

Grzybicze zapalenie rogówki u koni

Paulina Landsberg

ze Szpitala Koni Służewiec w Warszawie

Grzybicze zapalenie rogówki jest poważnym zagrożeniem dla gałki ocznej i wzroku. Występuje u koni częściej niż u innych gatunków zwierząt domowych. Wynika to ze środowiska bytowania obfitującego w grzyby pleśniowe, dużej, narażonej na urazy gałki ocznej (1, 2, 3, 4, 5) oraz prawdopodobnie właściwości immunologicznych rogówki koni (1, 3, 4, 5). Najczęściej izolowanymi grzybami w przypadkach zakażeń rogówki są grzyby strzępkowe

z rodzajów *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp, *Penicillium* spp, *Alternaria* spp. i *Cladosporium* spp. (4). Wpływ na częstotliwość występowania zakażeń grzybiczych ma klimat – im bardziej wilgotno i ciepło, tym więcej notowanych przypadków (6). Grzybicze zapalenie rogówki można podejrzewać szczególnie w przypadku roślinnych ciał obcych w rogówce i u koni poddanych długotrwałemu leczeniu miejscowemu oka kortykosteroidami lub antybiotykami (1, 2, 6, 7).

Equine keratomycosis

Landsberg P., Equine Clinic Służewiec, Warsaw

The aim of this paper is to review important aspects of equine keratomycosis with a focus on new treatment methods. Keratomycosis is a fungal disease of the cornea and usually conjunctiva. Occurs mainly in horses and is introduced by foreign bodies. Fungal keratitis is potentially devastating eye disease in horses and probably one of the most under-diagnosed. Historically, it was believed to be a clinical problem in warm and humid climate. Currently, it is considered an important corneal disease in horses also under moderate climate conditions.

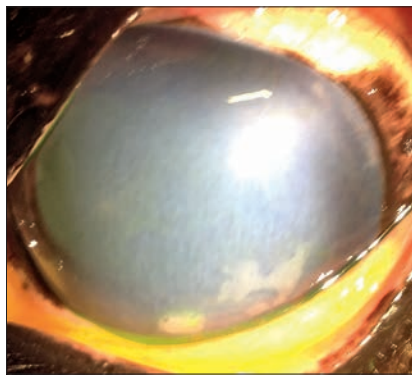
Keywords: keratomycosis, horse, treatment.



Ryc. 1. Powierzchnowe grzybicze zapalenie rogówki z towarzyszącym silnym zapaleniem błony naczyniowej. Widoczny ropostek (*hypopyon*), źrenica częściowo rozszerzona po kilkukrotnym podaniu atropiny

Zakażenia grzybicze rogówki mogą przebiegać w różnych postaciach i umiejscawiać się w różnych warstwach rogówki jako: wrzód rogówki, ropień zrębu lub wypadnięcie tęczęwki (1, 4, 5, 7). Grzybiczy wrzód rogówki (**ryc. 1**) może sięgać różnej głębokości i przebiegać z rozmiękaniami lub bez rozmiękania zrębu. Czasami zmiany przybierają wygląd płytki grzybiczej (*fungal plaque*; **ryc. 2, 3**), lukru (*cake frosting*) lub są otoczone bruzdami (*furrow*) wynikającymi z utraty zrębu (6). Zmiany te mogą sugerować istnienie grzybiczego podłoża zakażenia, choć nie są podstawą do rozpoznania. Powierzchnowe grzybicze punkcikowate zapalenie rogówki (**ryc. 4**) często przebiega bez towarzyszącego zapalenia błony naczyniowej oka (6, 8). Zmiany barwią się różem bengalskim lub bledo fluoresceiną. Objawy kliniczne są podobne, jak w zakażeniach herpeswirusowych i punkcikowym zapaleniu rogówki na tle immunologicznym (8). Ropień zrębu rogówki powstaje w wyniku uwięźnięcia materiału zakaźnego w rogówce po reepitelializacji ubytku, przez który wniknął (9, 10, 11). Nawet ok. 50% przypadków głębokich ropni zrębu rogówki może być wywołane przez grzyby (10). Wypadnięcie tęczęwki spowodowane jest przez penetrujący wrzód rogówki lub przez ciało obce.

Kolonizację rogówki przez grzyby, rozpoczynającą się ich przyleganiem do powierzchni nabłonka, ułatwiają zaburzenia filmu łzowego, z uszkodzeniem lub bez uszkodzenia nabłonka (5, 7). Zakażeniami może towarzyszyć rozmiękanie rogówki (*keratomalacja*) wywołane przez enzymy proteolityczne uwalniane przez naciekające neutrofile i keratocyty lub czasem samą grzybnie lub bakterie (1, 7). Grzyby o dużym potencjale patogenności mogą przenikać w głąb rogówki, nawet do komory przedniej, wywołując objawy zapalenia wszystkich struktur gałki ocznej (*panophthalmitis*; 1, 7). Zazwyczaj



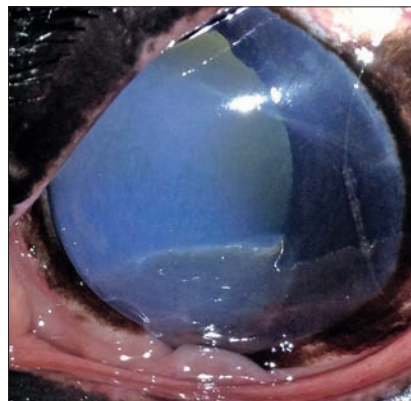
Ryc. 2. Płytkę grzybiczą u konia po długotrwałym miejscowym leczeniu kortykosteroidami z powodu nawracającego zapalenia jagodówki

zakażeniami grzybiczymi towarzyszy silne zapalenie błony naczyniowej, choć na przykład w wielu przypadkach powierzchownego grzybiczego punkcikowego zapalenia rogówki może ono nie występować (8). Zapalenie błony naczyniowej objawia się zaciśnięciem źrenicy (*miosis*), wysiękiem w przedniej komorze oka (wystąpienie efektu Tyndalla), obniżeniem ciśnienia śródgałkowego i kurczem powiek (*blepharospasmus*). Często obserwuje się intensywne wrastanie naczyń krwionośnych w rogówkę od strony jej rąbka w okolicy zmian. Niektóre gatunki grzybów mogą jednak wytwarzać czynniki ograniczające angiogenezę (10). Mieszane zakażenia grzybiczo-bakteryjne nie są rzadkością, więc pozytywny wynik badania bakteriologicznego nie wyklucza obecności czynnika grzybiczego.

Rozpoznawanie

Podstawą rozpoznawania jest badanie cytologiczne, które szybko daje wiarygodne wyniki. Należy pobrać zeszkobinę z obrzeża i środka zmiany za pomocą szpatuły Kimury, obsadowego (tępego) końca skalpela lub cytoszczoteczki (np. cytobrush), a pobraną zeszkobinę delikatnie rozproszyc na czystym szkiełku i pozostawić do wyschnięcia (nie ma potrzeby stosowania utrwalaczy). Wymaz można przesłać do laboratorium lub zbarwić samemu metodą Diff-Quick lub Wrighta–Giemsa (3, 12). Wykazanie już kilku strzępek uznaje się za diagnostycznie istotne (6).

Wartościowe jest również badanie hodowlane, ale na wyniki trzeba długo czekać, a wykonanie antybiogramu dla wyhodowanych grzybów nie zawsze jest dostępne. Pobranie materiału do badania mikologicznego, o ile jest to tolerowane przez pacjenta, powinno być wykonane przed zastosowaniem znieczulenia miejscowego. Jeśli jest to niemożliwe, należy użyć proksymetainy w kroplach do oczu (np. Alcaïne). Materiał do badania



Ryc. 3. Koń z ryc. 2 po keratektomii powierzchniowej



Ryc. 4. Punkcikowate grzybicze zapalenie rogówki

można pobrać za pomocą suchej sterylnej wymazówki lub użyć materiału pozyskanego podczas pobierania zeszkobiny. Równolegle z diagnostyką w kierunku zakażenia grzybiczego należy przeprowadzić badanie bakteriologiczne wymazu z rogówki.

Badanie histopatologiczne jest również wartościowe w procesie diagnostycznym, ale pobranie wycinka do badania wiąże się z większym uszkodzeniem rogówki i zazwyczaj ma miejsce podczas zabiegu chirurgicznego usunięcia zmiany, np. keratektomii powierzchniowej.

Leczenie

Powodzenie leczenia zależy od szybko podjętego i agresywnego leczenia farmakologicznego i nierzadko chirurgicznego (3, 4, 6). Leczenie jest zazwyczaj długotrwałe. Czas farmakoterapii w zakażeniach grzybiczych u koni wynosi kilka tygodni, a nawet miesięcy (1). W początkowym okresie terapii masowy rozpad komórek grzybiczych może powodować bardzo silną reakcję zapalną ze strony błony naczyniowej, stąd niektórzy zalecają początkowo mniejszą częstotliwość podawania leków przeciugrzybiczych – przez pierwsze 2–3 dni, 2–3 razy na dobę. Należy jednak każdorazowo rozważyć potencjalne ryzyko uszkodzenia zbyt małego stężenia terapeutycznego leków w początkowym okresie leczenia przy zastosowaniu tego protokołu leczniczego (6). Następnie leki podaje się



Ryc. 5. Pacjent z założonym zestawem do podpowiekowego podawania leków w górnej powiece. Zestaw może być również założony pod powiekę dolną

6 razy na dobę lub częściej (3, 7). Zastosowanie zestawu do podpowiekowego podawania leków znacząco ułatwia prowadzenie terapii (ryc. 5)

Ogólne leczenie przeciwgrzybicze stosuje się rzadko ze względu na koszty i ewentualną toksyczność. Do podawania ogólnego nadają się flukonazol, worykonazol i itraconazol (3, 6). Najczęściej stosuje się intensywne miejscowe leczenie przeciwgrzybicze lekami z grupy azoli lub polienów. Przy doborze leków trzeba brać pod uwagę właściwości farmakokinetyczne leków i ich możliwość penetracji przez nabłonek rogówki. Dużym problemem jest brak na rynku preparatów okulistycznych.

Azole: mikonazol, flukonazol, worykonazol oraz itraconazol dobrze penetrują także przez przylegający nabłonek rogówki. Flukonazol ma ograniczoną skuteczność wobec większości izolatów pozyskiwanych w przypadkach grzybiczych zakażeń rogówki u koni (13). Obecnie lekiem z wyboru w empirycznym leczeniu staje się worykonazol (12, 13). Nie ma niestety na rynku preparatu oftalmologicznego, stosuje się 1% roztwór worykonazolu przygotowany z leku iniekcyjnego (Vfend). Jego przydatność kliniczną może ograniczać stosunkowo wysoka cena. Worykonazol może być także zastosowany w formie iniekcji podspojówkowych (9, 12) co 24–48 h. Technika iniekcji podspojówkowej jest stosunkowo prosta: wykonuje się ją pod spojówkę gałkową, po uprzednim odpowiednim unieruchomieniu konia za pomocą sedacji i ewentualnie dutki oraz zazwyczaj po zastosowaniu znieczulenia nerwu uszno-powiekowego i nadoczodołowego. Powierzchnię rogówki i spojówki znieczuliła się miejscowo kroplami (proksymetainą), a następnie w miejscu planowanej iniekcji znieczuliła się dodatkowo spojówkę poprzez przyłożenie wacika nasączonego środkiem miejscowo znieczulającym.

Spojówkę gałkową unosi się odpowiednim narzędziem (np. pęseta Bishop – Harmon), tak aby powstał „namiocik”, w który wkłupa się igłę 25 lub 27G poziomo w stosunku do gałki ocznej (5, 6). Po prawidłowo wykonanej iniekcji powinien pozostać bąbelek z płynem pod spojówką gałkową. Przy właściwej technice jedynym powikłaniem może być krwawienie podspojówkowe. Nie obserwowano podrażnień po podspojówkowym podaniu worykonazolu (9, 12).

Jedną z najnowszych technik z pogranicza farmakoterapii i chirurgii jest śród-rogówkowa iniekcja worykonazolu w stężeniu od 1 do 5%, w ilości 0,2–0,5 ml (9, 10, 14). W opisywanych przypadkach iniekcję wykonywano w znieczuleniu ogólnym (9) lub na koniu stojącym, w głębokiej sedacji i z miejscowym znieczuleniem rogówki, po zastosowaniu bloku zagałkowego (14) albo jedynie po znieczuleniu nerwu nadoczodołowego i uszno-powiekowego (8). Metoda ta może być szczególnie cenną alternatywą dla leczenia chirurgicznego w przypadku głębokich ropni zrębu rogówki (9, 10, 14).

Itraconazol może być stosowany w leczeniu okulistycznym miejscowo w postaci 1% roztworu w 30% dimetylosulfotlenku (maść do przygotowania) i w takiej postaci jest dobrze tolerowany (2, 3, 6).

Echinokandyyny są nową grupą leków przeciwgrzybiczych. Opisano skuteczne leczenie miejscowe lekiem Kaspofungina 0,5% (Cancidas) w przypadku grzybiczego zapalenia rogówki u konia wywołanego przez *Aspergillus flavus* (13). U pacjenta nie obserwowano pozytywnych efektów leczenia m.in. worykonazolem, mimo iż izolat był na niego wrażliwy. Poprawę kliniczną zaobserwowano dopiero po zastosowaniu Kaspofunginy, dla której *in vitro* wykazano znacznie niższe stężenie hamujące wzrost wyizolowanego grzyba (0,06 mcg/ml), niż dla worykonazolu (0,5 mcg/ml). Lek ten może

być alternatywą w terapii trudno leczących się grzybiczych zakażeń rogówki, przeszkodą w jego stosowaniu jest obecnie wysoka cena. Kaspofungina nie jest skuteczna przeciwko grzybom z rodzaju *Fusarium* (13).

Polieny są lekami często stosowanymi w leczeniu zakażeń grzybiczych, mają stosunkowo szerokie spektrum działania. Natamycyna nie penetruje w głąb rogówki pokrytej nabłonkiem, może być stosowana przy istniejącym wrzodzie, po usunięciu nabłonka znad zmiany lub po keratektomii (2, 3). Istnieją na rynku gotowe leki okulistyczne (5% maść – Infecatomyk), niestety niedostępne w Polsce. Amfoterycyna B ma podobne właściwości farmakokinetyczne co natamycyna, ale ze względu na mniejsze bezpieczeństwo stosowania i węższe spektrum działania jest stosowana rzadziej (2, 3, 6)

Spośród innych leków 2% roztwór jodopowidonu (Betadine) bywa stosowany w przypadkach, gdy inne leczenie jest nieosiągalne ze względów finansowych (3).

Jednocześnie z leczeniem przeciwgrzybiczym prowadzi się intensywne leczenie towarzyszącego w większości przypadków zapalenia błony naczyniowej. Zazwyczaj stosowanymi ogólnie niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi są fluniksyna i fenylobutazon. Stosowanie miejscowe leków przeciwzapalnych jest przeciwwskazane. Atropina jest podawana do oka z częstotliwością niezbędną do wywołania efektu rozszerzenia źrenicy (1, 3, 6, 9, 10). Łatwość opanowania zapalenia błony naczyniowej jest do pewnego stopnia wskaźnikiem skuteczności leczenia.

Miejscowa antybiotykoterapia jest stosowana osłonowo, nawet przy ujemnym wyniku badań bakteriologicznych.

W zapobieganiu i leczeniu towarzyszącego rozmiękania rogówki stosuje się miejscowo inhibitory proteaz. Najczęściej stosowanym i łatwym do pozyskania jest własna surowica pacjenta. Poza



Ryc. 6. Przeprowadzanie keratektomii powierzchniowej

tym można również stosować miejscowo wersenian sodu (EDTA) i N-acetylocysteinę lub doustnie doksycylinę (2, 6).

W wielu przypadkach konieczne jest skojarzone leczenie farmakologiczne i chirurgiczne. Wskazaniami do leczenia chirurgicznego są wszystkie przypadki wypadnięcia tęczówki (perforacji rogówki), brak poprawy lub pogorszenie, mimo leczenia farmakologicznego, wrzody głębsze niż 1/3 grubości rogówki oraz większość przypadków głębokich ropni zrębu rogówki (1, 6, 7). Obiecującą alternatywą dla bardziej agresywnych metod chirurgicznych w przypadku ropni zrębu wydaje się być śródrogówkowa iniekcja worykonazolu (9, 10, 14).

Keratektomia powierzchniowa (ryc. 6) polega na chirurgicznym usunięciu nabłonka i powierzchniowej warstwy zrębu rogówki (6). Wymaga podstawowego instrumentarium mikrochirurgicznego i powiększenia (lupa lub mikroskop okulistyczny). Zwykle wykonywana jest w znieczuleniu ogólnym, ale czasem także na stojącym koniu, po zastosowaniu bloku zagałkowego. Po keratektomii może zostać naszyty przeszczep spojówkowy lub z błony owodniowej.

Penetrująca keratoplastyka pełnej grubości rogówki (PK) jest stosowana w przypadkach penetrujących wrzodów rogówki oraz głębokich ropni zrębu. Po usunięciu zmian wraz z pełną grubością rogówki wszynany jest świeży lub mrożony przeszczep pozyskany od martwego dawcy (6).

Keratoplastyka warstwowa tylna (posterior lamellar keratoplasty – PLK) i głęboka keratoplastyka warstwowa endothelialna (deep lamellar endothelial keratoplasty – DLEK) są metodami chirurgicznymi polegającymi na usunięciu głęboko położonych zmian wraz z tylną warstwą rogówki z zastosowaniem przeszczepu rogówki. Wierzchnia warstwa rogówki pacjenta jest nacinana wzdłuż rąbka i unoszona. Zmiana obejmująca tylną część rogówki jest usuwana. W miejsce ubytku jest wszynany przeszczep allogeniczny, składający się z tylnej warstwy rogówki dawcy, a następnie przyszywana jest wniesiona wcześniej wierzchnia warstwa rogówki (6).

W przypadku niepowodzenia leczenia lub gdy leczenie jest zbyt kosztowne i potencjalnie mało skuteczne konieczna bywa enukleacja.

Grzybicze zapalenie rogówki jest coraz częściej rozpoznawane i leczone, także w krajach o klimacie umiarkowanym. Leczenie jest zazwyczaj długotrwałe i kosztowne, ale wczesne postawienie diagnozy i intensywne leczenie farmakologiczne, a często także chirurgiczne dają szansę na pozytywne rezultaty, w postaci zachowania gałki ocznej i wzroku konia (1).

Piśmiennictwo

- Andrew S.E., Brooks D.E., Smith P.J., Gelat K.N., Chmielewski N.T., Whitaker C.J.G.: Equine ulcerative keratomycosis: Visual outcome and ocular survival in 39 cases (1987–1996). *Equine Vet. J.* 1998, **30**, 109–116.
- Clode A.B.: Therapy of equine infectious keratitis: A review. *Equine Vet. J.* 2010, Suppl. **37**, 19–23.
- Matthews A.G.: Ophthalmic antimicrobial therapy in the horse. *Equine Vet. Educ.* 2009, **21**, 271–280.
- Galan A., Martin-Suarez E.M., Gallardo J.M., Molleda J.M.: Clinical findings and progression of 10 cases of equine ulcerative keratomycosis (2004–2007). *Equine Vet. Educ.* 2009, **21**, 236–242.
- Matthews A.: What's new in equine corneal disease? *Advance Equine Ophthalmology Course notes*, BEVA, 2012.
- Gilger B. C.: *Equine Ophthalmology*, 2nd ed., Saunders, 2010.
- Brooks D.E.: Equine keratomycosis: an international problem. *Equine Vet. Educ.* 2009, **21**, 243–246.
- Brooks D.E., Plummer C.E., Mangan B.G., Ben-Shlomo G.: Equine subepithelial keratomycosis. *Vet. Ophthalmol.* 2013, **16**, 93–96.
- Tsujita H., Plummer C. E.: Corneal stromal abscessation in two horses treated with intracorneal and subconjunctival injection of 1% voriconazole solution. *Vet. Ophthalmol.* 2013, **16**, 451–458.
- Smith K.M., Pucket J. D., Gilmour M. A.: Treatment of six cases of equine corneal stromal abscessation with intracorneal injection of 5% voriconazole solution. *Vet. Ophthalmol.* 2014, **17**, Supplement 1, 179–185.
- Linde H. M. de, Andersen P. H., Mielteka K., Farina L., Thomsen P.D., Plummer C. E., Mangan B. G., Heegaard S., Coleman J.K., Toft N., Brooks D.E.: Equine deep stromal abscesses (51 cases – 2004–2009) – Part 2: The histopathology and immunohistochemical aspect with attention to the histopathologic diagnosis, vascular response, and infectious agents. *Vet. Ophthalmol.* 2014, **17**, Supplement 1, 14–22.
- Gilmour M.A.: Subconjunctival voriconazole for the treatment of mycotic keratitis in a horse. *Equine Vet. Educ.* 2012, **24**, 489–492.
- Ben-Shlomo G., Griggs AN, Tofflemire K.L., Whitley R.D., Allbaugh R.A.: The use of 0,5% Caspofungin against aggressive ulcerative keratomycosis refractory to conventional therapy. *International Equine Ophthalmology Consortium Conference*, Stresa 2014.
- McMullen R.J., Michau T.M., Gilger B.C.: Experiences with intrastromal injections of 1% and 5% voriconazole for the treatment of corneal stromal abscesses in horses. *International Equine Ophthalmology Consortium Conference*, Stresa 2014.