

Le cheratiti micotiche



Pasquale Aragona, Giovanni William Oliverio***

**Direttore di Cattedra Dipartimento di Scienze Biomediche, UOC di Oftalmologia, Università degli Studi di Messina*

*** UOC di Oftalmologia, Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Messina*

Introduzione

Le cheratiti a eziologia micotica rappresentano una rara forma di cheratiti infettive, la cui diagnosi e trattamento rappresentano a tutt'oggi una complessa sfida per l'oftalmologo.

Ben note sono la maggiore virulenza di tali patogeni e il maggiore rischio di perforazione corneale, comparati ad altre forme di cheratite infettiva.¹

I più elevati tassi di incidenza si registrano nei paesi in via di sviluppo, in particolare nelle regioni a clima tropicale, laddove si riscontrano colture positive a miceti tra il 21-62% tra tutti i casi di cheratiti microbiche.²⁻³

In Italia e in tutti i paesi a clima temperato i tassi di incidenza sono nettamente inferiori, con colture positive per funghi nell'1-5% dei casi di cheratite infettiva. Nei più ampi studi epidemiologici fino ad ora effettuati è stata stimata un'incidenza variabile di 0,32-1,53 casi per milione di abitanti.⁴⁻⁵

In relazione agli agenti eziologici possiamo distinguere due forme cliniche distinte: Cheratiti da funghi filamentosi (*Fusarium* e *Aspergillus*) e cheratiti da lieviti (*Candida*).

Le cheratiti da funghi filamentosi sono molto comuni in regioni a clima tropicale, mentre nelle regioni a clima temperato sono prevalenti le infezioni sostenute da *Candida*.⁶

Tuttavia in diversi studi è stato dimostrato che lo spettro microbico negli ultimi anni sta mutando,

evidenziando un netto incremento delle cheratiti da *Fusarium* e funghi filamentosi anche nei paesi a clima temperato.⁷

I traumi oculari rappresentano il principale fattore di rischio per lo sviluppo di cheratiti micotiche, soprattutto nei paesi in via di sviluppo.

In Europa e negli Stati Uniti l'utilizzo di lenti a contatto, le patologie della superficie oculare, la chirurgia corneale, l'utilizzo prolungato di steroidi topici sono i fattori di rischio

predisponenti più comuni.

Esiste inoltre una correlazione tra agente eziologico e causa della cheratite fungina. È stato dimostrato come le cheratiti secondarie a trauma siano

più comunemente dovute ad *Aspergillus*, le forme secondarie a patologie della superficie oculare a *Candida* mentre il *Fusarium* prevale nelle forme secondarie a lenti a contatto.

Le alterazioni della superficie oculare consentono l'ingresso ai microrganismi negli strati corneali più profondi. Questa invasione innesca una reazione immunitaria, innata ed acquisita, che comporta i conseguenti danni cicatriziali e le opacità corneali. L'invasione dello stroma profondo può inoltre esitare in perforazione corneale, estensione alla camera anteriore e alla sclera dell'infezione; in tali casi l'eradicazione del microrganismo diviene drammaticamente difficile.

La diagnosi precoce resta pertanto un imperativo al fine di ridurre le sequele invalidanti di tali infezioni.

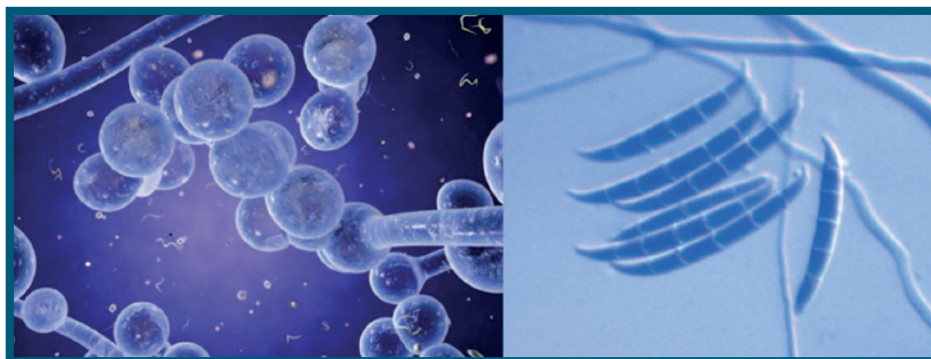


Fig. 1 - Esempio di lieviti e funghi filamentosi in coltura

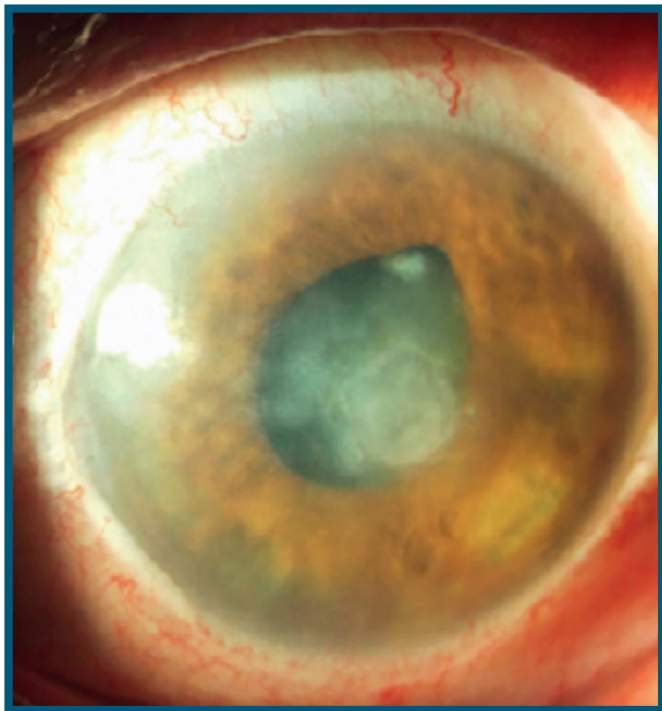


Fig. 2 - Immagine clinica alla lampada a fessura di cheratite fungina con ulcera e opacità satelliti.¹⁴

Sebbene rara, la patologia è particolarmente severa, richiedendo il trapianto di cornea nel 12-48% dei casi, e l'enucleazione nel 6% dei casi.⁸

Clinica e diagnosi

Una diagnosi precoce è fondamentale al fine di ottenere una completa guarigione o perlomeno limitare i danni.⁹

Una raccolta dettagliata della storia clinica e la ricerca meticolosa di fattori oculari e sistemici predisponenti sono di primaria importanza.

Il quadro sintomatologico è sovrapponibile ad altre forme di cheratiti microbiche, presentandosi con dolore, fotofobia, calo del visus. Spesso il paziente presenta una storia sintomatologica più subdola e lentamente progressiva, con inefficacia della terapia antibiotica precedentemente instaurata.

Una storia clinica di trauma oculare, in particolare con materiale di natura vegetale, o cheratopatia neurotrofica, erpetica, da esposizione, da dry eye, o l'uso cronico di lenti a contatto e di farmaci steroidei topici, devono essere attenzionati e possono avvalorare il sospetto di una infezione micotica.

È evidenziabile un quadro di forte infiammazione oculare e opacità della superficie corneale con un infiltrato stromale denso grigio-biancastro che può presentarsi ulcerato o rilevato. I margini della lesione possono essere arrotondati o irregolari e cotonosi con la presenza di pseudo-ife. Spesso gli infiltrati sono multipli, con

lesioni satellite, essendo questo un fattore diagnostico importante. Talora si può riscontrare un infiltrato ad anello, pieghe della Descemet e, nei casi più gravi, reazione in camera anteriore e ipopion.

In presenza di un quadro clinico sospetto è necessario effettuare un campionamento tissutale per l'esame microbiologico diretto e la coltura. Considerando la tendenza dei funghi alla crescita negli strati corneali profondi, un campionamento superficiale è in genere inadeguato. Pertanto lo scraping corneale con lama chirurgica o spatola in platino è raccomandabile per la raccolta del campione corneale da analizzare.

Un esame diretto con uno striscio a fresco su vetrino consente di ottenere rapide informazioni, e può essere effettuato con le colorazioni di Gram e Giemsa che permettono di riconoscere rispettivamente lieviti e ife. Meno comune invece l'impiego d'inchiostro di ossido di potassio, Latcophenol cotton blue e colorazioni con calcofluor white.

I principali terreni impiegati per l'isolamento dei funghi sono agar-sangue, agar-cioccolato o agar Sabouraud-destrosio. Nell'83% dei casi la crescita dei funghi avviene dopo 72 ore, ed entro una settimana nel 97%, potendo essere pertanto causa di ritardo diagnostico.¹⁰

Nessun terreno di coltura offre una sensibilità diagnostica del 100%, così una coltura negativa non permette di escludere la diagnosi.

L'anti-micogramma consente poi di valutare la sensibilità in vitro del patogeno isolato ai vari agenti antimicotici testati. È inoltre dimostrata la forte correlazione positiva tra un valore di MIC elevato e il rischio di perforazione.¹¹

La Polimerase chain reaction (PCR) è un test diagnostico rapido, sensibile e specifico per la diagnosi di cheratiti micotiche. In uno studio retrospettivo condotto su cheratiti micotiche nell'arco di 10 anni è stata evidenziata una sensibilità del 92.6%, con una diagnosi effettuabile tra 4 e 8 ore.¹²

La microscopia confocale è uno strumento diagnostico non invasivo che consente una diretta e rapida visualizzazione delle ife fungine.^{13,14}

In uno studio prospettico è stata stimata una specificità della microscopia confocale nella diagnosi di cheratiti micotiche del 93% e sensibilità dell'89%.¹⁵

I limiti di questa metodica sono essenzialmente gli alti costi e la limitata diffusione, oltre che essere operatore dipendente.

Trattamento medico e chirurgico

Gli anti-micotici sono i farmaci di scelta per il trattamento delle cheratiti fungine, cui spesso si abbinano

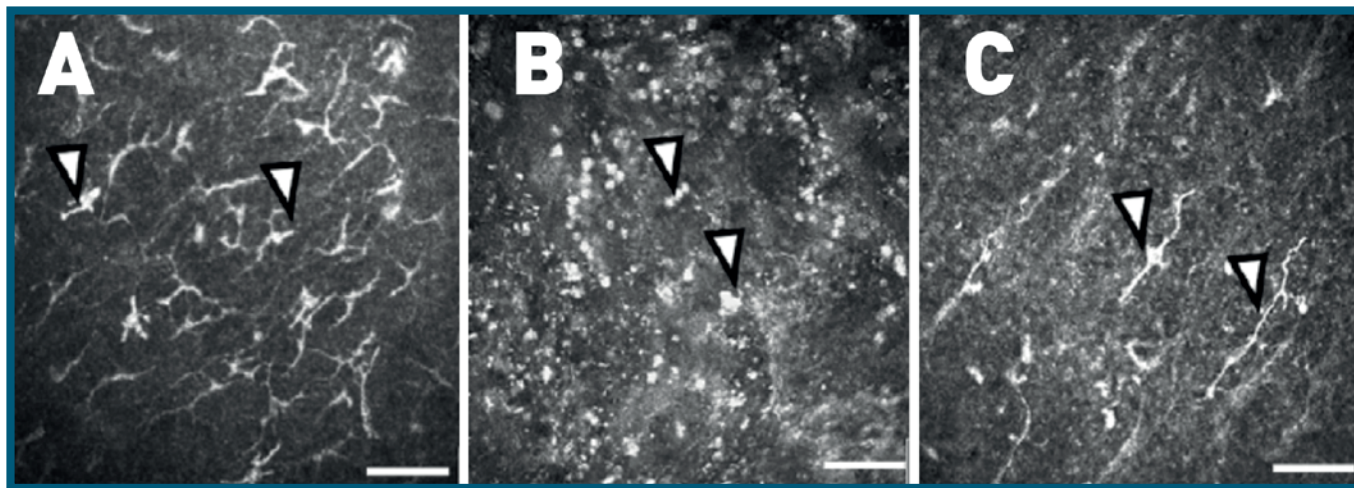


Fig. 3 - Aspetti di microscopia confocale nelle cheratiti micotiche: A, infiltrato di cellule infiammatorie grandi ($\approx 50 \mu\text{m}$), di aspetto dendritiforme con corpo sottile e allungato e fibre sottili e lunghe (freccie). Non segni di infiltrazione epiteliale; B, infiltrazione polimorfa di cellule rotonde (freccie); C, infiltrato di cellule infiammatorie dendritiformi giganti ($\approx 100 \mu\text{m}$), di aspetto dendritiforme con corpo allungato e sottile e filamenti sottili e corti.¹⁴

antibiotici topici per il controllo delle sovra-infezioni batteriche, oltre che colliri ad azione cicloplegica.

I farmaci antimicotici sono essenzialmente classificati in quattro gruppi: polieni, imidazoli, triazoli e pirimidine fluorinate. Tali farmaci trovano impiego per uso topico, orale o intravenoso. Maggiormente impiegati per uso topico sono la Natamicina 5% e l'Amfotericina B 0,15%. Tra i farmaci di nuova generazione ritroviamo invece il Voriconazolo 1%.¹⁶ In alcuni studi è stata inoltre validata l'efficacia della Clorexidina per uso topico.¹⁷

È bene ricordare i potenziali effetti tossici dei colliri antimicotici topici, quali: cheratite puntata, erosioni epiteliali recidivanti, chemosi ed iperemia congiuntivale.

La scelta iniziale del farmaco antifungino deve tenere in considerazione i risultati ottenuti all'esame microscopico diretto, i dati clinici, e l'esame colturale, e se questi permettono di orientare la diagnosi verso una infezione da funghi filamentosi o sostenuta da lieviti. In presenza di funghi filamentosi la Natamicina 5% rappresenta attualmente il farmaco di scelta, in presenza di lieviti sono invece da considerare l'Amfotericina B 0,15% e il Voriconazolo 1%.¹⁸

Dobbiamo quindi distinguere un trattamento medico non specifico con farmaci anti-micotici ad ampio spettro, e un trattamento anti-micotico mirato.

Una volta identificato il patogeno attraverso l'esame colturale il regime terapeutico può essere eventualmente modificato, tenendo in considerazione i dati relativi alla sensibilità del patogeno verso i vari agenti anti-micotici.

La Natamicina 5% è a tutt'oggi l'antimicotico per uso topico più impiegato.

È infatti l'unico antimicotico topico di cui, in alcuni paesi, è disponibile (Italia non compresa) una preparazione commerciale (Natacyl 5%, Alcon®). Non esiste una preparazione di Natamicina orale.

Per le cheratiti sostenute da *Fusarium* e *Aspergillus* rappresenta il farmaco di prima scelta. Tuttavia è limitato da una scarsa penetrabilità verso lo stroma profondo.¹⁹ Nelle ulcere corneali profonde è necessario pertanto effettuare un trattamento adiuvante aggiuntivo, eventualmente per via sottocongiuntivale, orale o intravenosa.²⁰

Il Voriconazolo 1% è un triazolo di nuova generazione. Ha acquisito popolarità soprattutto per la sua capacità di penetrare nel tessuto stromale profondo, e per lo spettro d'azione capace di coprire le specie di *Candida* oltre che gli agenti filamentosi.

Lo studio MUTT I è un trial clinico randomizzato in doppio cieco, che ha confrontato l'efficacia di Natamicina 5% e Voriconazolo 1% nel trattamento delle ulcere fungine, su 323 pazienti. I risultati di questo studio dimostrano migliori benefici nel gruppo trattato con Natamicina in termini sia di acuità visiva sia per il ridotto rischio di perforazione.²¹

Tali risultati sono stati inoltre confermati in un secondo ampio trial clinico, oltre che da una recente review della Cochrane.^{22,23}

La superiorità della Natamicina 5% risulta maggiormente evidente nel trattamento delle forme da *Fusarium*. Tuttavia il Voriconazolo 1% potrebbe rappresentare un farmaco di prima scelta in pazienti ad alto rischio di infezioni da *Candida*, sebbene in associazione a farmaci che offrano una valida copertura verso altre specie micotiche.²⁴

La Amfotericina B appartiene alla classe dei polieni, attiva contro le specie di *Candida* e *Aspergillus*. Offre però una scarsa copertura verso lo spettro dei funghi filamentosi. Inoltre è ben noto il suo alto profilo di tossicità corneale, causando erosioni epiteliali puntate e occasionalmente una colorazione verdastra della cornea. Per tali ragioni la Amfotericina B 0,15% non rappresenta un farmaco di prima scelta laddove siano disponibili altri agenti anti-micotici maggiormente efficaci.²⁴ Sia Anfotericina B 0,15%, che Voriconazolo 1% non esistono in formulazione di collirio commerciale, devono quindi essere preparati appositamente in forma galenica (nel paragrafo successivo si riportano le indicazioni per la preparazione).

Per quanto riguarda i trattamenti sistemici disponibili ritroviamo il Voriconazolo per via orale. Il rationale di un trattamento sistemico è quello di ottenere una concentrazione di farmaco nello stroma corneale e nell'umore acqueo costante.²⁵

Il trial clinico MUTT II ha valutato l'efficacia del trattamento adiuvante con Voriconazolo orale, non dimostrando nessun vantaggio rispetto al placebo sia per il rischio di perforazione, che in termini di acuità visiva. Tuttavia è stato dimostrato un vantaggio nel sottogruppo delle ulcere da *Fusarium*.²⁶

Tra le altre tipologie di trattamento adiuvante, la somministrazione sottocongiuntivale di Voriconazolo, ha dimostrato un potenziamento nel trattamento delle ulcere profonde trattate in aggiunta alla Natamicina 5% topica.²⁷

L'iniezione intracamerulare di Amfotericina B può essere impiegata in aggiunta al drenaggio dell'ipopion.²⁸

L'impiego endovenoso di Amfotericina B è invece limitato dalla elevata tossicità dose dipendente, (soprattutto nefrotossicità).

Il trattamento chirurgico è necessario nelle forme di cheratite micotica scarsamente sensibili alla terapia medica o laddove vi sia un descemetocèle con rischio di imminente perforazione corneale. L'obiettivo di un trattamento chirurgico è quello di eliminare gli elementi infettanti e ridurre la reazione immunologica contro questi oltre che la rimozione dei tessuti necrotici.

I trattamenti chirurgici impiegati per le ulcere piccole e superficiali prevedono il debridement dei tessuti infetti, la cheratectomia superficiale e la tarsoraffia. In presenza di lesioni severe a rischio di complicanze maggiori sono necessari interventi di ricoprimento congiuntivale o la cheratoplastica perforante se gli agenti responsabili non recedono sotto terapia.²⁹

Il Cross-Linking corneale (CXL) grazie all'attivazione fotochimica della riboflavina, consente la formazione di ponti collagene, rinforzando così le lamelle stromali. Tale trattamento può avere una propria valenza nelle cheratiti infettive grazie sia all'azione anti-microbica diretta, che al rafforzamento dei tessuti corneali contro la degradazione enzimatica. Esistono numerose evidenze in letteratura che supportano l'impiego del CXL nel trattamento delle cheratiti da funghi filamentosi.^{30,31}

Tuttavia gli studi in vitro non hanno dimostrato la capacità del solo CXL di inattivare i miceti. Solo uno studio che combinava CXL e Amfotericina B, ha dimostrato un'inattivazione in vitro dei funghi.³²

Preparazione galenica di colliri antimicotici:

Voriconazolo 1%

Metodo: 200 mg di Voriconazolo in polvere (preparazione per uso parenterale) vengono disciolti in 20 ml di soluzione fisiologica in modo da ottenere 20 ml di Voriconazolo a concentrazione di 10 mg/ml.

Conservazione: La preparazione deve essere conservata a temperatura di 4°C e prima di ogni instillazione deve essere accuratamente agitata.

Amfotericina B 0,15%

Metodo: 50 mg di Amfotericina B in polvere (preparazione per uso parenterale) vengono disciolti in 20 ml di soluzione fisiologica sterile. Da tale preparazione si prelevano 3 ml che vengono aggiunti a 7 ml di collirio già pronto (tipo lacrime artificiali).

Conservazione: La preparazione non deve essere esposta alla luce. È necessaria una periodica ispezione della preparazione in quanto eventuali torbidità sono segno di contaminazione o precipitazione della stessa. ■

BIBLIOGRAFIA

1. Wong TY, Ng TP, Fong KS, Tan DT. Risk factors and clinical outcomes between fungal and bacterial keratitis: a comparative study. *CLAO J*. 1997;23:275-81.
2. Bharathi MJ, Ramakrishnan R, Meenakshi R, Padmavathy S, Shivakumar C, Srinivasan M. Microbial keratitis in South India: influence of risk factors, climate, and geographical variation. *Ophthalmic Epidemiol*. 2007;14:61-9.
3. Gopinathan U, Garg P, Fernandes M, Sharma S, Athmanathan S, Rao GN. The epidemiological features and laboratory results of fungal keratitis: a 10-year review at a referral eye care center in South India. *Cornea* 2002; 21(6): 555-559
4. Farrell S, McElnea E, Moran S, Knowles S, Murphy CC. Fungal keratitis in the Republic of Ireland. *Eye (Lond)*. 2017;31(10):1427-1434. doi:10.1038/eye.2017.82
5. Tuft SJ, Tullo AB. Prospective study of fungal keratitis in the United Kingdom 2003-2005. *Eye (Lond)* 2009; 23: 308-313.
6. Rogers GM, Goins KM, Sutphin JE, Kitzmann AS, Wagoner MD. Outcomes of treatment of fungal keratitis at the University of Iowa Hospitals and Clinics: a 10-year retrospective analysis. *Cornea* 2013; 32(8): 1131-1136
7. Ong HS, Fung SS, Macleod D, Dart JK, Tuft SJ, Burton MJ. Altered patterns of fungal keratitis at a London Ophthalmic Referral Hospital: an Eight-Year Retrospective Observational Study. *Am J Ophthalmol* 2016; 168: 227-236.
8. Sharma S. Diagnosis of fungal keratitis: current options. *Expert Opin Med Diagn*. 2012;6:449-55.
9. Galarreta DJ, Tuft SJ, Ramsay A, Dart JK. Fungal keratitis in London: microbiological and clinical evaluation. *Cornea* 2007; 26(9): 1082-1086.
10. McGinnis M. *Laboratory handbook of medical mycology*. New York: Academic Press; 1980.
11. Lalitha P, Prajna NV, Oldenburg CE, Srinivasan M, Krishnan T, Mascarenhas J, Vaitilingam CM, McLeod SD, Zegans ME, Porco TC, Acharya NR, Lietman TM. Organism, minimum inhibitory concentration, and outcome in a fungal corneal ulcer clinical trial. *Cornea* 2012; 31: 662-667.
12. Ferrer C, Alio JL. Evaluation of molecular diagnosis in fungal keratitis. Ten years of experience. *Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection*. 2011;1:15-22.
13. Erie JC, McLaren JW, Patel SV. Confocal microscopy in ophthalmology. *Am J Ophthalmol*. 2009;148:639-46.
14. Smedowski A, Tarnawska D, Orski M, Wroblewska-Czajka E, Kaarniranta K, Aragona P and Wylegala E. Cytoarchitecture of epithelial inflammatory infiltration indicates the aetiology of infectious keratitis. *Acta Ophthalmol* 2017;95(4):405-413. doi: 10.1111/aos.13363.
15. Vaddavalli PK, Garg P, Sharma S, Sangwan VS, Rao GN, Thomas R. Role of confocal microscopy in the diagnosis of fungal and acanthamoeba keratitis. *Ophthalmology*. 2011;118:29-35.
16. Galarreta DJ, Tuft SJ, Ramsay A, Dart JK. Fungal keratitis in London: microbiological and clinical evaluation. *Cornea* 2007;26(9):1082-6.
17. Martin MJ, Rahman MR, Johnson GJ, Srinivasan M, Clayton YM. Mycotic keratitis: susceptibility to antiseptic agents. *International Ophthalmology* 1996;19(5):299-302.
18. Thomas PA, Kaliyamurthy J. Mycotic keratitis: epidemiology, diagnosis and management. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Mar;19(3):210-20. doi:10.1111/1469-0691.12126. Epub 2013 Feb 9. Review. PubMed PMID: 23398543.
19. O'Day DM, Head WS, Robinson RD, Clanton JA. Corneal penetration of topical amphotericin B and natamycin. *Curr Eye Res*. 1986;5:877-882.
20. Tanure MA, Cohen EJ, Sudesh S, Rapuano CJ, Laibson PR. Spectrum of fungal keratitis at Wills Eye Hospital, Philadelphia, Pennsylvania. *Cornea*. 2000;19:307-12.
21. Prajna NV, Krishnan T, Mascarenhas J, et al. The mycotic ulcer treatment trial: a randomized trial comparing natamycin vs. voriconazole. *JAMA Ophthalmol*. 2013;131:422-429.
22. Sharma S, Das S, Virdi A, et al. Re-appraisal of topical 1% voriconazole and 5% natamycin in the treatment of fungal keratitis in a randomized trial. *Br J Ophthalmol*. 2015;99:1190-1195.
23. FlorCruz NV, Evans JR. Medical interventions for fungal keratitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015:CD004241.
24. Ansari Z, Miller D, Galor A. Current Thoughts in Fungal Keratitis: Diagnosis and Treatment. *Curr Fungal Infect Rep*. 2013 Sep 1;7(3):209-218.
25. Thiel MA, Zinkernagel AS, Burhenne J, et al. Voriconazole concentration in human aqueous humor and plasma during topical or combined topical and systemic administration for fungal keratitis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:239-244.
26. Prajna NV, Krishnan T, Rajaraman R, et al. Effect of oral voriconazole on fungal keratitis in the Mycotic Ulcer Treatment Trial II (MUTT II): a randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmol*. 2016;134:1365-1372.
27. Kalaiselvi G, Narayana S, Krishnan T, Sengupta S. Intrastromal voriconazole for deep recalcitrant fungal keratitis: a case series. *Br J Ophthalmol*. 2015;99:195-198.
28. Yoon KC, Jeong IY, Im SK, et al. Therapeutic effect of intracameral amphotericin B injection in the treatment of fungal keratitis. *Cornea*. 2007;26:814-818.
29. Thomas PA, Kaliyamurthy J. Mycotic keratitis: epidemiology, diagnosis and management. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Mar;19(3):210-20. doi: 10.1111/1469-0691.12126. Epub 2013 Feb 9.
30. Martins SA, Combs JC, Noguera G, et al. Antimicrobial efficacy of riboflavin/UVA combination (365 nm) in vitro for bacterial and fungal isolates: a potential new treatment for infectious keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49: 3402-3408.
31. Panda A, Krishna SN, Kumar S. Photo-activated riboflavin therapy of refractory corneal ulcers. *Cornea*. 2012;31: 1210-1213.
32. Sauer A, Letscher-Bru V, Speeg-Schatz C, et al. In vitro efficacy of anti-fungal treatment using riboflavin/UV-A (365nm) combination and amphotericin B. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:3950-3953.