов отсутствует**



# The Effectiveness of PCR in Diagnosis of Fungal Keratitis

G.I. Krichevskaya, L.A. Kovaleva, I.D. Zyurnyayeva, P.V. Makarov, A.E. Andryushin

Helmholtz National Medical center of Eye Diseases

Sadovaya-Chernogriazskaya str., 14/19, 105062, Moscow, Russian Federation

## ABSTRACT

**Ophthalmology in Russia. 2020;17(4):824–829**

Fungi implicated in mycotic keratitis include different species. Conventional methods for the diagnosis of fungal keratitis include staining of corneal scrapings, culture medium (Sabouraud agar) for isolating fungi. **Purpose.** To evaluate the effectiveness of polymerase chain reaction (PCR) for the detection of fungal etiology in comparison with the conventional diagnostic methods in cases with suspected fungal corneal ulcer. **Patients and methods.** Seven patients with severe corneal ulcers with more than 3 weeks duration. Corneal scrapings and corneal buttons from seven patients who had undergone therapeutic keratoplasty were used for microbiological and PCR analysis. PCR diagnostic kits for the differential detection of *Candida albicans* DNA and total fungi DNA (DNA *Fungi*), which allows to identify most pathogenic fungi without determining their species were used. Microbiological methods: microscopy of gram-stained smears, culture techniques, including selective for fungi agar Saburo with chloramphenicol. **Results.** PCR: Fragments of all corneas removed from keratoplasty (6 patients) revealed fungal-common DNA (*Fungi* DNA) and did not detect *Candida albicans* DNA, which correlated with sowing results on Saburo medium (mold fungi found in 5 of 6 corneas). *Fungi* DNA was also detected in the corneal scraps taken prior to surgery; however, growth of fungi during sowing on various nutrient media was not found. **Conclusion.** Corneal fungal ulcers are a serious disease, often leading to visual disability. The rapid determination of etiology and the correct choice of therapy determines the outcomes of the disease. The advantage of PCR over the culture method: the speed of obtaining results (4 hours instead of 3–7 days); high sensitivity, which allows detecting fungi not only in the tissue of the removed cornea, but also in scrapes from the cornea ulcer of patients who previously received antifungal therapy. The presence of commercial kits for differential detection of fungal-common DNA and DNA of *Candida albicans* extends the possibilities of PCR in the screening diagnosis of fungal keratitis and the selection of drugs before determining the type of pathogen.

**Keywords:** fungal corneal ulcers, laboratory diagnostics, PCR

**For citation:** Krichevskaya G.I., Kovaleva L.A., Zyurnyayeva I.D., Makarov P.V., Andryushin A.E. The Effectiveness of PCR in Diagnosis of Fungal Keratitis. *Ophthalmology in Russia*. 2020;17(4):824–829. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2020-4-824-829>

**Financial Disclosure:** No author has a financial or property interest in any material or method mentioned

**There is no conflict of interests**

Кератомикозы — заболевания роговицы грибковой этиологии, встречаются не только в условиях иммуносупрессии, но и у иммунокомпетентных людей. Они, как правило, протекают тяжело и нередко приводят к существенному снижению остроты зрения. В последние годы отмечается рост кератомикозов в структуре инфекционных заболеваний роговицы [1–3].

В патологии глаза играют роль разнообразные грибы — по данным литературы, от 50 до 105 видов. При этом преобладают дрожжевые грибы рода *Candida*, нитчатые (плесневые) грибы, в первую очередь родов *Aspergillus* и *Fusarium* [3–5]. На рубеже XX–XXI веков в ряде стран отмечена смена ведущих возбудителей кератомикозов: первое место отводится нитчатым грибам вместо дрожжевых [1]. Основным фактором риска возникновения грибковой инфекции переднего отрезка глаза — это нарушение целостности эпителия роговицы, что приводит к ослаблению ее барьерной функции. Микротравмы, вызванные инородными телами, контактными линзами, предшествующие заболевания глазной поверхности способствуют инфицированию стромы роговицы широко распространенными в окружающей среде грибами и развитию кератомикозов [1–4, 6]. Описаны вспышки грибковых кератитов при контаминации грибами растворов для хранения и дезинфекции контактных линз [6, 7].

Диагностика грибковых кератитов основывается на клинических и лабораторных данных. Однако офтальмомикоз нередко протекает атипично, в результате

лабораторное обследование проводится с большим опозданием. Есть данные об эффективности конфокальной микроскопии, позволяющей *in vivo* визуализировать грибы [3, 8, 9], но этот метод доступен не всем клиникам. В то же время решающее значение для исходов кератомикоза имеет своевременное начало специфической терапии [4].

Необоснованное и длительное использование антибиотиков широкого спектра действия также способствует активизации и присоединению грибковой инфекции к заболеваниям роговицы другой этиологии [3, 5, 10].

Классические лабораторные методы диагностики микозов включают микроскопию и посев биоматериала, взятого из очага поражения, но они недостаточно чувствительны, а культуральное исследование требует длительного времени (от 3 до 7 дней). По мнению ряда авторов, в 30–56 % случаев посев дает ложноотрицательные результаты (особенно у пациентов, получавших до взятия анализа противогрибковую терапию), поэтому бывает необходимо проведение повторного исследования [5, 11]. В то же время решающими для исхода грибкового кератита являются первые две недели заболевания: при несвоевременном назначении специфической терапии угроза перфорации роговицы значительно возрастает, что повышает вероятность хирургического вмешательства [4].

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени выгодно отличается от микробиологических методов скоростью получения ответа и высокой

чувствительностью [6–8, 11–13]. Однако многообразие видов патогенных грибов и отсутствие тест-систем для выявления многих из них ограничивают возможности ПЦР. Тест-системы, направленные на выявление ДНК, общей для всех грибов (с использованием так называемых пангрибковых праймеров), обеспечивают в быстром скрининговом исследовании диагностику офтальмомикоза без уточнения вида возбудителя [7, 13].

Цель данной работы — определение эффективности ПЦР, основанной на выявлении в биологическом материале общей ДНК грибов (*Fungi*), для диагностики кератомикозов в сравнении с классическими микробиологическими методами.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Были обследованы 7 пациентов с язвой роговицы, сопровождающейся увеитом с гипопионом, в возрасте 21–57 лет, длительность заболевания на момент госпитализации составляла от 3 до 8 недель.

Всем больным проводили комплексное офтальмологическое обследование: визометрию с максимальной коррекцией, биомикроскопию с флуоресцеиновой пробой, тонометрию (пневмо- и/или пальпаторно), офтальмоскопию, ультразвуковое исследование сред и оболочек глаза.

Биологический материал исследовали микробиологическими методами (мазки с роговицы брали у 6 пациентов, фрагменты удаленной при кератопластике роговицы — у 6 пациентов) и в ПЦР (мазки с конъюнктивы и роговицы у 2 пациентов, фрагменты удаленной при кератопластике роговицы — у 6 пациентов, плазма крови — у 4 пациентов).

Микробиологические методы включали микроскопию мазков, окрашенных 1 % раствором метиленовой сини и по Грамму; посев биоматериала на универсальный мясопептонный бульон, а также специальные и селективные питательные среды: кровяной агар, манит-солевой агар, уриселект агар, агар Эндо. Для выявления грибов использовали агар Сабуро с хлорамфениколом.

ПЦР проводили с диагностическими наборами для дифференциального выявления ДНК *Candida albicans* и суммарной ДНК грибов (*Fungi*) («РеалБест ДНК *Candida albicans* / *Fungi*», АО «Вектор-Бест», Кольцово) на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США) с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.

Одновременно определяли наличие в биоматериале ДНК распространенных офтальмотропных возбудителей: вируса простого герпеса 1-го типа (ВПГ 1), вируса простого герпеса 2-го типа (ВПГ 2), вируса Эпштейна — Барр (ВЭБ), цитомегаловируса (ЦМВ), хламидии трахоматис (Х.т.) (диагностические наборы АО «Вектор-Бест», Кольцово).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У всех 7 больных отмечено соответствие данных анамнеза и проводимых по месту жительства схем ле-

чения. Все пациенты длительное время постоянно пользовались мягкими контактными линзами. Заболевание началось остро на фоне полного здоровья: появлялось ощущение инородного тела в глазу, покраснение, слезотечение. При обращении к офтальмологу по месту жительства (3–7-й день от появления жалоб) у всех пациентов диагностировали герпетический древовидный кератит с симптомами иридоциклита. Для местной терапии использовали противовирусные глазные капли и мази, инстилляцией антибактериальных лекарственных средств разных групп, антибактериальные мази, субконъюнктивальные, парабульбарные, внутримышечные и внутривенные введения антибактериальных препаратов широкого спектра действия. Двум больным также проводили туширование поверхности инфильтрата роговицы спиртовым раствором йода или раствором перекиси водорода.

На фоне длительной (4–5 недель) массивной антибактериальной терапии отмечалось усиление инфильтрации роговицы; поверхностное изъязвление увеличивалось, постепенно захватывая всю площадь роговицы и достигая глубоких слоев стромы. Стремительно прогрессировали симптомы увеита, уровень гипопиона достигал 5–10 мм, заполняя весь объем передней камеры. У всех пациентов развилась вторичная глаукома, ВГД не компенсировалось медикаментозно.

В связи с быстро нарастающей отрицательной динамикой больные были направлены на госпитализацию. Из-за крайней степени тяжести язвы роговицы и увеита у 6 из 7 пациентов, помимо консервативной терапии, было проведено хирургическое лечение: сквозная тотальная кератопластика у 2 пациентов однократно, у 3 — двукратно, у 1 — четырехкратно с интервалом в 10–14 дней.

При ПЦР ДНК *Fungi* выявлена во фрагментах удаленных при кератопластике роговиц у всех 6 пациентов, а также в 2 исследованных соскобах с роговицы. При повторной кератопластике в удаленной роговице одного пациента вновь обнаружили только ДНК *Fungi*. ДНК *Candida albicans* не была выявлена ни у одного пациента.

У 4 пациентов одновременно с ДНК *Fungi* была определена ДНК ВЭБ в низкой концентрации: у 3 — во фрагментах удаленной роговицы, у 1 — в плазме крови. У самой старшей 57-летней пациентки в ткани роговицы, помимо ДНК *Fungi*, обнаружена ДНК ВЭБ и ЦМВ (табл.).

При ПЦР исследовании плазмы крови 4 пациентов фунгемиа не определена.

В посевах фрагментов удаленной при кератопластике роговицы на агар Сабуро у 5 из 6 обследованных выявлен рост плесневых грибов (*Aspergillus spp*), у 6-го пациента рост микроорганизмов не обнаружен. У одного пациента отмечено расхождение результатов культурального исследования фрагментов роговицы, взятых при первой и повторной кератопластике: в первом случае обнаружен рост нитчатых грибов, во втором — *C. tropicalis*.

**Таблица.** Результаты ПЦР и микробиологического обследования пациентов с язвой роговицы, сопровождающейся увеитом с гипопионом

**Table.** PCR and microbiological examination of patients with corneal ulcer accompanied by uveitis with hypopyon

Пациент №, пол, возраст / Patients, N, gender, age	Биоматериал / Biomaterial	ПЦР / PCR						Мазок / Smear	Посев: агар Сабуро / мясо-пептонный бульон / Culture: meat-peptone broth / Sabouraud agar
		ДНК ВЭБ <sup>1</sup> / DNA EBV <sup>1</sup>	ДНК ЦМВ <sup>2</sup> / DNA CMV <sup>2</sup>	ДНК ВПГ 1, 2 <sup>3</sup> / DNA HSV 1, 2 <sup>3</sup>	ДНК Х.тр <sup>4</sup> / DNA C.tr <sup>4</sup>	ДНК <i>Candida albicans</i> / DNA <i>C. albicans</i>	ДНК Fungi / DNA Fungi		
1. ж., 57 л. / 1. w. 57 yr.	Фрагмент роговицы / Corneal button	пол. / positive	пол. <sup>5</sup> / positive	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	пол. / positive	н.д. / not investigated	Плесневые грибы, <i>Staph. epidermidis</i> Filamentous fungi <i>Staph. epidermidis</i>
	Соскоб с роговицы / Corneal scraping	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated	Грамм+ кокки / gram-positive cocci	<i>Staph. epidermidis</i>
2. ж., 30 л. / 2. w. 30 yr.	Фрагмент роговицы / Corneal button	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	пол. / positive	н.д. / not investigated	Плесневые грибы, <i>Staph. epidermidis</i> Filamentous fungi <i>Staph. epidermidis</i>
	Плазма / Plasma	пол. / positive	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated
3. ж., 52 г. / 3. w. 52 yr.	Фрагмент роговицы / Corneal button	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	пол. / positive	н.д. / not investigated	Плесневые грибы Filamentous fungi
	Соскоб с роговицы / Corneal scraping	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated	<i>Staph. epidermidis</i>	<i>Staph. epidermidis</i>
	Плазма / Plasma	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated
4. ж., 21 г. / 4. w. 21 yr.	Соскоб с роговицы / Corneal scraping	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	пол. / positive	грамм+ кокки / gram-positive cocci	<i>Staph. epidermidis</i>
	Плазма / Plasma	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated
5. ж., 42 г. / 5. w. 42 yr.	Соскоб с роговицы / Corneal scraping	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	пол. / positive	Микрофлора не обнаружена / negative	Роста нет / negative
	Фрагмент роговицы / Corneal button	пол. / positive	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	пол. / positive	Микрофлора не обнаружена / Negative	Роста нет / Negative
6. м., 52 г. / 6. m. 52 yr.	Фрагмент роговицы (1-я операция) / Corneal button (1st keratoplasty)	пол. / positive	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	пол. / positive	Микрофлора не обнаружена / Negative	Плесневые грибы, Filamentous fungi, <i>Staph. epidermidis</i> + enterococcus faecalis
	Фрагмент роговицы (2-я операция) / Corneal button (2nd keratoplasty)	пол. / positive	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	пол. / positive	Грамм + кокки / Gram-positive cocci	<i>C. tropicales</i>
	Плазма / Plasma	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	н.д. / not investigated	н.д. / not investigated
7. ж., 35 л. / 7. w. 35 yr.	Фрагмент роговицы / Corneal button	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	отр. / negative	пол. / positive	Ед. кокки / Single cocci	Плесневые грибы, <i>Staph. epidermidis</i> , Filamentous fungi, <i>Staph. epidermidis</i>

Примечание: <sup>1</sup> — вирус Эпштейна — Barr; <sup>2</sup> — цитомегаловирус; <sup>3</sup> — вирус простого герпеса 1, 2 типов; <sup>4</sup> — хламидии трахоматис; <sup>5</sup> — ДНК выявлена.  
Note: <sup>1</sup> — Epstein-Barr Virus; <sup>2</sup> — Cytomegalovirus; <sup>3</sup> — Herpes simplex virus 1, 2 type; <sup>4</sup> — *Chlamydia trachomatis*; <sup>5</sup> — DNA detected.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Обследовано 7 человек с тяжелыми язвами роговицы (кератоувеитами), поступившими в институт через 3 и более недель после начала заболевания. Данные анамнеза (все постоянные носители контактных линз) и клиническая симптоматика при госпитализации указывали на возможную грибковую этиологию кератита, хотя при первом обращении по месту жительства всем пациентам диагностировали древовидный герпетический кератит. Исключить вероятность того, что первоначально

кератит был вызван ВПГ, нельзя, однако настораживает полное отсутствие эффекта от противогерпетической терапии, отрицательные результаты ПЦР — исследование фрагментов удаленной роговицы на присутствие ВПГ 1, 2.

По-видимому, проводимая по месту жительства длительная антибиотикотерапия способствовала активному размножению грибов, колонизирующих конъюнктиву, а нарушение целостности эпителия облегчило их проникновение в строму роговицы и развитие кератомикоза. В настоящее время контактные линзы, мелкие травмы

роговицы, имеющиеся в анамнезе заболевания передней поверхности глаза, наряду с массивной антибактериальной терапией, рассматриваются как наиболее значимые факторы риска развития грибковых кератитов [1–4].

Из-за крайней тяжести заболевания 6 из 7 пациентов была проведена сквозная тотальная кератопластика. Для быстрой диагностики грибковой инфекции применяли ПЦР в режиме реального времени с набором, выявляющим в биоматериале отдельно ДНК *Candida albicans* и общую для всех грибов (пангрибковую) ДНК (ДНК *Fungi*) («РеалБест ДНК *Candida albicans* / *Fungi*»).

Подобный подход делает более дешевым и ускоряет процесс диагностики, но в то же время повышает вероятность детекции грибов без разделения их на виды [14]. О целесообразности использования на начальном этапе диагностики кератомикозов праймеров, общих для всех грибов, сообщают и другие исследователи [7, 13].

Во фрагментах всех 6 удаленных роговиц и в 2 исследованных соскобах с роговицы обнаружена ДНК *Fungi* и не обнаружена ДНК *Candida albicans*. Рост плесневых грибов (*Aspergillus spp*) на агаре Сабуро и отрицательные результаты ПЦР на *Candida albicans* согласуются с современными представлениями о ведущей роли нитчатых грибов, а не *Candida albicans*, в этиологии кератомикозов у носителей контактных линз, в отличие от пациентов с предшествующими заболеваниями глазной поверхности, у которых кератиты обусловлены в основном *Candida albicans* [4, 6, 7, 12].

У 2 пациентов в удаленной при кератопластике роговице, помимо ДНК *Fungi*, обнаружена ДНК ВЭБ, а еще у одного — ДНК ВЭБ и ДНК ЦМВ. ВЭБ и ЦМВ, по-видимому, попали в очаг воспаления с клетками крови (макрофаги, лимфоциты), в которых они персистируют.

У 6 из 7 пациентов не удалось купировать грибковую инфекцию без хирургического вмешательства. Несмотря на активно проводимую комбинированную антигрибковую терапию, некоторым потребовалось проведение повторной кератопластики в связи с быстрой реактивацией грибковой инфекции в постоперационном периоде, что подтверждалось детекцией ДНК *Fungi* во фрагментах роговицы, удаленных при рекератопластике. Рецидивы грибкового кератита в роговичном трансплантате связывают с нарушением барьерной функции эпителия и неполным удалением пораженных участков роговицы во время операции. Для предупреждения рецидивов рекомендуют во время сквозной кератопластики иссекать инфильтрат в пределах здоровых тканей [10], что у обследованных нами больных было трудно выполнимым из-за тотального поражения всей поверхности роговицы к моменту госпитализации.

Рост грибов на агаре Сабуро с хлорамфениколом (селективная среда для грибов) обнаружен

при исследовании 5 из 6 удаленных роговиц при первой кератопластике и еще в одном случае при рекератопластике. В посевах обнаружены грибы *Aspergillus spp.*, что соответствует литературным данным о ведущей роли нитчатых грибов при кератомикозах у носителей контактных линз.

Рост грибов при посеве 4 соскобов с роговицы не был обнаружен, в отличие от ПЦР, давшей положительные результаты в 2 исследованных соскобах. Отсутствие роста грибов на селективной среде при посеве соскобов может быть результатом предшествующей активной антигрибковой терапии, включая местную, значительно снижающей чувствительность культурального метода (и-за уменьшения количества жизнеспособных патогенов), но не влияющей на результаты ПЦР.

С этим, по-видимому, связаны и расхождения результатов посева и ПЦР при исследовании роговиц одного пациента, удаленных при первой и повторной кератопластике. В ПЦР в обоих случаях обнаружена ДНК *Fungi*, причем при культуральном исследовании вначале обнаружен рост нитчатых грибов, при рекератопластике — *C. tropicalis*. Отсутствие роста нитчатых грибов, вероятнее всего, обусловлено значительным снижением количества жизнеспособных возбудителей в роговице под влиянием проводимого специфического лечения (недостаточного, однако, для купирования заболевания), что не повлияло на результаты ПЦР. *C. tropicalis* — нормальный обитатель желудочно-кишечного тракта здоровых людей, который может быть случайно занесен в глаз пациентом при несоблюдении гигиенических норм.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Преимущество ПЦР как метода лабораторной диагностики в сравнении с культуральным исследованием заключается в скорости получения ответа и высокой чувствительности, позволяющей выявлять грибы у пациентов, которым ранее проводилась специфическая терапия. Несомненным достоинством использованной нами тест-системы является возможность в одной реакции охватить большое количество патогенных для глаз грибов и дифференцировать дрожжевые грибки *Candida albicans* от других возбудителей окулмикозов, что важно для первоначального выбора противогрибкового препарата еще до определения вида микроорганизма и его чувствительности к антибиотикам, требующего значительного времени.

## УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Кричевская Г.И. — разработка концепции и дизайна исследования, написание текста;  
Ковалева Л.А. — сбор и анализ клинических данных;  
Зюрняева И.Д. — проведение и анализ микробиологических исследований;  
Макаров П.В. — проведение сквозной кератопластики, сбор хирургического материала;  
Андрюшин А.Е. — постановка и анализ результатов ПЦР.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Jurkunas U., Behlau I., Colby K. Fungal keratitis: changing pathogens and risk factors. *Cornea*. 2009;28(6):638–643. DOI: 10.1097/ICO.0b013e318191695b
- Farell S., VcElnea E., Moran S., Knowles S., Murphy C.C. Fungal keratitis in the Republic of Ireland. *Eye*. 2017;31:1427–1434. DOI: 10.1038/eye.2017.82
- Скрябина Е.В., Астахов Ю.С., Коненкова Я.С., Касымов Ф.О., Зумбулидзе Н.Г., Варганова Т.С., Петухов В.П., Пиргунова А.А., Масян Я., Климо Н.Н., Богомолова Т.С., Десятки Е.А. Диагностика и лечение грибкового кератита. Часть I. *Офтальмологические ведомости*. 2018;11(3):63–73. [Skryabina Y.V., Astakhov Y.S., Konenkova Y.S., Kasymov Y.V., Zumbulidze N.G., Varganova T.S., Petukhov V.P., Pirgunova A.A., Masian J., Klimko N.N., Bogomolova T.S., Desyatki E.A. Diagnosis and treatment of fungal keratitis. Part I. *Ophthalmology Journal = Oftalmologicheskie vedomosti*. 2018;11(3):63–73 (In Russ.)] DOI: 10.17816/OV11363-73
- Keay L.J., Gower E.W., Lovieno A., Oechsler R.A., Alfonso E.C., Matoba A., Colby K., Tuli S.S., Hammersmith K., Cavanagh D., Lee S.M., Irvine J., Stulting R.D., Mauger T.F., Schein O.D. Clinical and microbiological characteristics of fungal keratitis in the United States, 2001–2007: a multicenter study. *Ophthalmology*. 2011 May;118(5):920–926. DOI: 10.1016/j.optha.2010.09.011
- Делягин В.М., Мельникова М.Б., Першин Б.С., Серик Г.И., Джандарова Т.Т. Грибковое поражение глаз (диагностика, лечение). *Практическая медицина*. 2015;2(87):100–105. [Delyagin V.M., Melnikova M.B., Pershin B.S., Serik G.I., Dzhandarova T.T. Fungal damage of eyes (diagnosis and treatment). *Practical medicine = Prakticheskaya meditsina*. 2015;2(87):100–105 (In Russ.)].
- Kaufmann C., Frueh B.E., Messerli J., Bernauer W., Thiel M.A. Contact lens-associated fusarium keratitis in Switzerland. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2008 May;225(5):418–421. DOI: 10.1055/s-2008-1027357
- Manikandan P., Abdel-Hadi A., Randhir Babu Singh Y., Revathi R., Anita R., Bana-was S., Bin Dukhyil A.A., Alshehri B., Shobana C.S., Panneer Selvam K., Narendran V. Fungal Keratitis: Epidemiology, Rapid Detection, and Antifungal Susceptibilities of *Fusarium* and *Aspergillus* Isolates from Corneal Scrapings. *Biomed Res Int*. 2019 Jan 20; 2019:6395840. DOI: 10.1155/2019/6395840. eCollection 2019
- Бельская К.И., Обрубов А.С. Некультуральные методы диагностики грибковых кератитов. *РМЖ «Клиническая Офтальмология»*. 2018;1:37–41. [Belskaya K.I., Obrubov A.S. Non-cultural diagnostic methods of fungal keratitis. *Russian Medical Journal. Clinical Ophthalmology = Rossijskiy medicinskiy zhurnal. Klinicheskaya oftalmologiya*. 2018;1:37–41 (In Russ.)].
- Mahmoudi S., Masoomi A., Ahmadikia K., Tabatabaei S.A., Soleimani M., Rezaie S., Ghahvechian H., Banafsheafshan A. Fungal keratitis: An overview of clinical and laboratory aspects. *Mycoses*. 2018 Dec;61(12):916–930. DOI: 10.1111/myc.12822
- Полтанова Т.И., Белоусова Н.Ю. Рецидив грибкового кератита в роговичном трансплантате. *Казанский медицинский журнал*. 2018;99(1):148–150. [Poltanova T.I., Belousova N.Yu. Recurrence of fungal keratitis in corneal transplant. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan medical journal*. 2018;99(1):148–150 (In Russ.)]. DOI: 10.17816/KMJ2018-1485
- Искендерли В.Б. Значимость этиологической структуры возбудителей в развитии и поддержании разных клинических форм офтальмомикозов. *Биомедицина*. 2018;2:10–12. [Iskenderli V.B. The importance of the etiological structure of causative agents in the development and maintenance of different clinical forms of ophthalmic mycosis living in Azerbaijan. *Biomedicine = Biomeditsina*. 2018;2:10–12 (In Russ.)].
- Maharana P.K., Sharma N., Nagpal R., Jhanji V., Das S., Vajpayee R.B. Recent advances in diagnosis and management of Mycotic Keratitis. *Indian J Ophthalmol*. 2016 May;64(5):346–357. DOI: 10.4103/0301-4738.185592
- Embong Z., Wan Hitam W.H., Yean C.Y., Rashid N.H., Kamarudin B., Abidin S.K., Osman S., Zainuddin Z.F., Ravichandran M. Specific detection of fungal pathogen by 18S rRNA gene PCR in microbial keratitis. *BMC Ophthalmol*. 2008;29(8):7. DOI: 10.1186/1471-2415-8-7
- Фоменко Н.В., Иванов М.К. Проблемы эффективного выявления возбудителей микозов слизистых урогенитального тракта. *Новости «Вектор-Бест»*. 2012;4(66):2–7. [Fomenko N.V., Ivanov M.K. The problem of efficient identification of causative agents of mycoses of the mucous membranes of the urogenital tract. *News «Vector-Best» = Novosti «Vektor-Best»* 2012;4(66):2–8 (In Russ.)].

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Кричевская Галина Исааковна  
кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии  
ул. Садовая-Черногрязская, 14/19, Москва, 105062, Российская Федерация  
<https://orcid.org/0000-0001-7052-3294>

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Ковалева Людмила Анатольевна  
научный сотрудник отдела вирусных и аллергических заболеваний глаз  
ул. Садовая-Черногрязская, 14/19, Москва, 105062, Российская Федерация  
<https://orcid.org/0000-0001-6239-9553>

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Зюрняева Ирина Дмитриевна  
врач-бактериолог вирусологической микробиологической лаборатории  
ул. Садовая-Черногрязская, 14/19, Москва, 105062, Российская Федерация

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Макаров Павел Васильевич  
доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела травматологии и реконструктивной хирургии  
ул. Садовая-Черногрязская, 14/19, Москва, 105062, Российская Федерация

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Андрюшин Александр Евгеньевич  
научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии  
ул. Садовая-Черногрязская, 14/19, Москва, 105062, Российская Федерация

## ABOUT THE AUTHORS

Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases  
Krichevskaya Galina I.  
PhD, leading researcher of immunology and virology department  
Sadovaya-Chernogriazskaya str., 14/19, Moscow, 105062, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0001-7052-3294>

Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases  
Kovaleva Lyudmila A.  
researcher of infectious and allergic eye diseases department  
Sadovaya-Chernogriazskaya str., 14/19, Moscow, 105062, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0001-6239-9553>

Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases  
Zurnyayeva Irina D.  
bacteriologist of virological and bacteriological laboratory  
Sadovaya-Chernogriazskaya str., 14/19, Moscow, 105062, Russian Federation

Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases  
Makarov Pavel V.  
MD, leading researcher of ocular trauma and reconstructive surgery department  
Sadovaya-Chernogriazskaya str., 14/19, Moscow, 105062, Russian Federation

Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases  
Andryushin Aleksandr E.  
researcher of immunology and virology department  
Sadovaya-Chernogriazskaya str., 14/19, Moscow, 105062, Russian Federation