

Diplomarbeit

**Labordiagnostische Evaluierung mykotischer
Keratitis an der Univ.-Augenklinik Graz,
eine retrospektive Studie**

eingereicht von

Christoph Aumayr

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitäts- Augenklinik, Medizinische Universität Graz

unter der Anleitung von

Priv.-Doz. Dr. med. univ. Jutta Horwath-Winter

und

Dr. med. univ. Nora Woltsche

Graz, am 03.01.2023

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 03.01.2023

Christoph Aumayr eh.

1 Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen herzlich bedanken, die mich beim Erstellen meiner Diplomarbeit unterstützt haben.

Besonderer Dank gilt meinen Diplomarbeitbetreuerinnen, Frau Priv.-Doz. Dr.med.univ. Jutta Horwath-Winter und Frau Dr.med.univ. Nora Woltsche für die herausragende Betreuung. Danke für die wertvolle fachliche sowie menschliche Unterstützung, die hilfreichen Ratschläge und die investierte Zeit, die das Verfassen der Arbeit erst ermöglichten.

Zusätzlich möchte ich Herrn Mag. Gerold Schwantzer danken, dessen professionelle statistische Auswertung mir eine große Hilfe war.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinen Freundinnen und Freunden bedanken, die mich während der Studienzeit begleitet haben, wodurch ich diese Zeit in bester Erinnerung behalte.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, insbesondere meinen Eltern Gudrun und Markus, die mich auf dem gesamten Weg des Medizinstudiums in jeder Hinsicht außerordentlich unterstützt haben. Eure Hilfe weiß ich sehr zu schätzen, danke!

2 Inhaltsverzeichnis

1	DANKSAGUNGEN	1
2	INHALTSVERZEICHNIS	2
3	GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN	4
4	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	5
5	TABELLENVERZEICHNIS	6
6	ZUSAMMENFASSUNG	7
7	ABSTRACT	9
8	EINLEITUNG	11
8.1	Grundkenntnisse der Hornhaut	11
8.1.1	Hornhautschichten	11
8.1.2	Versorgung	13
8.1.3	Innervation	13
8.1.4	Tränenfilm	14
8.2	Mykotische Keratitis	14
8.2.1	Epidemiologie	14
8.2.2	Ätiologie/Pathogenese	15
8.2.3	Klinik	16
8.2.4	Diagnostik	18
8.2.5	Pharmakologische Therapie	23
8.2.6	Chirurgische Therapie	27
8.2.7	Korneales Crosslinking (CXL)	28
9	RETROSPEKTIVE STUDIE AN DER UNIV.-AUGENKLINIK GRAZ	29
9.1	Material und Methoden	29
9.1.1	Patient*innenkollektiv	29
9.1.2	Datenerhebung	29
9.1.3	Statistische Auswertung	30

9.2	Ergebnisse der statistischen Auswertung	31
9.2.1	Deskriptive Statistik.....	31
9.2.2	Verlauf der Anzahl an Pilzkeratitis-Fällen	38
9.2.3	Betrachtung der Labordiagnostik: Bei wie vielen positiven PAS- Färbungen konnte die Pilzart in der Kultur oder PCR bestätigt werden?	41
9.2.4	Haupterreger im Untersuchungszeitraum	41
9.2.5	Altersverteilung der Pilzkeratitis	43
9.2.6	Stationäre Behandlung und Behandlungsdauer	43
10	DISKUSSION	45
10.1	Diagnostik	46
10.2	Risikofaktoren	47
10.3	Stationärer Aufenthalt und chirurgische Therapie	48
10.4	Erregerspektrum	48
10.5	Therapie	49
10.6	Endvisus	51
10.7	Limitationen	51
11	FAZIT	53
12	LITERATURVERZEICHNIS	54

3 Glossar und Abkürzungen

AS-OCT	Anterior Segment Optical Coherence Tomography
B.-B.-1 Zeichen	Behrens-Baumann 1 Zeichen
B.-B.-2 Zeichen	Behrens-Baumann 2 Zeichen
CXL	Korneales Crosslinking
Da	Dalton (Molekulargewicht)
DALK	Deep Anterior Lamellar Keratoplasty
FZ	Fingerzählen
HB	Handbewegungen
IVCM	In-vivo konfokale Mikroskopie
KL	Kontaktlinse
KOH	Kaliumhydroxid
LE	Lichtempfinden
LPCB	Lactophenol Cotton Blue
MALDI TOF MS	Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry
MUTT	Mycotic Ulcer Treatment Trail
OCT	Optische Kohärenz-Tomographie
p.o.	Peroral
PAS	Periodic Acid Schiff
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PKP	Perforierende Keratoplastik
Spp.	Species pluralis (fasst mehrere Arten einer Gattung zusammen)

4 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anatomie der Hornhaut	13
Abbildung 2: Befund einer Pilzkeratitis.....	17
Abbildung 3: Behrens-Baumann Zeichen.....	18
Abbildung 4: In vivo konfokale Mikroskopie	22
Abbildung 5: Perforierende Keratoplastik bei Keratomykose	27
Abbildung 6: Anteil der Kontaktlinsenträger*innen im Verlauf.....	32
Abbildung 7: Häufigkeiten der nachgewiesenen Erregergruppen „Pilz-Daten“	34
Abbildung 8: Häufigkeiten der Pilzgattungen „Pilz-Daten“	35
Abbildung 9: Aufteilung der verwendeten Antimykotika	36
Abbildung 10: Verlauf der verwendeten Antimykotika.....	37
Abbildung 11: Aufteilung in Visusgruppen 1-3	38
Abbildung 12: Verlauf der Anzahl an Pilzkeratitis-Fällen.....	39
Abbildung 13: Anteil der Pilzkeratitiden pro Jahr.....	40
Abbildung 14: Verteilung der einzelnen Pilzgattungen.....	42
Abbildung 15: Histogramm der Altersverteilung (Klassenbreite 5 Jahre).....	43
Abbildung 16: Stationäre Behandlungsdauer in Tagen.....	44

5 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Pilztherapie-Schema nach Behrens-Baumann (2009/2021)	24
Tabelle 2: Molekulargewicht einiger Antimykotika.....	26
Tabelle 3: Einteilung der 41 identifizierten Pilze in Gattungen (Pilz-Daten)	35
Tabelle 4: Anteil der Pilzkeratitiden im Verlauf.....	40
Tabelle 5: Häufigkeiten der Gattungen.....	42

6 Zusammenfassung

Einleitung

Die mykotische Keratitis ist eine seltene, jedoch oft schwerwiegende Form der Hornhautinfektionen, die mit einer schlechten Prognose einhergeht. Die diagnostischen und therapeutischen Schwierigkeiten führen oftmals zu langwierigen visusbedrohenden Verläufen. Aufgrund der Seltenheit und Komplexität der Erkrankung wurde diese Studie initiiert, dabei wird die Entwicklung der Pilzkeratitis-Fallzahlen über einen Zeitraum von 13 Jahren im Versorgungsgebiet der Univ.- Augenklinik Graz untersucht. Außerdem werden Risikofaktoren diagnostische Methoden, Pilzarten und die Therapie näher betrachtet.

Methoden

Die Daten wurden retrospektiv an der Univ.-Augenklinik Graz aus dem Programm EyMed erhoben. Inkludiert wurden Patient*innen, die im Zeitraum von 01.01.2007 bis 31.12.2019 mit einer Pilzkeratitis behandelt wurden. Die Diagnose wurde definiert durch den Nachweis von Pilzen in der Direktfärbung, Kulturanzüchtung oder PCR in Kombination mit einem passenden klinischen Befund. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte durch Mag. Gerold Schwantzer vom Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Dokumentation.

Ergebnisse

Insgesamt wurden im Untersuchungszeitraum 87 Patient*innen mit einer Pilzkeratitis behandelt. Die Entwicklung der Fallzahlen pro Jahr zeigte eine signifikante Zunahme der Infektionen. Das durchschnittliche Alter der Patient*innen betrug 50,85 Jahre \pm 21,24. Vom Studienkollektiv waren 54% weiblich und 46% männlich. Die Diagnose wurde nach durchschnittlich 10,15 Tagen \pm 29,04 gestellt. Der Risikofaktor Kontaklinienträger*in trat bei 39,1% der Patient*innen auf, ein Trauma war bei 33,3% anamnestisch zu erheben. Diagnostisch konnten mittels Direktfärbung bei 86,2% der Patient*innen Pilze nachgewiesen werden, die Pilzkultur zeigte lediglich bei 35,6% ein Wachstum. Die wichtigste Erregergattung war mit 46,2% Candida, gefolgt von Fusarien mit 22% und Aspergillus mit 14,6%.

Vor allem in späteren Jahren des Auswertungszeitraumes zeigte sich eine Zunahme der Infektionen durch Fusarien. Der am häufigsten verwendete antimykotische Wirkstoff war Voriconazol mit 75,9%, gefolgt von den Wirkstoffen Amphotericin B und Natamycin mit jeweils 10,3%. Fluconazol wurde mit 3,4% am seltensten eingesetzt. Bei 27 Patient*innen (31%) war im Verlauf auch eine Operation am Auge notwendig. Eine Enukeation/Eviszeration war bei 2 Patient*innen (2,3%) notwendig.

Schlussfolgerung

Die Studie zeigte im Versorgungsgebiet der Univ.-Augenklinik Graz einen signifikanten Anstieg der mykotischen Keratitiden. Die Diagnostik und Therapie bereiten oft Schwierigkeiten, die Möglichkeit der sehr sensitiven Direktfärbung in der Univ.-Augenklinik Graz ermöglicht eine geringe Zeitdauer bis zur Diagnose. Dadurch wird eine schnelle therapeutische Intervention ermöglicht. Die zunehmenden Fallzahlen und die Änderung des Erregerspektrums werden in Zukunft Herausforderungen für die behandelnden Ärzt*innen darstellen. So ist es notwendig das Bewusstsein für die Diagnose Pilzkeratitis zu schärfen sowie diagnostische und therapeutische Methoden zu optimieren.

7 Abstract

Background

Mycotic keratitis is a rare but often severe form of corneal infection associated with a poor prognosis. The diagnostic and therapeutic difficulties often lead to protracted visually threatening courses. Due to the rarity and complexity of the disease, this study was initiated. The development of fungal keratitis case numbers over a period of 13 years in the service area of the University Eye Hospital Graz will be investigated. In addition, risk factors, diagnostic methods, fungal species and therapy are examined in detail.

Methods

The data were collected retrospectively at the University Eye Clinic Graz from the EyMed program. Patients treated with fungal keratitis between 01.01.2007 and 31.12.2019 were included. The diagnosis was defined by the detection of fungi in direct staining, culture cultivation or PCR in combination with a matching clinical finding. Statistical analysis of the data was performed by Mag. Gerold Schwantzer from the Institute of Medical Informatics, Statistics and Documentation.

Results

A total of 87 patients with fungal keratitis were treated during the study period. The development of the number of cases per year showed a significant increase of infections. The average age of the patients was 50.85 years \pm 21.24. Of the study population, 54% were female and 46% male. The diagnosis was made after an average of 10.15 days \pm 29.04. The risk factor contact lens wearer occurred in 39.1% of the patients, trauma was anamnestic in 33.3%. Fungi could be detected by direct staining in 86.2% of the patients, the fungal culture showed growth in only 35.6%. The most important pathogen genus was *Candida* with 46.2%, followed by *Fusarium* with 22% and *Aspergillus* with 14.6%. An increase in *Fusarium* infections was seen, especially in recent years. The most commonly used antifungal agent was voriconazole 75.9% followed by amphotericin B and natamycin with 10.3% each. Fluconazol was used least frequently with 3.4%. In 27 patients (31%) eye

surgery was also necessary during the course. Enucleation/Evisceration was necessary in 2 patient cases (2.3%).

Conclusion

The study showed a significant increase of mycotic keratitis in the service area of the Univ. Eye Clinic Graz. Diagnosis and therapy often cause difficulties, the possibility of very sensitive direct staining in the Univ. Eye Clinic Graz allows a short time to diagnosis. This allows a fast therapeutic intervention. The increasing number of cases and the change of the pathogen spectrum will be challenges for the treating physicians in the future. It is necessary to raise the awareness for the diagnosis of fungal keratitis and to optimize diagnostic and therapeutic methods.

8 Einleitung

8.1 Grundkenntnisse der Hornhaut

Die Hornhaut (Kornea) ist eine komplexe, durchsichtige, gut innervierte Struktur, die im vorderen Abschnitt des Auges liegt. Sie dient dem Auge als optisches Fenster, das ein Durchtreten von Lichtstrahlen ermöglicht und mit 43 dpt auch den größten Teil der Gesamtbrechkraft ausmacht. Die Kornea ist zentral durchschnittlich 540 µm dick, misst im vertikalen Durchmesser 11,5mm und im horizontalen 12 mm. Gemeinsam mit dem Augenlid und der Tränenflüssigkeit schützt sie die hinteren Strukturen des Auges. Die Transparenz beruht einerseits auf der gleichmäßigen Anordnung der Kollagenfasern des Hornhautbindegewebes, auf der anderen Seite spielt auch der gleichmäßig regulierte Wassergehalt von in etwa 70% eine wichtige Rolle. Somit wird klar, dass eine strukturelle Störung durch Krankheiten oder Traumata die Sehschärfe maßgeblich beeinflussen kann. (1–3)

8.1.1 Hornhautschichten

Von außen nach innen setzt sich die Hornhaut aus folgenden Schichten zusammen:

- Die äußerste **Epithelschicht** bildet sich aus mehrschichtig nicht verhorntem Plattenepithel und ist auf der Außenseite vom Tränenfilm benetzt. Für eine optimale Schutzfunktion vor Krankheitserregern ist es wichtig, dass der Epithelzellverband intakt und geschlossen ist. Bei Verletzungen kommt es durch Zellverschiebungen und Zellteilungen zu einem raschen Schluss des Epithels, bei schwerwiegenden Verletzungen kommt es zur Einwanderung von kornealen Stammzellen aus dem Limbus, dieser Vorgang benötigt mehr Zeit. Die korrekte Funktion der Stammzellen verhindert außerdem ein Aufwachsen der Bindehaut (Konjunktiva), was zu einer Eintrübung und Vaskularisation führen würde.
- Die **Bowman-Lamelle** ist eine feste Membran, die mit der Basalmembran der Epithelschicht verwachsen ist. Sie beinhaltet keine Zellen und setzt sich aus Kollagen-Fasern zusammen. Kommt es zu einer Verletzung der Bowman-Lamelle, führt dies durch die schlechte Regenerationsfähigkeit zu einer Narbenbildung.

- Das **Hornhautstroma** macht mit einem prozentualen Anteil von bis zu 90% den Hauptteil der Hornhaut aus. Das äußerst bradytrophe Gewebe besteht aus regelmäßig ausgerichteten Kollagenfasern, die in Proteoglykane (Chondroitinsulfat und Keratansulfat) eingebettet sind, und veränderte Fibroblasten (Keratinozyten) beinhalten. Durch die Gefäßfreiheit des Hornhautstromas ist eine Regeneration nur langsam möglich. Für Hornhauttransplantationen ist dies allerdings ein günstiger Umstand, da die Transplantationen ohne Gewebetypisierungen durchgeführt werden können. Bei stark vaskularisierten Hornhäuten durch Verletzungen oder Entzündungen ist die Wahrscheinlichkeit einer Abstoßungsreaktion signifikant erhöht. (1,2,4)
- Harminder S.Dua von der Universität von Nottingham beschrieb 2013 eine neue predescemetale Schicht, die sogenannte **Dua's Layer**. Diese Schicht besteht aus fünf bis 8 dünnen Lamellen aus Typ 1 Kollagen und ist von Typ 6 Kollagen durchzogen, außerdem enthält die Membran keine, bis nur sehr wenige Keratinozyten. Die Entdeckung dieser sehr belastbaren Schicht hat Auswirkungen auf das Verständnis von Hornhautpathologien und die Durchführung von chirurgischen Eingriffen. (5,6)
- Die **Descemet-Membran** ist eine dünne derbe Basalmembran aus Kollagenfasern, die sich in eine vordere geordnete und eine hintere ungeordnete Zone unterteilen lässt. Die hintere Zone besitzt durch das Hornhautendothel die Möglichkeit sich zu regenerieren.
- Die innerste Schicht der Kornea ist das **Hornhautendothel**, dessen Funktion es ist, Flüssigkeit aus dem Stroma in die Vorderkammer zu pumpen und somit ein Hornhautödem zu verhindern. Mit dem Alter nimmt die Dichte der Hornhautendothelzellen ab (0,6% pro Jahr), bei Jugendlichen beträgt die Dichte in etwa 3500 Zellen pro mm². Ab einem Wert von 800 Zellen pro mm² wird die Transparenz der Hornhaut negativ beeinflusst. (1,2,4)

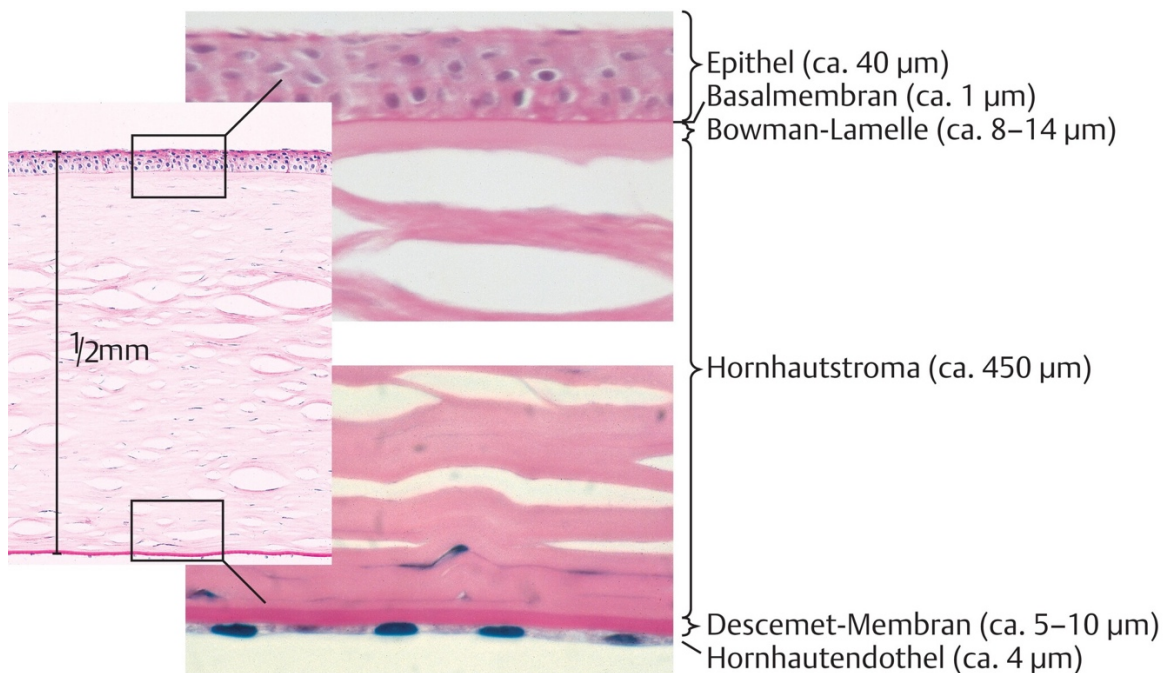


Abbildung 1: Anatomie der Hornhaut

Quelle: Lang G., 2019, Seite 88, Augenheilkunde, Thieme Verlag

8.1.2 Versorgung

Da die Hornhaut ein bradytrophes Gewebe ist und keine Gefäße besitzt, wird sie über 3 alternative Wege mit Nährstoffen versorgt. Von intraokulär erfolgt die Versorgung über den Stoff- und Ionen-Austausch des Kammerwassers, von außen über den Tränenfilm und den Sauerstoffgehalt der Luft und von zirkulär über Diffusion des Randschlingennetz der Bindehaut. Aufgrund der schwierigen Nährstoffversorgung, bedingt durch die Avaskularität ist der Prozess der Heilung oft träge und langwierig. (2,4)

8.1.3 Innervation

Die Kornea ist eine sehr gut innervierte und empfindliche Struktur, zahlreiche sensible Nervenfasern aus dem 1. Trigeminusast durchziehen die Hornhaut und lösen bei geringsten Berührungen den reflektorischen Lidschluss aus. Kommt es durch Traumata oder Entzündungen zu einer Freilegung der Nervenfasern, resultiert dies in einem krampfhaften Lidschluss (Blepharospasmus), einem reflektorischen Tränenfluss (Epiphora) und Schmerzen. (2,4)

8.1.4 Tränenfilm

Der Tränenfilm des Auges ist eine sehr komplexe Flüssigkeit, die sich aus 3 Schichten zusammensetzt:

- Die **Lipidschicht** ist die äußerste Schicht und wird von den Meibom-Drüsen sezerniert, sie verhindert ein zu schnelles Verdunsten des Tränenfilms und bestimmt auch dessen Dicke.
- Die **wässrige Schicht** wird von den Tränendrüsen produziert, sie versorgt das Epithel der Hornhaut mit Sauerstoff, dient der Immunabwehr und glättet Unregelmäßigkeiten der Hornhaut.
- Direkt der Kornea anliegend befindet sich die **Muzinschicht**. Dieser Muzinfilm wird durch die Becherzellen und Epithelzellen der Konjunktiva sezerniert und schafft eine Verbindung der hydrophoben Hornhaut mit dem Tränenfilm.

(1)

8.2 Mykotische Keratitis

Die mykotische Keratitis ist eine durch Pilze ausgelöste Entzündung der Hornhaut und zählt zu den infektiösen Keratitiden. Neben Pilzen wird die infektiöse Keratitis durch Bakterien, Viren und Protozoen (Akanthamoeben) verursacht. Durch die direkt exponierte Lage zur Umwelt ist die Hornhaut für Erreger sehr empfänglich, was durch Risikofaktoren wie Kontaktlinsen oder Traumata nochmals begünstigt wird. Keratitiden stellen weltweit eine Hauptursache für Visuseinschränkungen dar. Je nach Ausprägung der Entzündung werden verschiedene Schichten der Hornhaut von den Erregern befallen, wodurch es zu strukturellen Veränderungen und einer Transparenzminderung der Kornea kommen kann. Besonders die mykotische Keratitis ist durch ihre oft verzögerte Diagnosestellung und eine langwierige Therapie mit einer starken Minderung der Sehschärfe assoziiert und stellt Augenärzt*innen vor eine besondere Herausforderung. (3,7,8)

8.2.1 Epidemiologie

Die Pilzkeratitis ist traditionell insbesondere in tropischen und subtropischen ländlichen Bereichen beheimatet, insbesondere in Entwicklungsländern wie beispielsweise China oder Indien häufen sich die Fallzahlen. Dort können bis zu

50% der kulturell nachgewiesenen Hornhautinfektionen durch Pilze verursacht sein. Die warmen Temperaturen sowie die höhere Luftfeuchtigkeit begünstigen die Infektionen, worauf auch saisonale Schwankungen der Fallzahlen zurückzuführen sind. (9,10) Obwohl die Pilzkeratitis in Industriestaaten und im städtischen Bereich relativ selten ist, konnte in den letzten Jahren ein Anstieg beobachtet werden. Dieser Anstieg, der Keratitiden, oft mit der Pilzart *Fusarium* spp. assoziiert, hängt möglicherweise mit der vermehrten Verwendung von weichen Kontaktlinsen und mangelhafter Hygiene zusammen. (7,11) In Deutschland wurde aufgrund der steigenden Fallzahlen und der bisher nicht durchgeführten evidenzbasierten Auswertung „Das Deutsche Pilz-Keratitis-Register“ gegründet. Diese multizentrische Registerstudie sammelt Daten und wertet diese aus, um einen Überblick über die Lage in Deutschland zu bekommen. (12)

8.2.2 Ätiologie/Pathogenese

Hinsichtlich des Auftretens, der Risikofaktoren und der therapeutischen Ansätze werden die Erreger in 2 Gruppen unterteilt, nämlich in die Gruppe der Faden- und Schimmelpilze (Filamentöse Pilze) und die Gruppe der Hefe oder Sprosspilze. Bezüglich der Verbreitung hat sich gezeigt, dass die Gruppe der filamentösen Pilz-Keratitiden eher im tropischen und subtropischen Bereich beheimatet ist und die Keratitiden in den gemäßigten Klimazonen eher mit *Candida*-Arten assoziiert sind. (9)

Die Gruppe der Faden- und Schimmelpilze (z.B. *Fusarium*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Penicillium*) tritt typischerweise bei jungen, gesunden, landwirtschaftlich tätigen Patient*innen auf. Oftmals wird in der Anamnese von einem Trauma mit organischem Material berichtet, wodurch die Pilze direkt in das Stroma der Hornhaut eindringen konnten. In den letzten Jahren gab es eine Häufung von Keratitiden, die durch Faden und Schimmelpilze ausgelöst wurden. Dieser Trend wird mit dem Tragen von weichen Kontaktlinsen in Zusammenhang gebracht, die Pilze können sich auf dem weichen Material gut anheften und durch eine mangelnde Hygiene darauf persistieren. Durch den langen direkten Kontakt mit der Hornhaut gelingt es den Pilzen die Epithelbarriere zu durchbrechen und in diese einzudringen. Weitere Risikofaktoren für Keratitiden durch filamentöse Pilze sind die Verwendung von

lokalen Kortikosteroiden, Operationen am Auge und Umwelteinflüsse wie warmes, feuchtes Klima. (7,13)

Die Gruppe der durch Hefe- und Sprosspilze (z.B. *Candida albicans* und andere *Candida*-Arten) ausgelösten Keratitiden ist eher mit chronischen Augenerkrankungen wie Benetzungstörungen, Lidschlussdefekten und systemischen Immundefekten assoziiert. Diese Gruppe ist besonders oft von schweren Verläufen und der Notwendigkeit einer Keratoplastik betroffen. Eine Beschädigung der Epithelbarriere, zum Beispiel durch eine Herpeskeratitis, begünstigt ebenfalls das Eindringen von Pilzen und die Entstehung einer Pilzkeratitis. (7,13,14)

8.2.3 Klinik

Eine mykotische Keratitis von bakteriellen oder auch Akanthamoeben- Keratitiden zu unterscheiden, bereitet im Frühstadium der Krankheit oft Schwierigkeiten. Es gibt zwar pilzspezifische Symptome, diese sind jedoch oft erst im späteren Krankheitsverlauf zu erkennen. Die häufig beschriebenen unspezifischen Symptome einer Keratitis sind Schmerzen, Fremdkörpergefühl, Rötung, Lichtempfindlichkeit, Einschränkungen der Sehschärfe, Tränenträufeln und die Absonderung von Sekret. Oft sind die Schmerzen und die Lichtempfindlichkeit zu Beginn wenig ausgeprägt und nehmen erst im Verlauf zu. (13)

Um den klinischen Befund zu erheben wird das Auge mit der Spaltlampe betrachtet.

Typisch für die Pilzkeratitis sind folgende Befunde der Hornhaut:

- Eine gräuliche, eher trockene Läsion mit rauer Oberfläche
- Ein landkartenartiger, gefiederter, möglicherweise verwaschener Rand der Läsion
- Satellitenartige Infiltrate
- Endotheliale Plaques
- Möglicherweise besteht ein weißes Ringinfiltrat um die Läsion (Wessely Ring) (13)

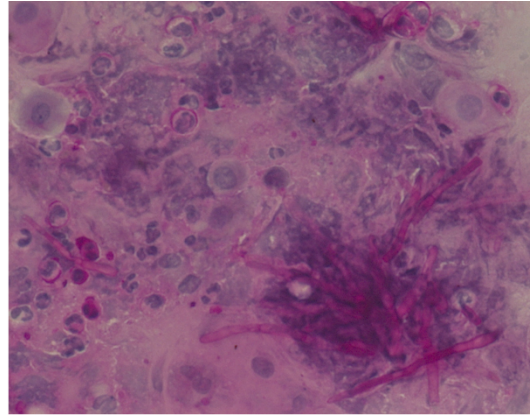
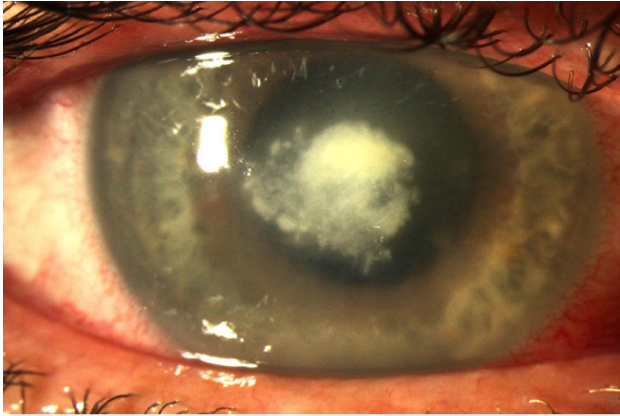


Abbildung 2: Befund einer Pilzkeratitis

Bild 1: Spaltlampenbefund einer Pilzkeratitis mit weißlichem Infiltrat, verwaschenem Rand und Satellitenherden. Bild 2: Zugehöriger Befund der PAS-Direktfärbung

Quelle: Univ.-Augenklinik, Medizinische Universität Graz

Außerdem gibt es 2 weitere typische Zeichen für eine Pilzkeratitis, diese wurden nach Behrens-Baumann benannt. Das erste Zeichen das sogenannte „B.-B.-2 Zeichen“ ist ein breites verdicktes Hornhautinfiltrat, das wie eine Beule imponiert und nur einen geringen Epitheldefekt aufweist. Durch das Einwandern von Leukozyten und Fibrin in das Gerüst aus Pilzhyphen kommt es zu einem weiteren pathognomonischen Zeichen, dem sogenannten „B.-B.-1-Zeichen“. Hier kommt es zum Ausbilden eines pyramidenförmigen Hypopyons, manchmal ragt das Hypopyon auch zapfenförmig von oben, unten oder hinten in die vordere Augenkammer. Besonders morgens ist es möglich, ein Abtropfen des Hypopyons zu beobachten. Liegen diese Zeichen vor, lässt sich bereits der hochgradige Verdacht auf eine Pilzkeratitis stellen. (13,15)

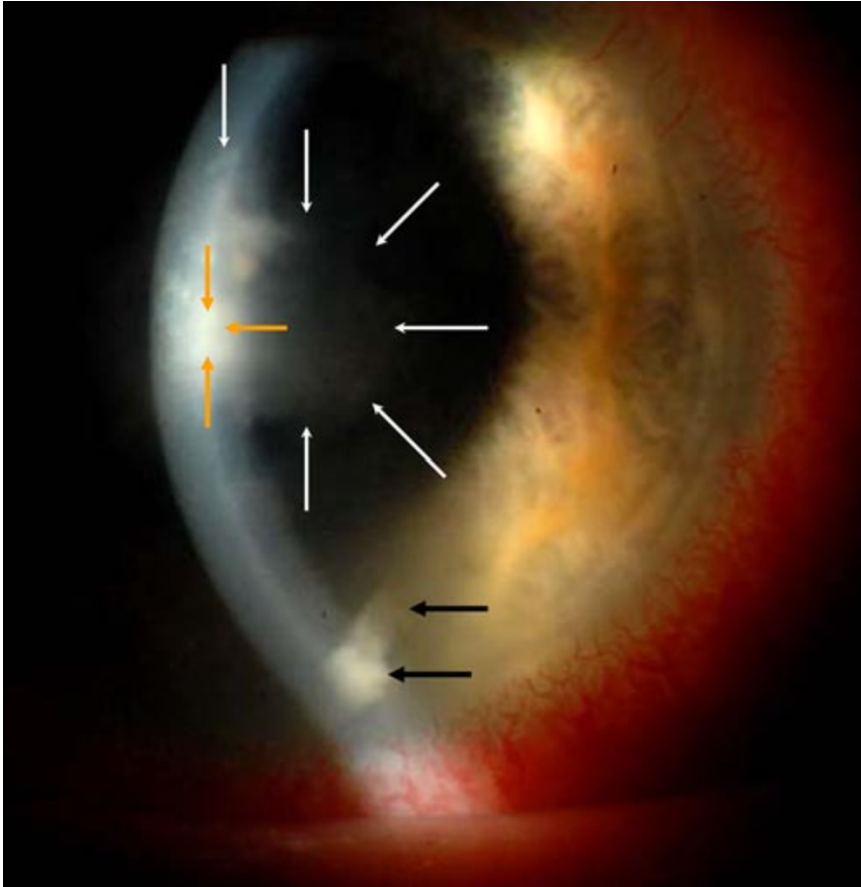


Abbildung 3: Behrens-Baumann Zeichen

Die schwarzen Pfeile deuten auf das zapfenförmige zähe Hypopyon (B.B.1 Zeichen), die weißen Pfeile zeigen auf das breite tiefe Infiltrat bei nur relativ kleinem Epitheldefekt (orange Pfeile) also dem B.B.2 Zeichen

Quelle: Behrens-Baumann, 2009, Seite 471, Diagnostik und Therapie der Keratomykose, Springer Medizin Verlag

Die genannten pilzspezifischen Symptome müssen nicht zwingend bei einer mykotischen Keratitis vorhanden sein, da bereits applizierte Medikamente, die Dauer der Infektion und mögliche Mischinfektionen das klinische Erscheinungsbild beeinflussen. Aufgrund der oft schwerwiegenden Verläufe und der begrenzten Therapiemöglichkeiten ist in jedem Fall eine weiterführende Diagnostik indiziert. (13)

8.2.4 Diagnostik

Die korrekte und schnelle Diagnose ist bei der Behandlung der Pilzkeratitis von großer Bedeutung. Oftmals erfolgt die Diagnose spät, was den Verlauf der Erkrankung maßgeblich negativ beeinflusst.

Die Anamnese nimmt in der Diagnostik einen wichtigen Stellenwert ein, ein gezieltes Nachfragen nach pilzspezifischen Risikofaktoren liefert oft erste wichtige Hinweise auf eine Infektion mit Pilzen. Außerdem müssen Risikofaktoren oft auch mitbehandelt werden, um Rezidive zu vermeiden. (7)

Für die Diagnostik stehen neben einer ausführlichen Anamnese und dem klinischen Erscheinungsbild folgende Untersuchungen zur Verfügung.

- Direktabstrich mit Färbung
- Pilzkultur des Direktabstrichs
- PCR (Polymerase-Kettenreaktion) eines Hornhautabkratzpräparates
- Hornhautbiopsie mit histopathologischer Aufarbeitung
- Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI TOF MS)
- In-vivo-Konfokalmikroskopie (IVCM)
- Vorderabschnitts-optische Kohärenztomographie (AS-OCT)

8.2.4.1 Materialgewinnung

Um Material für die Untersuchungen zu gewinnen, wird die Hornhaut im ersten Schritt mit einem Lokalanästhetikum benetzt. Dann wird mit einem sterilen Hockeymesser das Probenmaterial entnommen. Dabei sollte darauf geachtet werden, Material von verschiedenen Stellen der Läsion zu entnehmen, wichtig ist besonders im Randbereich ausreichend Material zu gewinnen, da dort oft die vitalen Erreger sitzen. Eine Abrasio der Läsion hat neben dem diagnostischen Zweck auch einen therapeutischen Nutzen, denn Antimykotika mit einem hohen Molekulargewicht können somit leichter in das Stroma der Hornhaut diffundieren. Das gewonnene Material wird zum einen Teil direkt auf einen Objektträger ausgestrichen und zum anderen Teil durch indirekte Inokulation auf ein festes oder flüssiges Transportmedium verpflanzt. (13)

Eine weitere Methode der Materialgewinnung ist die Hornhautbiopsie, diese Methode ist besonders dann von Bedeutung, wenn oberflächlich keine Pilze zu finden sind. Manche Pilzarten, wie zum Beispiel Fusarien sind oftmals nur in der Tiefe auffindbar.

Die Biopsie sollte im nicht betroffenen Randbereich der Läsion entnommen werden, um eine aktive Zone zu erhalten. Anschließend wird das Biopsat histopathologisch gefärbt und untersucht.(13) Der diagnostische Stellenwert der histopathologischen Untersuchung eines Hornhautbiopsats ist eher begrenzt. Voraussetzung für die korrekte Diagnostik ist eine gute Kenntnis über die Morphologie der verschiedenen Pilzarten. Die histologische Färbung der Hornhautbiopsie erfolgt mit Standardfärbungen und Spezialfärbungen. (7)

Bei einer sehr fortgeschrittenen Keratitis mit Beteiligung von intraokulären Strukturen kann eine Punktion der Vorderkammer mit Aspiration von Kammerwasser indiziert sein. Bei Kontaktlinsenträger*innen ist es auf jeden Fall sinnvoll, auch die Kontaktlinsenflüssigkeit und den Behälter zur Identifikation der Erreger zu verwenden, oft sind mehrere Erreger für die Infektion verantwortlich. (13)

8.2.4.2 Direktfärbung

Um besonders schnell zwischen Bakterien, Pilzen und Akanthamoeben zu differenzieren, wird ein Direktausstrich durchgeführt. Dabei wird das gewonnene Hornhautmaterial direkt am Objektträger ausgestrichen, hitzefixiert und gefärbt. An der Univ.-Augenklinik Graz werden die Färbungen Gram, PAS (Periodic Acid Schiff) und LPCB (Lactophenol Cotton Blue) durchgeführt, wobei die Stärke der PAS Färbung in der Detektion von Pilzen liegt und die der LPCB Färbung in der Detektion von Akanthamoeben. Eine für Pilze besonders sensitive Nachweismethode ist die Färbung mit einer 10% Kaliumhydroxid Lösung auch KOH-Test genannt, allerdings ist diese Färbung für die Darstellung von Bakterien eher ungeeignet.(16)

Mikroskopisch können im Falle einer Pilzkeratitis dann Sporen, Hefen, Pseudohyphen oder septierte Hyphen dargestellt werden. (7)

Die Untersuchungsmethode der Direktfärbung ist sehr von der Qualität des abgenommenen Materials und der/dem untersuchenden Mikrobiologen/-in abhängig. Dieser Teil der Diagnostik ist sehr wichtig, da besonders schnell Ergebnisse vorliegen und eine zielgerichtete Therapie durchgeführt werden kann. (13)

8.2.4.3 Pilzkultur

Der Goldstandard in der Diagnostik der mykotischen Keratitiden ist die Kulturanzüchtung der Pilze. Bei dieser Untersuchung ist es außerdem auch möglich ein Resistenzprofil der identifizierten Erreger zu erstellen. Das abgenommene Material wird auf eine Agarplatte übertragen, wo es dann angezüchtet wird, dies geschieht entweder auf direktem oder auf indirektem Weg. Während bei der direkten Inokulation das Zellmaterial sofort auf die Agarplatte übertragen wird, wird bei der indirekten Inokulation ein flüssiges Nährmedium als Zwischenstation verwendet. Der Vorteil des indirekten Wegs ist, dass bereits sehr wenig Zellmaterial für die Anzüchtung ausreicht und dass sich die Erreger schnell vermehren. (7)

Zur Kultivierung werden zum Beispiel Schokoladenagar, Blutagar, Brain-Heart-Infusion Agar oder Sabouraud-Agar verwendet. Der Vorteil der Kulturanzüchtung ist die hohe Spezifität (99%) der Untersuchung, die Sensitivität liegt allerdings nur bei 50%. Da das Wachstum von Bakterien ein Anwachsen der Pilze beeinträchtigen kann, ist es oft sinnvoll mithilfe von Antibiotika die Pilze zu separieren. (13)

8.2.4.4 Molekularbiologische Verfahren

Ein diagnostisches Werkzeug, das in den letzten Jahren immer mehr an Bedeutung gewonnen hat, ist die PCR (Polymerase Chain Reaction). Bei dieser molekularbiologischen Untersuchung werden DNA-Stücke der Pilze in mehreren Zyklen vermehrt und dann mittels Gelelektrophorese oder DNA-Sequenzierung ausgewertet. Mittels Multiplex PCR ist es sogar möglich nach mehreren Erregern gleichzeitig zu suchen. Da die Pilzkultur Schwächen in der Sensitivität und der Kulturdauer zeigt, bietet sich die PCR also als optimale Zusatzdiagnostik an. Die PCR zeichnet sich durch eine schnelle Durchführung und eine besonders hohe Sensitivität aus, bereits einzelne DNA-Fragmente genügen für eine Replikation des Genmaterials. Dies bedeutet auf der anderen Seite allerdings, dass es auch zu einer relativ hohen Anzahl an falsch positiven Ergebnissen kommt, da bereits minimale Verunreinigungen durch die Umwelt ebenso detektiert werden. (3,17)

Eine weitere noch sehr neue molekularbiologische Untersuchungstechnik ist die MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry). Dabei können Bakterien und Pilze mit zuvor eingespeicherten

Referenzwerten verglichen und somit identifiziert werden. Der Prozess nimmt nur wenige Minuten in Anspruch und identifiziert die Erreger sehr genau, somit könnte dieses Verfahren die Labordiagnostik in Zukunft erheblich verbessern. (13,18)

8.2.4.5 Bildgebung

Die In-vivo Konfokalmikroskopie (IVCM) ist eine nicht invasive optische Untersuchungsmethode, die es ermöglicht, die verschiedenen Hornhautschichten in Echtzeit zu betrachten. Dabei können Strukturen wie Neven, Keratinozyten endotheliale Zellen und auch pathologische Veränderungen durch Pilzinfektionen betrachtet werden. Besonders filamentöse Pilze können sich als stark reflektierende lineare Strukturen mit einem Durchmesser von 3-10 μm darstellen, die durch zahlreiche Verzweigungen ein Muster bilden. (19) Die Pilzhyphen verlaufen im Stoma typischerweise parallel und imponieren wie Bahnschienen. Die Qualität der Untersuchung hängt sehr stark vom Untersucher ab, es wird aber in der Literatur eine Sensitivität von bis zu 80-94% beschrieben. (20) Die Darstellung der Hefepilze ist nur schwer möglich da sie keine einheitlichen Erkennungsmerkmale aufweisen. Jedenfalls ist die IVCM ein wertvolles Instrument in der Diagnostik der Pilzkeratitis und sollte bei jeder atypischen Keratitis zur Anwendung kommen.(21) Ein weiteres bildgebendes Verfahren ist die Vorderabschnitts-optische Kohärenztomographie (OCT), mit diesem Gerät kann vor allem die Ausdehnung des Ulkus/Infiltrats in der Hornhaut gut dargestellt werden. (7)

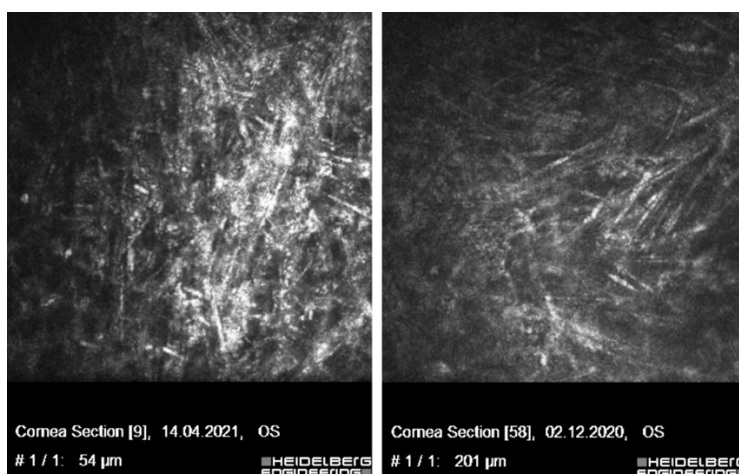


Abbildung 4: In vivo konfokale Mikroskopie

Kornea: helle, teilweise parallel ("Bahnschienen-artig") verlaufende hyperreflektive Linien im Sinne von Pilzhyphen.

Quelle: Univ.-Augenklinik, Medizinische Universität Graz

8.2.5 Pharmakologische Therapie

Die Therapie der Pilzkeratitis gestaltet sich nach wie vor als schwierig, wodurch oft eine lange Therapiedauer und ein schlechteres Outcome, als bei bakteriellen Keratitiden resultiert. Zur Anwendung kommen topische und systemische Antimykotika sowie topische Immunsuppressiva, außerdem ist es auch sinnvoll die Pilzinfektionen mit einem Breitbandantibiotikum zu behandeln, um Mischinfektionen adäquat zu therapieren und Superinfektionen zu vermeiden. Die zur Verfügung stehenden antimykotischen Medikamente haben mehrere Nachteile, einerseits gibt es nur eine begrenzte Anzahl an Substanzen, andererseits ist auch die okuläre Penetration oft nur eingeschränkt möglich und die Bioverfügbarkeit ist nicht vorhersehbar. Besonders in den letzten zehn Jahren wurden einige neue Medikamente und Verabreichungssysteme eingeführt, die das Outcome der Patienten verbessern sollen. Eine gute Kenntnis über die derzeit zur Verfügung stehenden Antimykotika und deren Wirkspektrum ist für eine suffiziente Behandlung unerlässlich. (8,13,22)

Für die topische Therapie ist oftmals eine Abrasio der Hornhaut notwendig, da viele Antimykotika mit einem Molekulargewicht von über 500 Da in der Diffusion durch das Hornhautepithel eingeschränkt sind. (Natamycin hat beispielsweise ein Molekulargewicht von 665,75 Da und Amphotericin B 924,10 Da). Im deutschsprachigen Raum wird ein von Behrens-Baumann entworfenes und 2015 adaptiertes Stufenschema verwendet, das den therapeutischen Ablauf bei einer Pilzinfektion regelt. Dieses ist in der folgenden Tabelle näher beschrieben. (7,13)

Stufe	Klinik	Medikament, Konzentration	Dosierung	Bemerkung
1a	Keratomykose Erreger unbekannt	Voriconazol-Tropfen 2%	1/2-bis1-stündlich	Apothekenherstellung
		Prednisolon-Tropfen 1%	2-3 x täglich	
1b	Fusarium sp.	Natamycin-Tropfen 5%	1/2-bis1-stündlich	Internationale Apotheke
		Prednisolon-Tropfen 1%	2-3x tägl. titrieren	Abrasio corneae alle 2 Tage besser verträglich als Voriconazol
		Posaconazol Tabl. oder Voriconazol	1x 300mg oral 2x 200 mg oral	initial doppelte Dosis
1c	Misserfolg	Amphotericin-B-Tropfen 0,5%	1-stündlich	Apothekenherstellung
		Prednisolon-Tropfen 1%	1x bis 2x tägl. titrieren	Abrasio alle 2 Tage
		Ggf. Terbinafin/Polyhexamid		
2	Hypopyon	wie 1a, 1b, 1c plus Voriconazol 100 µg/0,1ml intrakameral	täglich bis alle 2 Tage	Apothekenherstellung
		oder Amphotericin B 7,5 µg intrakameral	täglich bis alle 2 Tage	Apothekenherstellung
3	Endophthalmitis exogen, endogen	Voriconazol 100 µg/0,1ml intravitreal	je nach Befund wiederholen	Apothekenherstellung
		oder Amphotericin B 7,5 µg intravitreal	ggf. wiederholen	Apothekenherstellung
	Erreger unbekannt	Posaconazol Tabl. oder Voriconazol	1x 300 mg oral 2x 200 mg oral	initial doppelte Dosis

Tabelle 1: Pilztherapie-Schema nach Behrens-Baumann (2009/2021)

Quelle: Pleyer U., 2021, Seite 178, Entzündliche Augenerkrankungen, Springer Verlag

8.2.5.1 Antimykotika

Antimykotika sind antimikrobielle Substanzen, die sich gegen die Synthese von Pilzen richten (fungistatisch) oder sie abtöten (fungizid). Die 4 Hauptgruppen (Azole, Polyene, Echinocandine und Allylamin-Derivate) werden nach der molekularen Struktur und der Wirkungsweise eingeteilt. Die Antimykotika für die topische Gabe sind oftmals nicht kommerziell erhältlich und müssen somit in Apotheken hergestellt werden. Außerdem ist die Therapie oft sehr teuer, so kostet die Anwendung von Vfend p.o. täglich 209,00 Euro. (7,13,22)

Die Gruppe der **Azole** greift in die Biosynthese der Zellmembran ein und verursacht Membrandefekte. Durch die Hemmung des Enzyms Lanosterol-Demethylase wird die Synthese von Ergosterol, dem dominierenden Membranlipid gestört. In der Klinik sind die Substanzen Fluconazol und Voriconazol in Verwendung. Voriconazol deckt

ein breites Spektrum an Pilzen ab und kommt somit besonders bei unbekanntem Erregern zur Anwendung. Fluconazol sollte aufgrund von Resistenzentwicklungen nur mehr bei gesichertem Vorliegen einer *Candida albicans* Keratitis verwendet werden, Voriconazol hingegen ist gegen *Candida* spp., Aspergillen, Fusarien und Dermatophyten wirksam. Beide Wirkstoffe haben aufgrund ihres niedrigen Molekulargewichts ein gutes Penetrationsvermögen, weshalb keine Abrasio der Hornhaut zwingend notwendig ist. Azole können topisch, intrakameral, intrastromal, intravitreal und auch systemisch eingesetzt werden. Bei einer längeren systemischen Verabreichung ist die potentielle Nebenwirkung einer peripheren Neuropathie zu beachten. Ein weiterer Vertreter der Azole ist Posaconazol, dieses Medikament wird in der Regel nicht angewendet, kann aber bei therapierefraktären Verläufen von Fusarien hilfreich sein. (7,13,23)

Wirkstoffe wie Amphotericin B, Natamycin und Nystatin gehören zur Gruppe der **Polyene**, ihr Wirkmechanismus basiert auf einer Bindung an Ergosterol, die mit einer Porenbildung einhergeht. Durch die Poren in der Zellmembran kommt es zum Ausströmen von Kaliumionen und zum Zelltod. Natamycin ist bei Fusarienkeratitiden sehr gut wirksam und deshalb auch in der Stufe 1b des Behrens- Baumann Stufenschema angeführt, weiters kann es auch bei *Curvularia* spp. verwendet werden. Amphotericin B und Nystatin hingegen kommen bei Infektionen mit *Candida* spp. zum Einsatz. Da die Substanzen Natamycin und Nystatin toxisch sind, können sie nur zur topischen Therapie verwendet werden. Amphotericin B kann topisch, intrakameral, intravitreal und auch systemisch zur Anwendung kommen, wobei bei der systemischen Therapie die Nephrotoxizität zu beachten ist. (7,13,23,24)

Echinocandine sind Antimykotika deren Wirkung auf einer Hemmung der Glukansynthese basiert, ohne welche eine Synthese der Glykanfibrillen nicht möglich ist, was eine Lyse der Zelle bewirkt. Glykanfibrillen sind ein wichtiger Bestandteil der Pilzzellwand. Die Wirkstoffe Casofungin, Micafungin und Anidulafungin wirken vor allem gegen *Aspergillus* und *Candida* spp. und werden im Gegensatz zu anderen Antimykotika sehr gut vertragen. (13,23)

Terbinafin gehört zur Gruppe der **Allylamin-Derivate**, der Wirkstoff hemmt die Squalen-Epoxidase und somit die Synthese von Ergosterol. Der Mangel an

Ergosterol erklärt den fungistatischen Effekt, die Anhäufung von Squalenen die fungizide Wirkung. Der Einsatz in der Augenheilkunde ist derzeit noch gering, es gibt jedoch bereits Hinweise, dass die Wirkstoffe gegen Fusarien und Paecilomyces wirken. (7,23)

Antimykotikum	Molekulargewicht (Da)
Flucytosin	129,09
Fluconazol	306,30
Terbinafin	327,90
Voriconazol	349,32
Miconazol	416,12
Ketokonazol	531,44
Natamycin (Pimaricin)	665,75
Posaconazol	700,78
Amphotericin B	924,10
Nystatin	926,11
Caspofungin	1093,50

Tabelle 2: Molekulargewicht einiger Antimykotika

Quelle: Behrens-Baumann, 2015, Seite 759, Keratomykose – Therapiestandards und aktuelle Entwicklungen, Thieme Verlag

8.2.5.2 Immunsuppressiva

Topische Steroide werden bei Pilzinfektionen oft eingesetzt, wobei die Verwendung bei jedem Patienten kritisch abzuwiegen ist. Einerseits helfen Kortikosteroide, die körpereigene schädigende Immunreaktion zu bremsen und somit den Erhalt der Transparenz der Hornhaut zu gewährleisten. Andererseits kann eine zu hohe Dosis auch die Immunabwehr so stark beeinträchtigen, dass die Infektion schwerwiegende Verläufe annimmt. Die immunsupprimierende Tropftherapie sollte nur in Kombination mit einem Antimykotikum und unter engmaschigen Kontrollen erfolgen. Außerdem sollte die Steroiddosis langsam gesteigert werden und nach der Therapie auch wieder über Wochen ausgeschlichen werden. Neben Kortikosteroiden gibt es noch die Möglichkeit Cyclosporin A für die

Immunsuppression zu verwenden, dies ist insbesondere bei längeren Verläufen von Vorteil, da bei dieser Therapie keine Katarakt und kein Glaukom entstehen können. (3,7,13,25)

8.2.6 Chirurgische Therapie

Aufgrund der diagnostischen und therapeutischen Herausforderungen der Pilzkeratitis kann es oft zu schweren langwierigen Verläufen kommen, die konservativ nicht mehr behandelbar sind. In diesen Fällen ist eine chirurgische Intervention notwendig. Ziel dabei ist es durch Entfernen von Erregern, nekrotischem Gewebe und Entzündungszellen die Keimlast zu reduzieren, die Heilung zu begünstigen und die Hornhaut zu stabilisieren. (3)

Folgende chirurgische Maßnahmen kommen zum Einsatz.

- Débridement
- Amnionmembrantransplantation
- Tarsorrhaphie
- Bindehautübernähung
- Deep anterior lamellar keratoplasty (DALK)
- Perforierende Keratoplastik (PKP)

Die PKP ist besonders bei drohender Perforation des Entzündungsherdes, bei perforierten Entzündungen und bei fehlendem Ansprechen auf die medikamentöse Therapie von Bedeutung. (26)

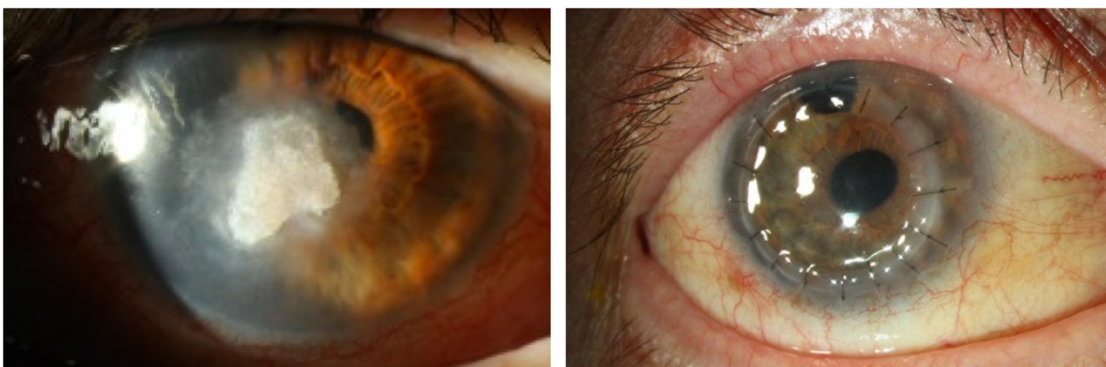


Abbildung 5: Perforierende Keratoplastik bei Keratomykose

Quelle: Univ.-Augenklinik, Medizinische Universität Graz

Bei besonders fulminanten Verläufen mit der Beteiligung von intraokulären Strukturen kann eine Eviszeration oder eine Enukeation erforderlich sein.

Trotz Fortschritten in der Diagnostik und Therapie ist bei 15 - 27 % der Patienten ein chirurgischer Eingriff notwendig. Das Therapieergebnis ist letztendlich von vielen Faktoren wie dem Erreger, dem Wirt, der frühzeitigen Erkennung und prädisponierenden Faktoren abhängig. (7,26)

8.2.7 Korneales Crosslinking (CXL)

Beim Kornealen Crosslinking wird mit Hilfe von UVA- Strahlung und Riboflavin eine Quervernetzung der Kollagenfasern ausgelöst. Diese Behandlungsmethode wird bei bakteriellen Infektionen bereits erfolgreich angewendet, bei Pilzinfektionen ist die Datenlage allerdings noch zu gering und erste Studien zeigen eine schlechtere Wirksamkeit als bei bakteriellen Infektionen, weshalb die Therapie derzeit nicht empfohlen wird. (7,13)

9 Retrospektive Studie an der Univ.-Augenklinik Graz

Die Studie untersuchte die Entwicklung der Pilzkeratitis-Fälle von 01.01.2007-31.12.2019 an der Univ.-Augenklinik Graz. Die Hauptzielgröße der Studie war die Entwicklung der Fallzahlen der verschiedenen Pilzarten bei Patient*innen mit Pilzkeratitis im Versorgungsgebiet der Univ.-Augenklinik Graz. Als Nebenzielparameter wurden Alter, Geschlecht, Risikofaktoren, Diagnostikmethoden, Therapieformen, Anfangs- und Endvisus, stationäre/ambulante Behandlung und die Behandlungsdauer erhoben und untersucht.

9.1 Material und Methoden

9.1.1 Patient*innenkollektiv

In dieser Studie wurden alle Patient*innen eingeschlossen, die im Zeitraum von 01.01.2007-31.12.2019 an der Univ.-Augenklinik Graz mit einer Pilzkeratitis behandelt wurden. Die Pilzinfektion wurde mittels Direktfärbung, Kultur oder PCR nachgewiesen, wobei die Pilze in mindestens einer der Untersuchungsmethoden zu identifizieren waren und der klinische Befund der Patient*innen zur Diagnose passte. Die untersuchten Proben stammten von Direktabstrichen der Hornhaut und/oder dem Kontaktlinsenbehälter, falls dieser vorhanden war. Für das Erheben und die Auswertung der Daten wurde ein Ethikkommissionsvotum der Medizinischen Universität Graz eingeholt. Für die Nutzung der Daten war keine Einwilligung seitens der Patient*innen notwendig.

9.1.2 Datenerhebung

Alle Patient*innen, die an der Univ.-Augenklinik Graz behandelt werden, bekommen im Rahmen der Behandlung eine strukturierte klinische Untersuchung, die erhobenen Parameter werden im Klinik-PC-Programm EyMeD gespeichert. Die Patient*innen-Daten für die Studie wurden aus diesem Programm an der Univ.-Augenklinik Graz erhoben und in eine Excel Tabelle übertragen. Die Ergebnisse des Direktabstrichs wurden aus schriftlichen Dokumentationen des abteilungseigenen Labors der Univ.-Augenklinik Graz erhoben. Die Ergebnisse der Kultur- und PCR-Befunde waren ebenso im Programm EyMeD ersichtlich.

Folgende Daten wurden für die statistische Auswertung erhoben:

- Alter
- Geschlecht
- Datum der Erstvorstellung
- Anamnese bei erster Konsultation
- Kontaktlinsenträger*in Ja/Nein und die Art der Kontaktlinse
- Trauma in Anamnese Ja/Nein mit Beschreibung des Traumas
- Hornhautbefund an der Spaltlampe bei Erstvorstellung
- Hypopyon Ja/Nein
- Betroffenes Auge
- Datum des Hornhautabstrichs
- Dauer bis zur Diagnose in Tagen
- Ergebnis des Direktabstrichs mit Gram-, PAS- und LPCB-Färbung
- Ergebnisse der Hornhaut-, Bindehaut- und Kontaktlinsenbehälter-Kultur
- Stationäre oder ambulante Behandlung
- Dauer der stationären Behandlung in Tagen
- Medikamente der Lokalthherapie
- Vorderkammerspülung durchgeführt Ja/Nein
- Operation erforderlich, wenn ja welche Operation
- Datum des Behandlungsendes
- Endvisus

9.1.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde von Mag. Gerold Schwantzer vom Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Dokumentation durchgeführt. Dafür wurden die pseudonymisierten Daten der Patient*innen von einer Excel Tabelle in das Programm IBM SPSS Statistics 26 (Release 26.0.0.0 2019. Armonk (NY), USA: International Business Machines Corporation) übertragen und ausgewertet. Für die Auswertung der Daten wurde vorwiegend die deskriptive Statistik herangezogen. Außerdem wurde der Chi Quadrat Test, der Mann-Whitney U Test sowie die logistische Regression verwendet. Für die Definition der statistischen Signifikanz wurden p Werte $\leq 0,05$ herangezogen.

9.2 Ergebnisse der statistischen Auswertung

9.2.1 Deskriptive Statistik

Im betrachteten Untersuchungszeitraum von 01.01.2007-31.12.2019 wurden 87 Patient*innen an der Univ.-Augenklinik Graz mit der Diagnose mykotische Keratitis behandelt, davon waren 47 Patientinnen (54%) weiblich und 40 Patienten (46%) männlich. Bei zwei Patient*innen waren beide Augen von einer Pilzinfektion betroffen. Das durchschnittliche Alter der Patient*innen zu Beginn der Erkrankung betrug 50,85 Jahre \pm 21,24 (range 7-88 Jahre).

Bei 46 Patient*innen (52,9%) war das linke Auge betroffen und bei 39 (44,8%) das rechte Auge, in zwei Fällen (2,3%) kam es zur Infektion beider Augen.

Als Risikofaktoren wurden die beiden Parameter „Trauma in der Anamnese“ und die „Verwendung von Kontaktlinsen“ erhoben. Vom Patient*innenkollektiv hatten 71,3% (n=62) zumindest einen Risikofaktor in der Anamnese. Von den 87 Patient*innen haben 39,1% (n=34) den Risikofaktor „Kontaktlinsenträger“ in der Anamnese, wodurch dies den häufigsten Risikofaktor unserer Patient*innen darstellt. Von den Kontaktlinsenträger*innen hatten 88,2% (n=30) weiche Kontaktlinsen in Verwendung, bei den übrigen vier Kontaktlinsenträger*innen wurde keine genaue Beschreibung der Kontaktlinsen angeführt. Der Risikofaktor eines Traumas war bei 33,3% (n=29) der Fallzahlen vorhanden.

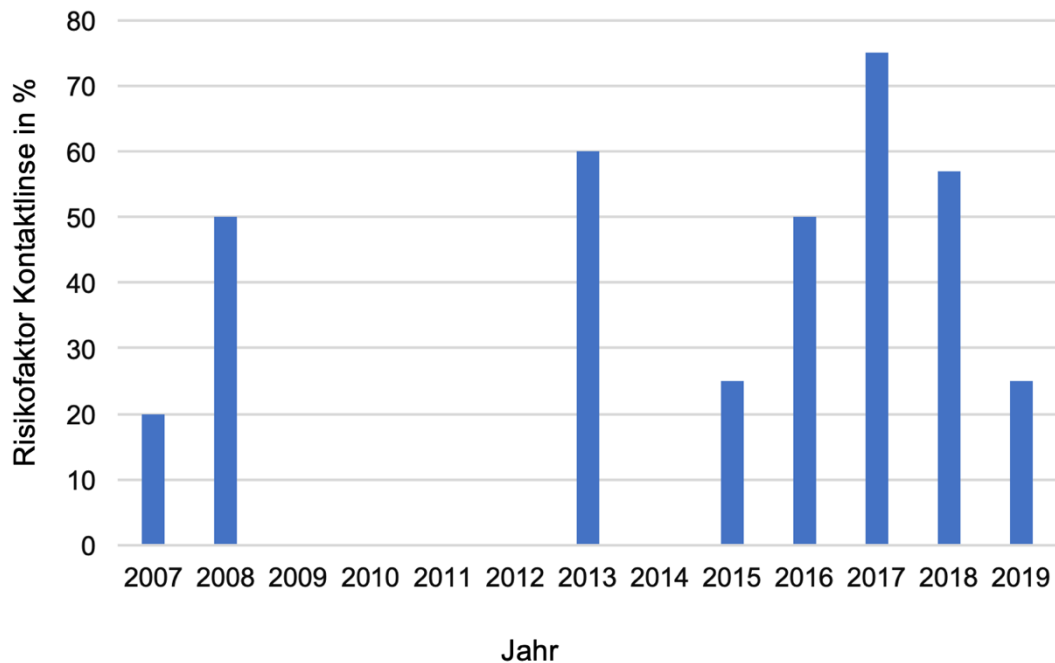


Abbildung 6: Anteil der Kontaktlinsenträger*innen im Verlauf

Bei 18 Patient*innen (20,7%) kam es im Verlauf der Erkrankung zur Ausbildung eines Hypopyons.

Die durchschnittliche Dauer bis zur Diagnose betrug 10,15 Tage \pm 29,04 (range 0-288 Tage), wobei bei 75% der Patient*innen die Diagnose innerhalb von sechs Tagen erfolgte.

Die Behandlung erfolgte bei 33 Patient*innen (37,9%) im ambulanten Setting, bei 54 Patient*innen (62,1%) war eine stationäre Aufnahme notwendig.

Die durchschnittliche stationäre Behandlungsdauer betrug 21,52 Tage \pm 18,99 (range 1-84 Tage). Dabei ist anzumerken, dass die Tage der stationären Behandlung zusammengezählt wurden, so setzt sich beispielsweise die maximale stationäre Behandlungsdauer von 84 Tagen aus 10 einzelnen Aufenthalten zusammen.

Für die Diagnostik wurden die Ergebnisse der Direktfärbung, die Pilzkultur und die PCR-Ergebnisse herangezogen. Bei 75 Patient*innen (86,2%) wurden Pilze im Direktabstrich mittels der PAS-Färbung nachgewiesen, bei acht Studienteilnehmer*innen (9,2%) konnten keine Pilze in der PAS-Färbung

nachgewiesen werden und bei vier Personen (4,6%) wurde keine PAS-Direktfärbung durchgeführt. Die LPCB-Färbung war bei 17 Patient*innen (19,5%) positiv auf Pilze und bei zwei Patient*innen (2,3%) positiv auf Akanthamöbenzysten. Somit ist bei zwei Patient*innen von einer Mischinfektion mit Akanthamöben auszugehen, obwohl die Erreger in keinem Fall mittels PCR nachgewiesen werden konnten.

Die Pilzkultur des Direktabstrichs erwies sich bei 31 Patient*innen (35,6%) positiv auf ein Pilzwachstum, die Pilzart konnte nur bei 30 Patient*innen (34,5%) festgestellt werden, da bei einem Patienten eine Identifikation aufgrund von zu viel Bakterienwachstum nicht möglich war. Bei der Pilzkultur-Untersuchung der Kontaktlinsenbehälter konnten bei elf Patient*innen Pilze nachgewiesen werden.

Zusätzlich wurde im Rahmen der Datenerhebung die Bakterienkultur miterfasst, wobei bei 47 Patient*innen (54,0%) in der Kultur Bakterien nachgewiesen werden konnten.

Die PCR-Untersuchung auf Pilze wurde insgesamt bei elf Patient*innen (12,6%) durchgeführt. Bei sechs Patient*innen (6,9%) konnten Pilze nachgewiesen und die Pilzart bestimmt werden.

Bei zwei Patient*innen (2,3%) konnte zusätzlich zu der Pilzinfektion eine Herpes Simplex Virus 1 Infektion mittels PCR nachgewiesen werden.

In Zusammenschau der Befunde von Kultur der Abstriche und Kontaktlinsenbehälter sowie der Pilz-PCR konnte bei 39 Patient*innen (44,8%) die Pilzart bestimmt werden.

Für die Betrachtung der identifizierten Pilze wurden die Daten in die beiden Gruppen „Patient*innen-Daten“ und „Pilz-Daten“ aufgeteilt und getrennt betrachtet, da bei manchen Patient*innen mehr als ein Pilz nachgewiesen wurde. Somit ist es sinnvoll die beiden Gruppen getrennt anzuführen.

Es erfolgte die Einteilung der Pilze der **Patient*innen-Daten** in die Gruppen *Faden/Schimmelpilz*, *Hefe/Sprosspilz* und *Sonstige*. Von den identifizierten Pilzarten der 39 Patient*innen fanden sich bei 18 Patient*innen (46,2%) *Faden/Schimmelpilze* und auch bei 18 Patient*innen (46,2%) *Hefe/Sprosspilze*. Bei einem

Patienten (2,6%) wurden Pilze beider Gruppen identifiziert. Bei zwei Patient*innen (5,1%) konnten die Pilzarten zu keiner der beiden Gruppen zugeordnet werden und wurden somit als *Sonstige* klassifiziert.

Eine weitere Einteilung erfolgte anhand der häufigsten Pilzgattungen (*Candida* spp. Fusarien spp., *Aspergillus* spp. und *Sonstige*). Von den 39 eingeschlossenen Patient*innen waren 18 Studienteilnehmer*innen (46,2%) mit *Candida* infiziert, acht Patient*innen (20,5%) waren von Fusarien betroffen und fünf Patient*innen (12,8%) von *Aspergillus*. Bei sechs Patient*innen (15,4%) konnte die Pilzart zu keiner der genannten Gattungen zugeteilt werden und wurde somit als *Sonstige* beschrieben. Bei einer Patientin (2,6%) wurden sowohl Fusarien als auch ein „sonstiger“ Pilz nachgewiesen und bei einem weiteren Patienten (2,6%) *Aspergillus* und *Candida* spp..

Bei Betrachtung der **Pilz-Daten**, wurden insgesamt 41 Pilze identifiziert. Davon wurden 20 Pilzarten (48,8%) der Gruppe der *Faden/Schimmelpilze* zugeschrieben und 19 Pilzarten (46,3%) der Gruppe der *Hefe/Sprosspilze*. Zwei Pilze (4,9%) konnten zu keiner der beiden Gruppen zugeteilt werden und werden somit als *Sonstige* gewertet.

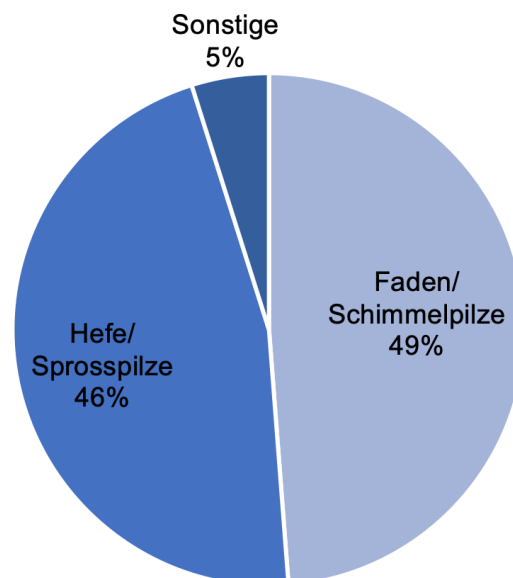


Abbildung 7: Häufigkeiten der nachgewiesenen Erregergruppen „Pilz-Daten“

Bei Betrachtung der Gattungseinteilung aller 41 identifizierten Pilze wurden 19 Pilze (46,3%) der Gattung *Candida* zugeteilt, neun Pilze (22,0%) den Fusarien und sechs Pilze (14,6%) der Gattung *Aspergillus*. Die sieben (17,1%) als Sonstige gewerteten Pilze konnten keiner der 3 Gattungen zugeordnet werden.

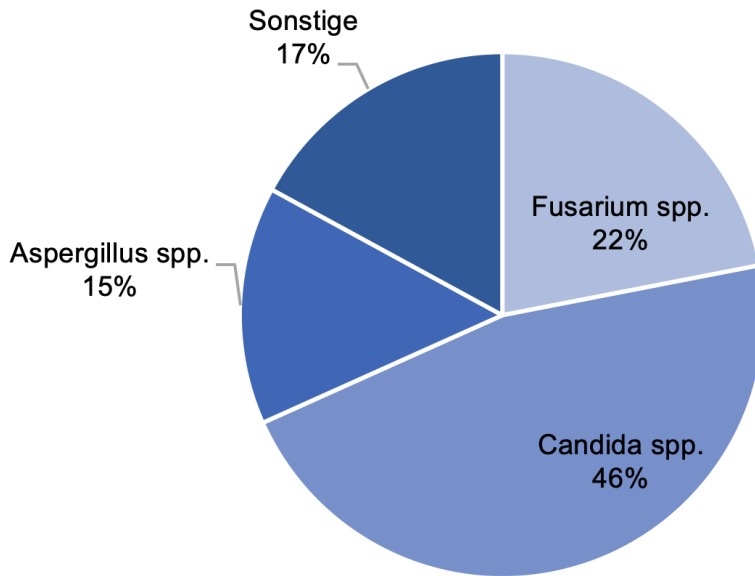


Abbildung 8: Häufigkeiten der Pilzgattungen „Pilz-Daten“

	Pilz Art	Pilz Art			Gesamt
		Faden- /Schimmelpilz	Hefe- /Sprosspilz	Sonstige	
Pilz Gattung	Fusarien spp.	9			9
	Aspergillus spp.	6			6
	Candida spp.		19		19
	Sonstige	5		2	7
Gesamt		20	19	2	41

Tabelle 3: Einteilung der 41 identifizierten Pilze in Gattungen (Pilz-Daten)

Die topische Therapie erfolgte mit den drei großen Arzneimittelgruppen Antimykotika, Antibiotika und Kortikosteroiden. Die verschiedenen Wirkstoffe wurden jeweils zusammengefasst statistisch untersucht. Bei 76 Patient*innen (87,4%) wurden Antimykotika zur Therapie angewandt, 85 Patient*innen (97,7%) wurden antibiotisch behandelt und Kortikosteroide kamen bei 55 Patient*innen (63,2%) zum Einsatz. Zur antimykotischen Therapie wurden die Wirkstoffe Voriconazol, Amphotericin B, Natamycin und Fluconazol verwendet. Von den 87 in die Studie eingeschlossen Patient*innen wurden 66 (75,9%) mit Voriconazol behandelt, bei neun Patient*innen (10,3%) kam Amphotericin B zum Einsatz. Der Wirkstoff Natamycin wurde ebenfalls bei neun Patient*innen (10,3%) verwendet und Fluconazol kam bei drei Patient*innen (3,4%) zur Anwendung.

Da bei zwei Patient*innen (2,3%) zusätzlich Akanthamöbenzysten identifiziert wurden, wurden diese als Mischinfektion betrachtet und mit den Medikamenten Brolene und Lavanid topisch mitbehandelt. Eine Patientin erhielt die topische Therapie mit Lavanid Augentropfen. Die zweite Patientin erhielt Lavanid und zusätzlich Brolene Augentropfen.

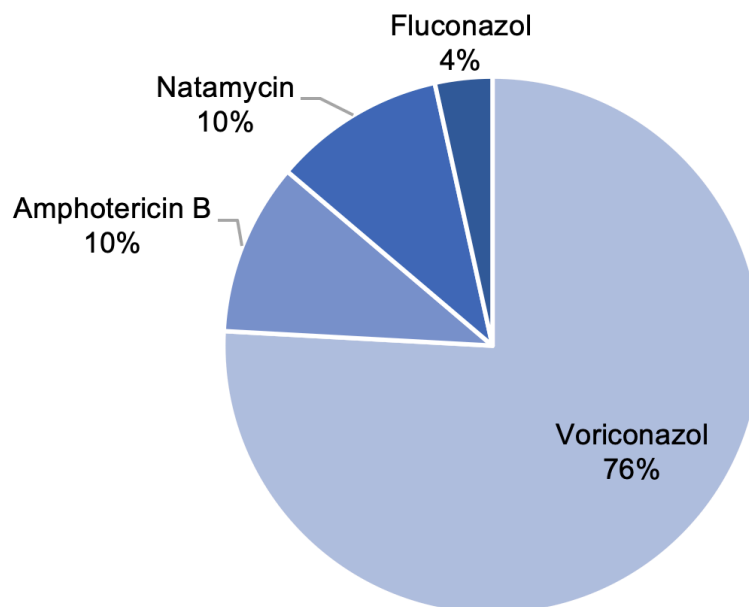


Abbildung 9: Aufteilung der verwendeten Antimykotika

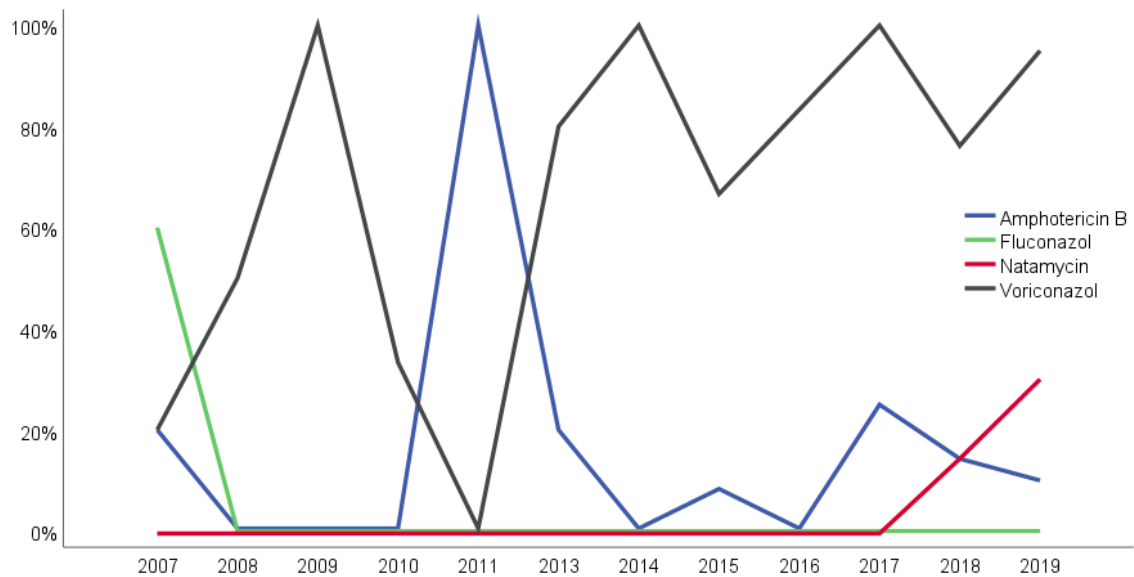


Abbildung 10: Verlauf der verwendeten Antimykotika

Bei 27 Patient*innen (31%) war im Verlauf auch eine Operation am Auge notwendig. Die operativen Eingriffe beinhalten Amnionmembran-Aufnahmen und perforierende Keratoplastiken. Die Keratoplastikrate liegt mit 20 Fällen bei 23%.

Eine diagnostische/therapeutische Vorderkammerspülung war bei 13 Patient*innen erforderlich (14,9%).

Bei einer Patientin war eine Enukleation des Auges notwendig, also die vollständige Entfernung des Augapfels. Bei einem weiteren Patienten wurde eine Eviszeration des Auges durchgeführt, dabei wird nicht das gesamte Auge entfernt, sondern nur die Hornhaut sowie das Augeninnere.

Für die Betrachtung des Endvisus, also der Sehschärfe nach Abschluss der medikamentösen und chirurgischen therapeutischen Maßnahmen, wurden die Werte in drei Gruppen eingeteilt. Die erste Gruppe umfasst die Sehschärfen von Lichtempfinden (LE), Handbewegungen (HB), Fingerzählen (FZ) bis inklusive alle 1m Visus. Die Gruppe 2 umfasst Visuswerte ab 0,05 bis $\leq 0,49$ und die dritte Gruppe ist durch einen Visus $\geq 0,5$ definiert. Insgesamt konnte bei 69 Patient*innen der Endvisus erhoben werden. In der Gruppe 1 waren neun Patient*innen (13,0%) inkludiert, die Gruppe 2 beinhaltet 31 Patient*innen (44,9%) und 26 Patient*innen

(42%) hatten eine Endsehschärfe von größer gleich 0,5 und gehörten somit der Gruppe 3 an.

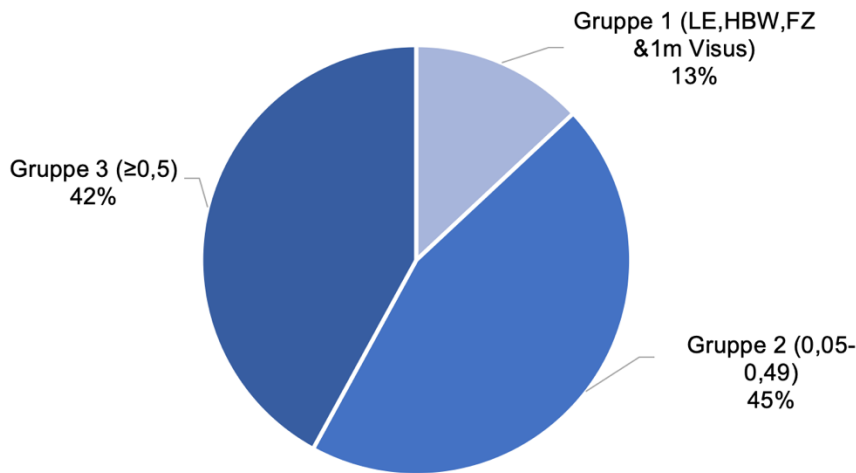


Abbildung 11: Aufteilung in Visusgruppen 1-3

Gruppe 1 beinhaltet Visus Lichtempfinden, Handbewegungen, Fingerzählen und alle 1m Visus, die Gruppe 2 beinhaltet Visus von 0,05-0,49, die Gruppe 3 beinhaltet Visus größer gleich 0,5

9.2.2 Verlauf der Anzahl an Pilzkeratitis-Fällen

Die Hauptzielgröße der Studie war es, den Verlauf der Pilzkeratitis-Fälle von 01.01.2007-31.12.2019 im Versorgungsgebiet der Univ.-Augenklinik Graz zu untersuchen.

Die Anzahl der Pilzkeratitis-Fälle ist im Untersuchungszeitraum nicht gleich verteilt ($p < 0,001$), die Jahre unterscheiden sich in der Anzahl der Fälle. In späteren Jahren des Auswertungszeitraumes kam es zu einem vermehrten Auftreten von Pilzkeratitiden, die Anzahl ist im Verlauf gestiegen.

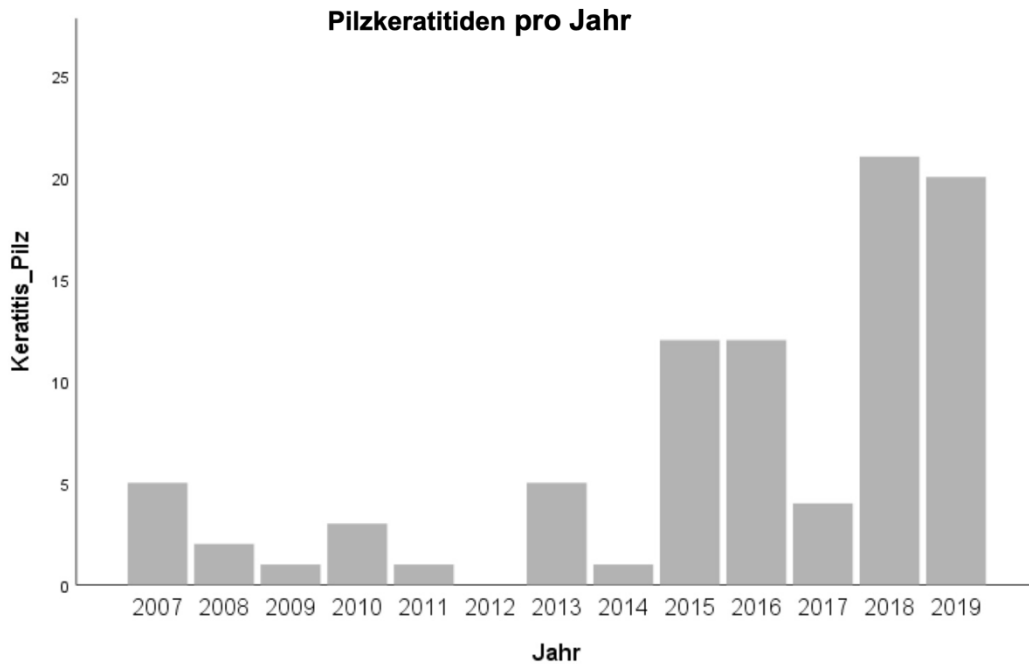


Abbildung 12: Verlauf der Anzahl an Pilzkeratitis-Fällen

Die Interpretation der Grafik zeigt einen Anstieg der Anzahl an Pilzkeratitiden im Verlauf.

Zusätzlich zu dem Verlauf der Pilzkeratitis-Fälle wurde die Anzahl der Gesamtkeratitiden untersucht, dabei zeigte sich auch hier ein Anstieg der Gesamtkeratitis-Fälle im Untersuchungszeitraum.

Für die Modellierung der Anzahl an Fällen pro Jahr wurde die Poisson- Regression herangezogen, die Anzahl der Pilzkeratitis-Fälle stieg statistisch signifikant an. Mit jedem Kalenderjahr um 1,26 Fälle (95% CI 1,18-1,359) ($p < 0,001$).

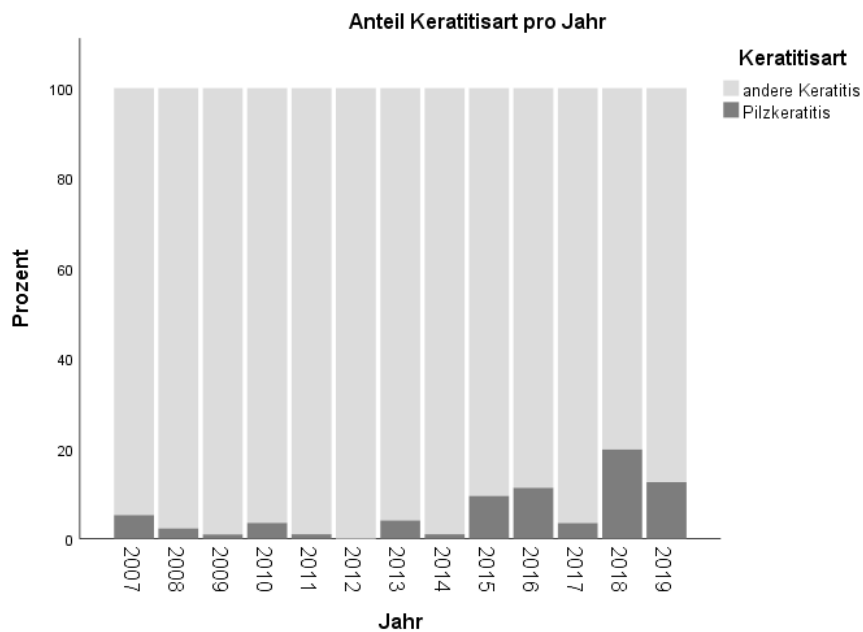


Abbildung 13: Anteil der Pilzkeratitiden pro Jahr

Jahr	Pilzkeratitis		andere Keratitiden		Gesamt-Keratitiden	
	n	%	n	%	n	%
2007	5	5.3%	90	94.7%	95	100.0%
2008	2	2.3%	85	97.7%	87	100.0%
2009	1	1.0%	103	99.0%	104	100.0%
2010	3	3.5%	82	96.5%	85	100.0%
2011	1	1.0%	99	99.0%	100	100.0%
2012	0	0.0%	112	100.0%	112	100.0%
2013	5	4.1%	118	95.9%	123	100.0%
2014	1	1.0%	97	99.0%	98	100.0%
2015	12	9.5%	114	90.5%	126	100.0%
2016	12	11.3%	94	88.7%	106	100.0%
2017	4	3.5%	111	96.5%	115	100.0%
2018	21	19.8%	85	80.2%	106	100.0%
2019	20	12.6%	139	87.4%	159	100.0%
Gesamt	87	6.1%	1329	93.9%	1416	100.0%

Tabelle 4: Anteil der Pilzkeratitiden im Verlauf

Die Tabelle zeigt einen Anstieg des Anteils der Pilzkeratitis-Fälle in späteren Jahren des Auswertungszeitraumes.

9.2.3 Betrachtung der Labordiagnostik: Bei wie vielen positiven PAS-Färbungen konnte die Pilzart in der Kultur oder PCR bestätigt werden?

Von den 87 Patient*innen wurden in 86,2% (n=75) Pilze in der PAS-Färbung nachgewiesen. Die weiterführende Diagnostik mittels Pilzkultur oder PCR dient zur Bestätigung der Diagnostik und vor allem zur Identifikation der Pilzart. Bei 44,8% (n=39) der Patient*innen konnte die Pilzart in der weiterführenden Diagnostik bestimmt werden.

Die Pilzkultur-Zusammenschau des Hornhautabstrichs und/oder des Kontaktlinsenbehälters war bei 37 Patient*innen (42,5%) positiv auf ein Wachstum. Die Hornhautkultur allein war bei 31 Patient*innen (35,6%) positiv, die KL-Behälterkultur bei 11 Patient*innen (12,6%). Mittels PCR konnten bei 6 Patient*innen (6,9%) Pilze nachgewiesen werden.

9.2.4 Haupterreger im Untersuchungszeitraum

Insgesamt konnten im Untersuchungszeitraum 41 Pilze identifiziert werden. Mit 46,3% (n=19) war die Pilzgattung *Candida* spp. am häufigsten vertreten, gefolgt von der Pilzgattung *Fusarien* spp. mit 22,0% (n=9). Die Gattung *Aspergillus* spp. war mit 14,6% (n=6) am dritthäufigsten vertreten. Die weiteren sieben identifizierten Pilze (17,1%) wurden in der Gruppe „Sonstige“ zusammengefasst, dazu zählen Gattungen wie *Alternaria* spp. oder *Eutypa* spp..

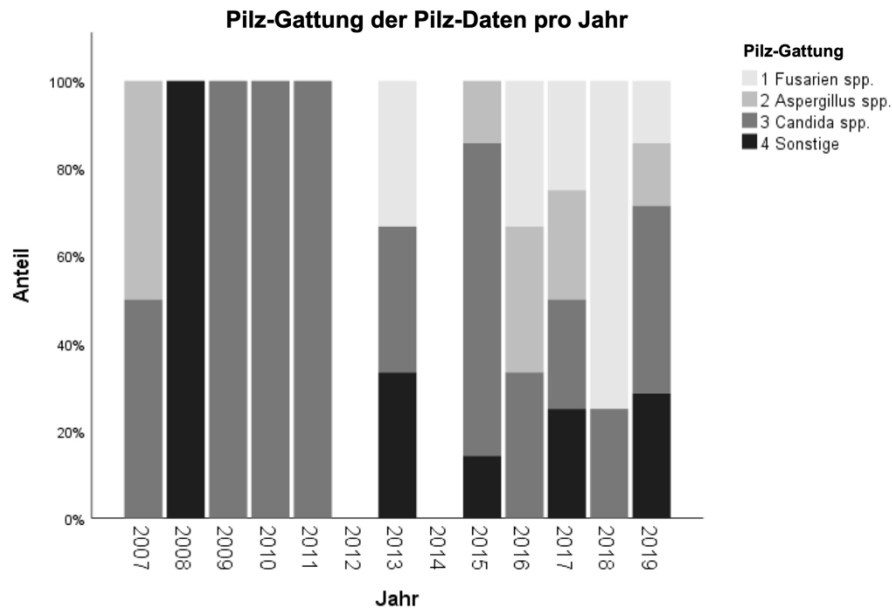


Abbildung 14: Verteilung der einzelnen Pilzgattungen

In der Grafik lässt sich erkennen, dass ab dem Jahr 2013 die Gattung Fusarien erstmals nachgewiesen wurde und in den letzten Jahren vermehrt aufgetreten ist.

Pilz Gattung Pilzebene		2007	2008	2009	2010	2011	2013	2015	2016	2017	2018	2019	Gesamt
1 Fusarien spp.	n	0	0	0	0	0	2	0	2	1	3	1	9
	col%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	33.3%	0.0%	33.3%	25.0%	75.0%	14.3%	22.0%
2 Aspergillus spp.	n	1	0	0	0	0	0	1	2	1	0	1	6
	col%	50.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	14.3%	33.3%	25.0%	0.0%	14.3%	14.6%
3 Candida spp.	n	1	0	1	2	1	2	5	2	1	1	3	19
	col%	50.0%	0.0%	100%	100%	100%	33.3%	71.4%	33.3%	25.0%	25.0%	42.9%	46.3%
4 Sonstige	n	0	1	0	0	0	2	1	0	1	0	2	7
	col%	0.0%	100%	0.0%	0.0%	0.0%	33.3%	14.3%	0.0%	25.0%	0.0%	28.6%	17.1%
Gesamt	n	2	1	1	2	1	6	7	6	4	4	7	41
	col%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabelle 5: Häufigkeiten der Gattungen

9.2.5 Altersverteilung der Pilzkeratitis

Für die Beurteilung der Altersverteilung wurden das Stamm-Blatt-Diagramm sowie Grafiken verwendet. Es sind drei Altersgipfel erkennbar, der erste Gipfel liegt bei 25 (22-26) Jahren, der nächste Gipfel liegt bei 65 Jahren (66-68). Außerdem ist bei 80 Jahren (80-82) ein dritter Gipfel erkennbar. Bezüglich der unterschiedlichen Pilzgattungen und der Pilzart sind keine signifikanten Unterschiede in den Altersgruppen erhebbbar.

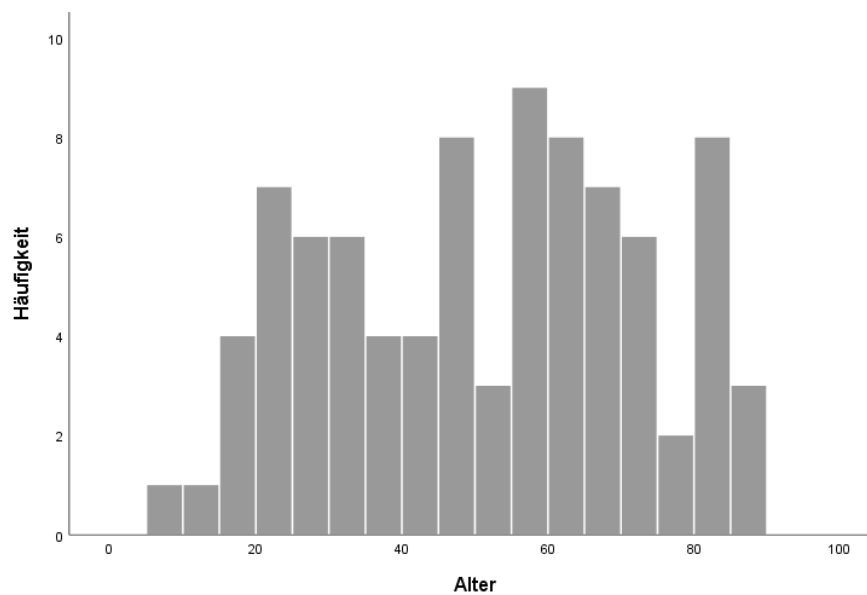


Abbildung 15: Histogramm der Altersverteilung (Klassenbreite 5 Jahre)

9.2.6 Stationäre Behandlung und Behandlungsdauer

Eine stationäre Behandlung war bei 62,1% (n=54) der Patient*innen notwendig, 37,9% (n=33) konnten ambulant geführt werden. Die durchschnittliche stationäre Aufenthaltsdauer liegt bei 21,52 Tagen \pm 18,99 (range 1-84 Tage), wobei hier anzumerken ist, dass die Tage mehrerer stationärer Behandlungen zusammengezählt wurden.

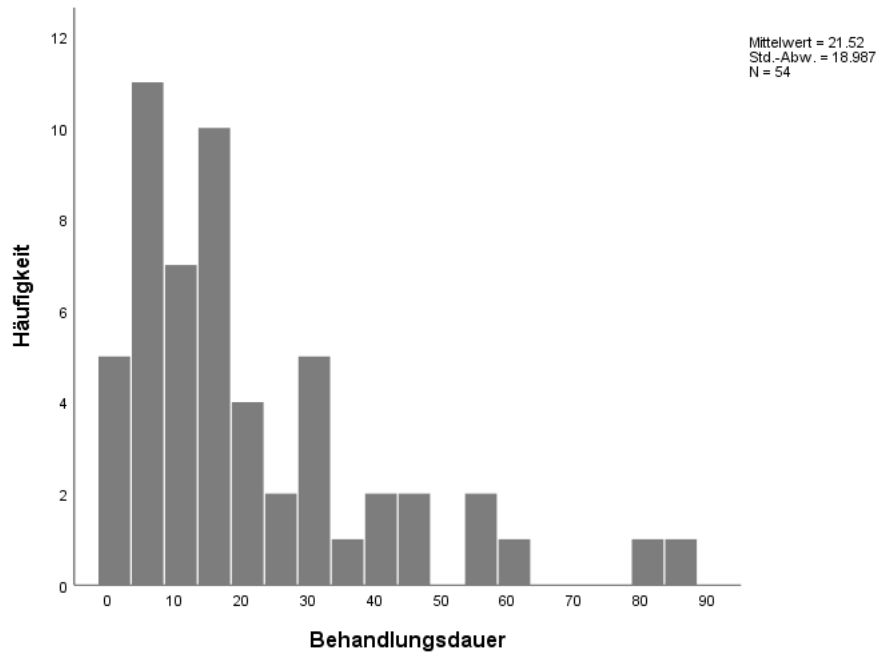


Abbildung 16: Stationäre Behandlungsdauer in Tagen

10 Diskussion

Wie bereits in der Einleitung erläutert, ist die Pilzkeratitis eine in Europa seltene Form der Keratitis, die allerdings oft mit schwerwiegenden Verläufen einhergeht und somit regelmäßig Herausforderungen für die behandelnden Ärzt*innen darstellt. Typischerweise sind Pilzkeratitiden vor allem in ländlichen, tropischen und subtropischen Gebieten beheimatet. Aktuelle Studien zeigen jedoch, dass in den letzten Jahren ein Anstieg der mykotischen Keratitiden im städtischen Bereich von Industriestaaten zu verzeichnen war. In Deutschland erfolgte aus diesem Anlass bereits die Gründung eines Pilz-Keratitis-Registers (12), um eine gezielte Datenerfassung und Untersuchung zu ermöglichen. Die aktuellen Entwicklungen führten zu dem Anlass, auch an der Univ.-Augenklinik Graz eine Evaluierung der mykotischen Keratitiden, im Rahmen einer retrospektiven Studie zu initiieren.

Die Entwicklung der Fallzahlen im Untersuchungszeitraum stellt die Hauptzielgröße der Studie dar. Dabei konnte, wie in vergleichbaren europäischen Studien auch im Versorgungsgebiet der Univ.-Augenklinik Graz ein statistisch signifikanter Anstieg der Pilzinfektionen verzeichnet werden. Zwar stieg auch die Anzahl der Gesamtkeratitiden, dennoch zeigte sich ein signifikanter Anstieg des Anteils der Pilzkeratitiden.

In Industriestaaten beträgt der Anteil der Pilzkeratitiden von den infektiösen Gesamtkeratitiden 1-10% (12). In tropischen Gebieten ist der Anteil deutlich höher, so sind beispielsweise in Indien Pilze für bis zu 50% der Keratitiden verantwortlich (27). In Graz wurde 2018 der höchste Anteil von 19,8% erreicht, was für gemäßigte Zonen untypisch hoch ist. Eine mögliche Ursache neben dem vermehrten Auftreten von Pilzinfektionen ist wahrscheinlich der Umstand, dass viele, vor allem bakterielle Keratitiden, im niedergelassenen Bereich oder anderen Krankenhäusern behandelt werden und somit nicht in den Zahlen der Universitätsklinik aufscheinen. Somit sind überproportional viele Patient*innen mit Keratitiden mykotischer Genese im LKH-Graz in Behandlung. Durch das Fehlen der Gesamtdaten für das Versorgungsgebiet der Univ.-Augenklinik Graz sind die Anteile für das Auftreten in der Gesamtbevölkerung nicht repräsentativ.

Aufgrund der steigenden Fallzahlen werden Augenärzte in Graz immer häufiger mit den diagnostischen und therapeutischen Schwierigkeiten der mykotischen Keratitis konfrontiert. Es bleibt abzuwarten, wie sich dieser Trend weiterentwickelt und welchen Stellenwert die Pilzkeratitis unter den infektiösen Keratitiden in Zukunft einnimmt.

10.1 Diagnostik

Bei entsprechender Klinik und dem Verdacht auf eine infektiöse Keratitis erfolgt in Graz für die weitere Diagnostik eine Gewinnung von Probenmaterial mithilfe eines Hockey-Messers. An der Univ.-Augenklinik Graz erfolgt die Diagnostik einerseits mittels Direktfärbung im abteilungseigenen Labor und andererseits mit dem diagnostischen Goldstandard der Kulturanzüchtung im Institut für Krankenhaushygiene und Mikrobiologie (IKM). Die Pilz-PCR-Untersuchungen erfolgten im Diagnostik-und Forschungsinstitut für Pathologie.

In Graz konnten bei 86,2% der Patient*innen Pilze in der Direktfärbung nachgewiesen werden, die Pilzkultur der Hornhaut war hingegen nur bei 35,6% positiv auf ein Pilzwachstum. Die Zahlen unterstreichen den Stellenwert der Direktfärbung in der Diagnostik und verdeutlichen die geringe Sensitivität der Kulturanzüchtung. Ein weiterer Vorteil der Direktfärbung ist die sehr schnelle Verfügbarkeit der Ergebnisse, wodurch eine rasche antimykotische Behandlung erst möglich ist. Ein Nachteil der Direktfärbung ergibt sich aus der fehlenden Möglichkeit der Pilzartbestimmung. Somit bietet der Einsatz beider Untersuchungen, wie es in Graz derzeit gehandhabt wird, eine sinnvolle ergänzende Möglichkeit der Diagnostik.

Ein neues, mittlerweile gut etabliertes, sehr sensibles diagnostisches Werkzeug ist die PCR-Untersuchung. Auch diese sollte bei klinischem Verdacht bzw. bei positiver Direktfärbung veranlasst werden, um die Pilzart zu bestimmen. Es ist bereits mit geringen Mengen an Untersuchungsmaterial möglich, die Pilzart schnell und sicher nachzuweisen und die Ergebnisse stehen rasch zur Verfügung. Auch wenn PCR-Untersuchungen mit relativ hohen Kosten einhergehen, sollten diese, bei Verdacht auf Pilzkeratitis, angesichts der Visus-bedrohenden Folgen auf jeden Fall durchgeführt werden. In Graz wurde vor allem seit dem Jahr 2019 vermehrt auf die diagnostische Möglichkeit der PCR zurückgegriffen.

Die Relevanz der Direktfärbung spiegelt sich auch in der Zeit bis zur Diagnose wieder, so liegt diese bei der Auswertung des deutschen Pilz-Keratitis-Registers(12) bei 31,7 Tage \pm 46,9, in Graz hingegen konnte ein vergleichsweise niedriger Wert von 10,15 Tagen \pm 29,036 erreicht werden. Die rasche Diagnose und zielgerichtete Behandlung ist ein wichtiger prognostischer Faktor für den Krankheitsverlauf.

An diesem Punkt ist anzumerken, dass sich die Diagnostik und somit auch die Einschlusskriterien in den unterschiedlichen Kliniken bzw. Studien oft stark unterscheiden. So ist auch die Definition für die Diagnose der Pilzkeratitis sehr unterschiedlich. In dieser Studie wurde die Diagnose bei passendem klinischem Befund und dem Nachweis von Pilzen in der Direktfärbung, Kultur oder PCR gestellt. In anderen Studien waren nur Patient*innen eingeschlossen, bei denen Pilze in der Kulturanzüchtung gefunden wurden.

Eine schnell verfügbare Untersuchung, die zunehmend an Bedeutung gewinnt, ist die in vivo konfokale Mikroskopie (IVCM). Beim Einsatz durch erfahrene Ärzt*innen liegt die Sensitivität zwischen 80-94% und ist somit verglichen mit der Kulturanzüchtung sehr hoch. Somit sollte diese Form der Diagnostik bei jedem Verdacht auf eine mykotische Keratitis ergänzend erfolgen und gewinnt dadurch auch an der Univ.-Augenklinik Graz zunehmend an Bedeutung.(20) Im Rahmen dieser Studie konnten noch keine Ergebnisse der IVCM erhoben werden, da der Einsatz dieses diagnostischen Instruments an der Univ.-Augenklinik Graz erst ab dem Jahr 2019 möglich ist.

10.2 Risikofaktoren

Im Rahmen der Studie wurden die beiden häufigsten Risikofaktoren, Kontaktlinsen- und Trauma-Anamnese untersucht. Wie auch bei vergleichbaren Studien zu beobachten, war auch in Graz das Tragen von Kontaktlinsen mit 39,1% der häufigste Risikofaktor. Verglichen mit den Daten des „Deutschen Pilz-Keratitis-Registers“ ist dies allerdings geringer ausgeprägt, so waren es im deutschen Vergleich 56,8% Kontaktlinsenträger*innen. Auffallend war auch, dass fast ausschließlich weiche Kontaktlinsen (88,2%) für die Begünstigung der Infektion verantwortlich waren. Die weiche Oberflächenbeschaffenheit scheint eine optimale Matrix für die Einnistung der Pilze darzustellen und somit die Infektionen zu begünstigen. Neben der Oberflächenbeschaffenheit ist auch der Umgang mit den

Linsen und die oft mangelnde Hygiene ein wesentlicher beeinflussbarer Faktor für die Begünstigung einer Keratitis. Ein genaues Aufklären über die richtige Anwendung von weichen Kontaktlinsen ist eine sinnvolle und einfache präventive Maßnahme.

In den 50er, 60er und 70er Jahren waren vor allem noch Traumata im landwirtschaftlichen Bereich für Pilzinfektionen verantwortlich, heute stellt das „Trauma“ mit 33,3% nicht mehr den Hauptrisikofaktor dar, ist im Versorgungsgebiet des LKH Graz aber nach wie vor häufig in der Anamnese erhebbar.(25) Der europäische Trend von vermehrten Kontaktlinsen-assoziierten Infektionen ist im Untersuchungszeitraum nicht eindeutig erkennbar, was aber möglicherweise den relativ geringen Fallzahlen geschuldet ist.

10.3 Stationärer Aufenthalt und chirurgische Therapie

Aufgrund der Tatsache, dass die Pilzkeratitis eine schwerwiegende Infektion darstellt und verglichen zu anderen Keratitiden mit einer schlechteren Prognose einhergeht, ist eine stationäre Aufnahme oft unerlässlich. Bei den Patient*innen unserer Studie war ein stationärer Aufenthalt in 62,1% notwendig, was in etwa dem Anteil der vergleichbaren Studie von Iselin et al. in Luzern entspricht (64,7%).(11) Bemerkenswert ist allerdings die lange durchschnittliche Behandlungszeit von 21,52 Tagen, wodurch die Schwierigkeiten in der Behandlung der Pilzkeratitis nochmal verdeutlicht werden. Die durchschnittliche Behandlungszeit setzt sich bei einigen Patient*innen aus mehreren Aufenthalten zusammen, so waren bis zu 10 stationäre Aufenthalte über Jahre hinweg für die Behandlung notwendig.

Bei 31% unseres Patient*innen-Kollektivs war ein operativer Eingriff notwendig, wobei bei 23% eine Keratoplastik erfolgte. Somit ist die Keratoplastikrate verglichen mit dem deutschen Pilz-Keratitis-Register sehr niedrig, in Deutschland erfolgte bei 65,7% der Patient*innen eine Keratoplastik. (12) Auch die Eviszeration/Enukleation war in Graz nur in 2,3% notwendig, im Pilz-Keratitis-Register hingegen bei 8,8%.

10.4 Erregerspektrum

Von den 41 identifizierten Pilzen ist die Gattung Candida mit 46,3% am häufigsten vertreten, vor allem am Anfang des Untersuchungszeitraums waren in einigen Jahren alle identifizierten Erreger dieser Gattung zuzuordnen und somit Candida

die dominierende Pilzart. Die dominierenden Pilzgattungen unterscheiden sich je nach Region stark, so ist beispielsweise in einer Studie aus Irland *Aspergillus* die dominierende Pilzgattung. (28) Im Deutschen Pilz-Keratitis-Register ist die Pilzgattung Fusarien am häufigsten vertreten, dicht gefolgt von *Candida*. (12) In einer Studie aus London wiederum ist wie auch in Graz *Candida* am häufigsten nachgewiesen worden.(29)

Im Jahr 2013 wurden in Graz erstmals Erreger der Gattung Fusarien nachgewiesen, ab diesem Zeitpunkt ist ein Anstieg dieser filamentösen Pilzkeratitis zu verzeichnen, so waren im Jahr 2018 Fusarien die häufigste identifizierte Pilzgattung. Insgesamt waren 22% der nachgewiesenen Pilze dieser Gattung zuzuordnen. Wie auch in anderen Industriestaaten zu beobachten, steigt der Anteil der Fusarien-Keratitiden und es zeichnet sich ein Wechsel des Erregerspektrums ab. (30–32) Besonders bei Fusarien-Keratitiden gestaltet sich der Erregernachweis schwierig und die Pilze weisen oft Resistenzen gegenüber der antimykotischen Therapie auf. Die damit einhergehende schlechte Prognose und die steigenden Fallzahlen verdeutlichen die zukünftigen Schwierigkeiten in der Handhabung von Pilzkeratitiden. (33)

Dieser Trend der zunehmenden Fallzahlen an Pilzkeratitiden und der Veränderung des Erregerspektrums wird mit dem vermehrten Einsatz von weichen Kontaktlinsen in Verbindung gebracht. Auch in Graz waren 88,2% der Kontaktlinsen assoziierten Fälle mit weichen Kontaktlinsen in Verbindung zu bringen. Allerdings veränderte sich der Anteil an Kontaktlinsen-Träger*innen im Untersuchungszeitraum nicht wesentlich, was den zu geringen Fallzahlen geschuldet sein könnte.

Eine Limitierung hinsichtlich der Untersuchung des Erregerspektrums ergibt sich durch den relativ geringen Anteil an identifizierten Pilzarten. Lediglich bei 44,8% des Studienkollektivs konnte die Pilzart durch Kultur oder PCR bestimmt werden.

10.5 Therapie

Die topische Therapie erfolgte mit den drei Medikamentengruppen Antimykotika, Antibiotika und Kortikosteroiden. Die Gruppe der Antibiotika wird beim Verdacht auf eine Keratitis fast immer initial eingesetzt, da den meisten Keratitiden eine bakterielle Genese zugrunde liegt. Außerdem ist im Rahmen einer Pilzinfektion die Mitbehandlung einer Mischinfektion oder Prävention von bakteriellen

Sekundärinfektionen wichtig. In Graz wurden Antibiotika bei 97,7% der Patient*innen eingesetzt.

Von den in die Studie eingeschlossenen Patient*innen wurden 87,4% antimykotisch behandelt, was die Frage aufwirft, weshalb die anderen 12,6% keine antifungale Therapie erhalten haben. Dies ist möglicherweise durch Schwierigkeiten in der Diagnostik und der oft erst späten Diagnosestellung zu erklären.

Das am häufigsten eingesetzte topische Antimykotikum war mit 76% V-Fend mit dem Wirkstoff Voriconazol. Dieses ist laut Therapiestufenplan von Behrens-Baumann die erste Wahl bei einer Keratomykose mit unbekanntem Erreger. Der Wirkstoff deckt ein breites Pilzspektrum ab und kann aufgrund des niedrigen Molekulargewichts gut die Hornhaut penetrieren. So erfolgte oft die initiale Therapie mit Voriconazol.

Die MUTT II Studie von N. Venkstesh Prajna et al. zeigte, dass Patient*innen mit einer filamentösen Pilzkeratitis durch die zusätzliche Gabe von oralem Voriconazol zur topischen Applikation nicht profitieren. In Anbetracht des fehlenden Nutzens und der systemischen Nebenwirkungen wird die orale Applikation von den Autoren somit nicht empfohlen. (34)

Die Wirkstoffe Natamycin sowie Amphotericin B kamen in jeweils 10% zur Anwendung. Vor allem im Bereich der Fusarien-Keratitis zeigt sich eine gute Wirksamkeit von Natamycin.(24,35) Aufgrund des Trends der steigenden Pilzkeratitis durch Fusarien ist zu erwarten, dass die topische Behandlung mit diesem Wirkstoff in Zukunft an Relevanz gewinnen wird. Dieser Trend der Überlegenheit von Natamycin gegenüber von Voriconazol bei filamentösen Pilzkeratitis wird unter anderem durch die MUTT I Studie aus Süd-Indien unterstrichen.(36)

Der therapeutische Einsatz von Kortikosteroiden wird kontrovers diskutiert, da die immunsuppressive Wirkung von Glukokortikoiden auch einen Risikofaktor für die Entstehung einer Pilzkeratitis darstellt. (13) Im Stufenplan wird die Verwendung von Prednisolon Augentropfen empfohlen, allerdings ist die Entscheidung individuell zu treffen und bleibt somit bei der/dem behandelnden Ärztin/Arzt. In Graz erfolgte die zusätzliche Behandlung mit Kortikosteroiden bei fast zwei Drittel (63,2%) der Studienteilnehmer*innen.

10.6 Endvisus

Der Endvisus der Patient*innen beschreibt die Sehschärfe nach Abschluss der Therapie, in unserem Patient*innen-Kollektiv hatten 58% eine Endvisus unter 0,5, also weniger als 50% der Sehschärfe. Bei 13% waren die strukturellen Schädigungen der Hornhaut so gravierend, dass die Sehschärfe mithilfe des 1m Visus bestimmt werden musste oder gar nur ein Erkennen von Handbewegungen, Fingerzählen oder Lichtempfinden möglich war. Dies verdeutlicht die schwerwiegenden Folgen und den Visus-bedrohenden Verlauf der Pilzkeratitiden.

Die ursprüngliche Idee, den Endvisus als Outcome der Erkrankung zu verwenden und mögliche Zusammenhänge zu anderen statistischen Parametern zu untersuchen, musste verworfen werden, da einerseits viele Patient*innen mit der adäquaten Therapie entlassen wurden und die ambulanten Kontrollen im niedergelassenen Bereich erfolgen. Dadurch ist nur der Visus am Behandlungsende des LKH-Graz erhebbar, nicht aber die Sehschärfe nach Ausheilen der Infektion. Andererseits fehlte der Wert bei 18 Patient*innen in den elektronischen Aufzeichnungen. Weiters müsste zusätzlich der Ausgangsvisus berücksichtigt werden, um eine Verschlechterung zu beurteilen, aufgrund von fehlenden Daten würden somit noch weniger Patient*innen in die statistische Untersuchung eingeschlossen werden können. Zusammenfassend ist eine vergleichbare Bewertung der Sehschärfe nach Abschluss der Behandlung nur eingeschränkt möglich und demnach erfolgte keine weitere statistische Untersuchung bezüglich des Endvisus.

10.7 Limitationen

Die Studie weist einige Limitationen auf, die beim Betrachten der Ergebnisse zu berücksichtigen sind.

Die größte Limitation ist die Anzahl der Studienteilnehmer*innen, insgesamt waren über den Zeitraum von 13 Jahren 87 Patient*innen mit einer Pilzkeratitis an der Univ.-Augenklinik Graz in Behandlung. Besonders in den Anfangsjahren gab es nur wenige Fälle pro Jahr, wodurch es schwierig ist, prozentuale Veränderungen zu bewerten. Diese Limitierung ist allerdings der Seltenheit der Erkrankung geschuldet

und somit bei einer alleinigen Betrachtung des Versorgungsgebietes des LKH-Graz nicht zu beeinflussen.

Die Univ.-Augenklinik Graz ist auch ein Zentrum für Erkrankungen des vorderen Augenabschnitts, weshalb hier besonders schwerwiegende Keratitiden behandelt werden. Andere gutartig verlaufende Keratitiden, auch bakterieller Genese werden von anderen Krankenhäusern und auch im niedergelassenen Bereich behandelt und scheinen somit nicht in unseren Daten auf.

Eine weitere Limitation, die bereits erwähnt wurde, ist die Folgebehandlung im niedergelassenen Bereich. Nach Diagnosestellung und Etablierung der adäquaten Therapie erfolgt die ambulante Weiterbehandlung häufig in der Ordination bei der /beim Fachärztin/arzt für Augenheilkunde. Dadurch sind Daten wie Behandlungsdauer und tatsächlicher Endvisus nach abgeschlossener Therapie für uns nicht mehr ersichtlich.

11 Fazit

Die Pilzkeratitis ist eine schwerwiegende Erkrankung, die in Europa immer häufiger auftritt und Schwierigkeiten in der Diagnostik und Behandlung verursacht. Auch im Versorgungsgebiet der Univ.-Augenklinik Graz konnte im Untersuchungszeitraum von 12 Jahren ein signifikanter Anstieg der mykotischen Keratitiden beobachtet werden. Die Direktfärbung im abteilungseigenen Labor ermöglicht eine rasche und sehr sensitive Form der Diagnostik, wodurch in Graz vergleichsweise kurze Zeiten bis zur Diagnose erreicht werden. Somit ist ein schnelles Einleiten der antimykotischen Therapie möglich. Neben dem Goldstandard der Pilzkultur sollte auch bei jedem begründeten Verdacht einer Pilzkeratitis, aufgrund der deutlich besseren Sensitivität zusätzlich eine PCR-Untersuchung durchgeführt werden. Ergänzend bietet sich die konfokale Mikroskopie als sehr sensitive Diagnostik an, und hat mittlerweile einen wichtigen Stellenwert eingenommen. Die Bestimmung der Pilzart ist vor allem für das Einleiten einer gezielten antimykotischen Therapie von Bedeutung. Wie auch in vergleichbaren europäischen Studien, zeichnet sich auch in Graz ein Wandel des Erregerspektrums ab. Die Zunahme der Infektionen mit der Gattung *Fusarium* werden mit dem vermehrten Einsatz weicher Kontaktlinsen in Zusammenhang gebracht. Obwohl in der Studienpopulation kein häufigerer Einsatz von weichen Kontaktlinsen zu beobachten war, ist davon auszugehen, dass die Anstiege der Fusarien-Keratitiden auch in Graz mit dem Einsatz von weichen Kontaktlinsen in Verbindung stehen.

In Zukunft werden Augenärzt*innen immer häufiger mit den Schwierigkeiten der Pilzkeratitiden konfrontiert werden. Somit ist es wichtig, das Bewusstsein für diese Form der infektiösen Keratitis zu schärfen. Eine schnelle korrekte Diagnosestellung und das gezielte Einleiten einer antimykotischen Therapie ist für den Behandlungserfolg entscheidend.

12 Literaturverzeichnis

1. Bowling B, Tönjes S, Kanski J. Kanski's Klinische Ophthalmologie. 8. Auflage. München, Deutschland: Elsevier; 2017.
2. Lang GK, Esser J, Gareis O, Lang GE, Lang SJ, Spraul CW, et al. Augenheilkunde. 5. Auflage. Stuttgart, Deutschland: Georg Thieme Verlag KG; 2014.
3. Schmack I, Müller M, Kohnen T. Mikrobielle Keratitis, Teil 1: allgemeine Aspekte und bakterielle Keratitiden. Klin Monbl Augenheilkd. 2018;235(3):331–50.
4. Grehn F. Augenheilkunde. 32. Auflag. Berlin, Deutschland: Springer-Verlag GmbH Deutschland; 2019.
5. Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J. Human corneal anatomy redefined: A novel pre-descemet's layer (Dua's Layer). Ophthalmology. 2013;120(9):1778–85.
6. Dua HS, Said DG. Clinical evidence of the pre-Descemets layer (Dua's layer) in corneal pathology. Eye. 2016;30(8):1144–5.
7. Schmack I, Müller M, Kohnen T. Mikrobielle Keratitis – Teil 2: mykotische und Akanthamöbenkeratitiden. Klin Monbl Augenheilkd. 2018;511–30.
8. Austin A, Lietman T, Rose-Nussbaumer J. Update on the Management of Infectious Keratitis. Ophthalmology [Internet]. 2017;124(11):1678–89. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2017.05.012>
9. Thomas PA, Kaliamurthy J. Mycotic keratitis: Epidemiology, diagnosis and management. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2013;19(3):210–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12126>
10. Kredics L, Narendran V, Shobana CS, Vágvölgyi C, Manikandan P, Varga J, et al. Filamentous fungal infections of the cornea: A global overview of epidemiology and drug sensitivity. Mycoses. 2015;58(4):243–60.

11. Iselin KC, Baenninger PB, Schmittinger-Zirm A, Thiel MA, Kaufmann C. Fungal Keratitis: A Six-Year Review at a Tertiary Referral Centre. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2017;234(4):419–25.
12. Roth M, Daas L, Renner-Wilde A, Cvetkova-Fischer N, Saeger M, Herwig-Carl M, et al. The German keratomycosis registry: Initial results of a multicenter survey. *Ophthalmologe*. 2019;116(10):957–66.
13. Behrens-Baumann W, Finis D, Mackenzie C, Roth M, Geerling G. Keratomykose - Therapiestandards und aktuelle Entwicklungen. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2015;232(6):754–64.
14. Maharana PK, Sharma N, Nagpal R, Jhanji V, Das S, Vajpayee RB. Recent advances in diagnosis and management of Mycotic Keratitis. *Indian J Ophthalmol*. 2016;64(5):346–57.
15. Behrens-Baumann W. Zur klinischen Diagnose der Pilzkeratitis. *Z Prakt Augenheilkd* [Internet]. 2010;580:577–80. Available from: http://www.med.uni-magdeburg.de/unimagdeburg_mm/Bilder/Kliniken/KAUG/ZPAZur+klinischen+DiagnosederPilzkeratitis-EGOTEC-1115372ca1a5c5d6f5dd0a79d9fc8ee9-p-27914.pdf%0Apapers3://publication/uuid/D90FCC96-2F6C-4A5D-A744-71DB383B05ED
16. Bharathi MJ, Ramakrishnan R, Meenakshi R, Mittal S, Shivakumar C, Srinivasan M. Microbiological diagnosis of infective keratitis: Comparative evaluation of direct microscopy and culture results. *Br J Ophthalmol*. 2006;90(10):1271–6.
17. Taravati P, Lam D, Van Gelder RN. Role of Molecular Diagnostics in Ocular Microbiology. *Curr Ophthalmol Rep*. 2013;1(4):181–9.
18. Bader O, Weig M, Taverne-Ghadwal L, Lugert R, Groß U, Kuhns M. Improved clinical laboratory identification of human pathogenic yeasts by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(9):1359–65.

19. Kheirkhah A, Syed ZA, Satitpitakul V, Goyal S, Müller R, Tu EY, et al. Sensitivity and Specificity of Laser-Scanning In Vivo Confocal Microscopy for Filamentous Fungal Keratitis: Role of Observer Experience. *Am J Ophthalmol*. 2017;179:81–9.
20. Daas L, Viestenz A, Bischoff M, Hasenfus A, Seitz B. Konfokale Mikroskopie zur Diagnostik der mykotischen Keratitis. *Ophthalmologe*. 2016;113(9):767–71.
21. Nielsen E, Heegaard S, Prause JU, Ivarsen A, Mortensen KL, Hjortdal J. Fungal keratitis-improving diagnostics by confocal microscopy. *Case Rep Ophthalmol*. 2013;4(3):303–10.
22. Sahay P, Singhal D, Nagpal R, Maharana PK, Farid M, Gelman R, et al. Pharmacologic therapy of mycotic keratitis. *Surv Ophthalmol* [Internet]. 2019;64(3):380–400. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2019.02.007>
23. Graefe KH, Lutz W, Bönisch H. *Pharmakologie und Toxikologie*. 2. Auflage. Stuttgart, Deutschland: Georg Thieme Verlag KG; 2016. 604–613 p.
24. Venkatesh Prajna N, Krishnan T, Mascarenhas J, Rajaraman R, Prajna L, Srinivasan M, et al. The mycotic ulcer treatment trial: A randomized trial comparing natamycin vs voriconazole. *JAMA Ophthalmol*. 2013;131(4):422–9.
25. Behrens-Baumann W. Keratomykose engl. (Keratomycosis). In: *Entzündliche Augenerkrankungen*. 2. Auflage. Berlin, Deutschland: Pleyer Uwe; 2021. p. 169–80.
26. Thomas PA. Fungal infections of the cornea. *Eye*. 2003;17(8):852–62.
27. Srinivasan M, Gonzales CA, George C, Cevallos V, Mascarenhas JM, Asokan B, et al. Epidemiology and aetiological diagnosis of corneal ulceration in Madurai, south India. *Br J Ophthalmol*. 1997;81(11):965–71.
28. Farrell S, McElnea E, Moran S, Knowles S, Murphy CC. Fungal keratitis in the

- Republic of Ireland. *Eye*. 2017;31(10):1427–34.
29. Galarreta DJ, Tuft SJ, Ramsay A, Dart JKG. Fungal keratitis in London: Microbiological and clinical evaluation. *Cornea*. 2007;26(9):1082–6.
 30. Ong HS, Fung SSM, Macleod D, Dart JKG, Tuft SJ, Burton MJ. Altered Patterns of Fungal Keratitis at a London Ophthalmic Referral Hospital: An Eight-Year Retrospective Observational Study. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 2016;168:227–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2016.05.021>
 31. Gaujoux T, Borsali E, Goldschmidt P, Chaumeil C, Baudouin C, Nordmann JP, et al. Fungal keratitis in France. *Acta Ophthalmol*. 2011;89(2):215–6.
 32. Gower EW, Keay LJ, Oechsler RA, Iovieno A, Alfonso EC, Jones DB, et al. Trends in Fungal keratitis in the United States, 2001 to 2007. *Ophthalmology* [Internet]. 2010;117(12):2263–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2010.03.048>
 33. Kovalchuk B, Khoramnia R, Tóth M, Horner S, Auffarth GU, Augustin VA. Fusarium Keratitis—an upcoming threat in Germany? *Ophthalmologe*. 2022;119(10):1022–34.
 34. Prajna NV, Krishnan T, Rajaraman R, Patel S, Srinivasan M, Das M, 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(12):1365–72.
 35. Retamal J, Ordenes-Cavieres G, Grau-Diez A. Natamicina versus voriconazol para queratitis fúngica. *Medwave*. 2018;18(8):e7388.
 36. Venkatesh Prajna N, Lalitha P, Rajaraman R, Krishnan T, Raghavan A, Srinivasan M, et al. Changing azole resistance: A secondary analysis of the MUTT I randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmol*. 2016;134(6):693–6.