

感染性角膜炎分子诊断的专家共识(2025)

《感染性角膜炎分子诊断的专家共识(2025)》专家组

【摘要】 感染性角膜炎是全球范围内尤其是发展中国家主要的致盲性眼病之一,其早期精准诊断对改善预后具有重要意义。虽然病原学检测是确诊的金标准,但由于眼部样本取材局限、标本量少,传统检测方法的阳性率较低,限制了临床诊治水平的提升。我国多数医疗机构在眼部感染病原检测方面能力薄弱,且缺乏标准化的实验流程,亟需建立规范化的诊断体系。为此,本专家组结合临床实践经验与研究证据,制定了感染性角膜炎分子诊断专家共识。该共识系统阐述了常见感染性角膜炎的临床特征与送检指征,明确了标本采集、转运及质量评估的标准化操作程序,强调眼科医师与检验人员密切协作的重要性,并倡导在条件允许时开展床旁接种以提高检出率。在技术路径方面,共识综合分析了刮片细胞学检查、传统培养方法、棘阿米巴培养等多种检测手段的适用场景,特别对核酸扩增技术及宏基因组测序(mNGS)等分子诊断方法提出了具体应用建议,旨在推动感染性角膜炎的病原诊断向精准化、标准化方向发展,提升我国眼部感染性疾病的整体诊疗水平。

【关键词】 感染性角膜炎;病原微生物;分子诊断;共识

【中图分类号】 R77 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-6170(2026)03-0051-10

Expert consensus on molecular diagnosis of infectious keratitis (2025) Expert workgroup of Expert Consensus on Molecular Diagnosis of Infectious Keratitis (2025)

【Abstract】 Infectious keratitis is one of the major blinding eye diseases worldwide, especially in developing countries. Early and accurate diagnosis is crucial for improving prognosis. Although etiological detection remains the gold standard for diagnosis, the limited sampling from ocular tissues and small specimen volumes often result in low positivity rates with conventional detection methods, thereby constraining the advancement of clinical diagnosis and treatment. In China, the capacity for pathogenic detection in ocular infections is generally weak across most medical institutions, and standardized laboratory procedures are lacking, highlighting an urgent need to establish a standardized diagnostic system. To address these challenges, our expert panel has formulated the Expert Consensus on Molecular Diagnosis of Infectious Keratitis based on clinical experience and research evidence. This consensus systematically describes the clinical characteristics and indications for testing in common infectious keratitis, defines standardized operating procedures for specimen collection, transportation, and quality assessment, emphasizes the importance of close collaboration between ophthalmologists and laboratory personnel, and advocates for bedside inoculation when feasible to improve detection rates. Regarding technical pathways, the consensus comprehensively analyzes the appropriate application scenarios of various detection methods, including cytological smear examination, traditional culture methods, and Acanthamoeba culture. It also provides specific recommendations for molecular diagnostic techniques such as nucleic acid amplification and metagenomic next-generation sequencing (mNGS). The consensus aims to promote the precision and standardization of pathogenic diagnosis in infectious keratitis and to enhance the overall diagnostic and therapeutic level of ocular infectious diseases in China.

【Key words】 Infectious keratitis; Pathogenic microorganisms; Molecular diagnosis; Consensus

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(编号:82371);国家杰出青年科学基金(编号:82425015);国家自然科学基金资助项目(编号:82171102);国家重点研发计划(编号:2023YFA0915000)

【通讯作者简介】 洪佳旭,男,博士,主任医师,研究员,博士生导师。国家杰出青年科学基金项目获得者,万人计划青年拔尖人才,上海市教委曙光学者,海峡两岸医药卫生交流协会眼科学专业委员会第二届眼表与泪液疾病学组委员,中国康复医学会视觉康复专业委员会干眼康复学组副组长,中国医药教育协会智能眼科学组副组长,上海市医师志愿者联盟眼科分会副主任委员。主要研究方向:干眼疾病机制与新型治疗策略,角膜病基因治疗及蛋白递送策略,角膜炎与病毒性角膜病生物疗法开发,医工交叉与生物材料在眼科中的应用。

【共同通讯作者简介】 龚波,男,博士,教授,博士生导师。中华医学会健康管理学分会青年学组副组长,四川省医学会健康管理学分会副主任委员,国家药品监督管理局医疗器械技术评审专家,四川省“峨眉计划”专家,第十三批四川省学术和技术带头人,电子科技大学百人计划入选者,哈佛大学访问学者,四川省杰出青年基金获得者,中国科学院“西部之光”青年学者。主要研究方向:疾病致病机理和分子诊断的临床研究工作。

1 感染性角膜炎分子诊断的专家共识(2025)制定背景

感染性角膜炎是全球范围内重要的致盲性眼病,在医疗卫生资源不均的地区尤为高发^[1,2]。我国该病的患病率约为0.192%^[3],显著高于多数发达国家,且术后眼内炎等医源性感染亦呈上升趋势,反映出当前眼科感染性疾病负担较重、防控形势严峻。由于眼部样本取材局限、病原体载量低,传统涂片和培养等方法灵敏度有限,导致临床病原检出率低,制约了精准抗感染治疗的实施。为提升我国感染性角膜炎的病原诊断能力,由四川省人民医院龚波教授以及复旦大学附属眼耳鼻喉科医院的洪佳旭教授于2025年牵头组织多学科专家,系统梳理国内外眼科病原学检测的最新进展,结合我国医疗实际,制定了适用于综合医院的标准化检测方案。

分子诊断技术通过检测病原体特有的核酸序列,实现了对致病微生物的直接、精准识别。其核

心技术原理是基于聚合酶链式反应(PCR)及核酸序列分析。例如,实时荧光定量 PCR(qPCR)通过在扩增过程中监测荧光信号,对特定病原体 DNA 进行定性与定量分析,其靶标常选择于高度保守且具物种差异性的基因区域,如针对细菌的 16S 核糖体 DNA(16S rDNA)、针对真菌的内转录间隔区(ITS),或针对棘阿米巴的 18S 小亚基 rDNA。此外,宏基因组测序(mNGS)技术则不依赖于预设的引物或探针,直接对样本中全部微生物的核酸进行高通量测序,通过生物信息学分析,能够无偏倚地鉴定细菌、病毒、真菌、寄生虫等所有潜在病原体,尤其适用于传统培养阴性或混合感染的复杂病例。近年来,多

重 PCR 技术与微阵列平台(如 iCAM 卡)的整合,使得单次反应能够同时检测数十种角膜常见病原体,将检测时间缩短至数小时,为早期定向治疗提供了关键依据。

本共识聚焦分子诊断技术在感染性角膜炎中的应用,重点阐述了包括实时荧光 PCR、宏基因组测序(mNGS)等前沿方法在病原体鉴定、耐药基因检测中的价值,并规范了从标本采集、核酸提取到结果解读的全流程标准(图 1)。共识旨在推动我国眼部感染性疾病诊疗从经验性用药向精准病原诊断转型,为临床提供可靠、规范的实验室支持,全面提升感染性角膜炎的诊治水平。

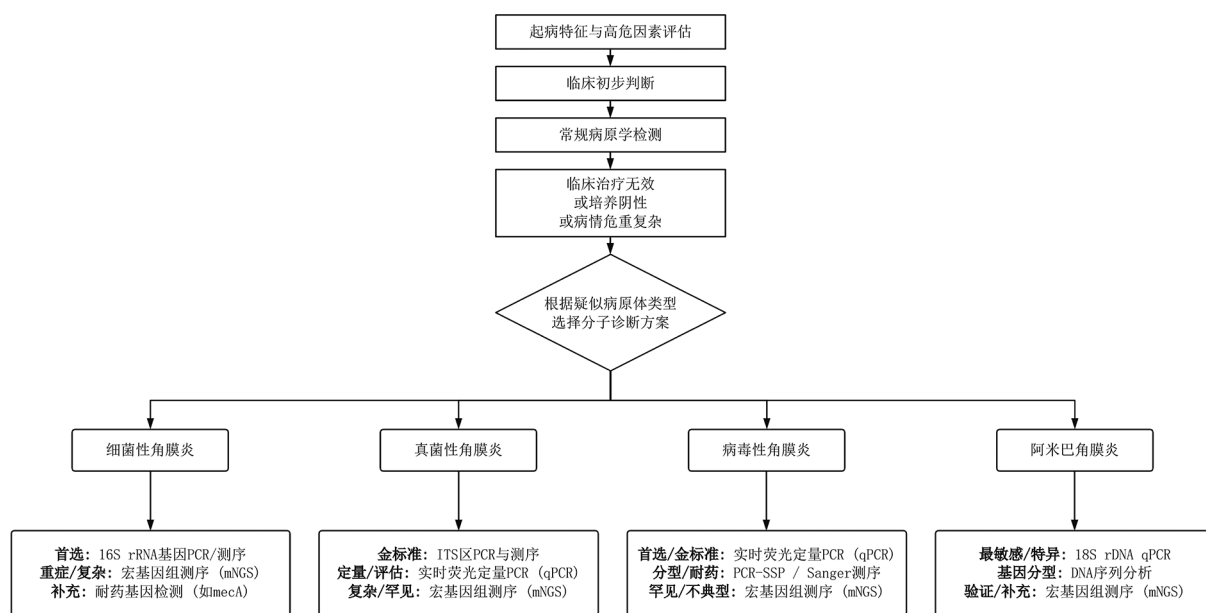


图 1 感染性角膜炎诊断路径

本共识的形成采用改良德尔菲法,经两轮问卷调查及多次线上、线下专家会议讨论后达成一致意见。共识制定过程中,所有建议均综合了当前国内外相关指南、高质量临床研究及参会专家的临床实践经验,旨在为感染性角膜炎的分子诊断提供实用、可操作的规范性指导。

然而分子诊断技术,尤其是高灵敏度技术(如 PCR、mNGS)的应用,也带来了对结果进行审慎解读的新挑战。假阳性结果可能源于样本交叉污染、环境或试剂背景核酸、以及病原体定植与非活动性感染。因此本共识特别强调,任何分子诊断结果都必须置于具体的临床背景下进行解读,眼科医师与检验人员需紧密协作,区分真正的致病病原体与背景“噪音”,避免因结果误读导致的过度治疗或治疗不足。建立对分子诊断结果的正确“临床承认”框架,是实现精准诊断的关键一环。

2 常见感染性角膜炎病原体及送检指征

感染性角膜炎的精准诊疗依赖于眼科临床检查与微生物实验室检查的紧密结合。本章节旨在构建标准化的病原学诊断路径,见表 1。

2.1 细菌性角膜炎 起病急骤,常见于角膜外伤、配戴接触镜、眼部手术后或免疫抑制患者。主要病原体为革兰阳性菌(如葡萄球菌、链球菌),配戴接触镜者需警惕铜绿假单胞菌等革兰阴性菌^[4]。送检指征:所有临床疑似病例均应首先进行角膜刮片行革兰染色等细胞学检查及微生物培养,此为快速诊断与初步指导用药的基础^[5,6]。分子诊断应用共识:①不提倡常规使用;对于临床表现典型、涂片镜检发现明确细菌形态且培养可能成功的初治病例,无需常规进行分子检测。②推荐采用:在以下情况,可积极采用分子诊断技术进行病原鉴定。a:经验性广谱抗生素治疗 72 小时后无效或加重的病例;b:涂片镜检阳性但培养结果阴性,或传统培养方法难以生长的细菌(如诺卡菌、放线菌)疑似感染;c:病情严重、进展迅速或疑

为混合感染的病例;d:为早期识别特定耐药基因(如甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌的 *mecA* 基因)以指导

精准治疗时;e:技术选择上,可选用 16S rRNA 基因 PCR 联合测序或宏基因组测序(mNGS)^[5, 6]

表 1 各类感染性角膜炎的常见病原体、送检指征以及诊断方法

类型	常见病原体	送检指征	诊断方法
细菌性角膜炎	革兰阳性菌(如葡萄球菌属、链球菌属)、革兰阴性菌(如铜绿假单胞菌);其他:诺卡菌、放线菌等	所有临床疑似病例;初始经验性广谱抗生素治疗无效时	角膜刮片取样,革兰染色、吉姆萨染色等细胞学检查;微生物培养(如血琼脂、巧克力琼脂);分子诊断(如 16S rRNA 基因 PCR、宏基因组测序)
真菌性角膜炎	丝状真菌(如镰刀菌、曲霉菌)、酵母菌(如念珠菌)	存在农业外伤等高危险因素且临床表现提示真菌感染;对常规抗菌药物治疗反应不佳	角膜刮片标本,氢氧化钾湿片镜检、乳酸酚棉蓝染色;分子诊断(如真菌通用 PCR 靶向 ITS 区或 18S rRNA 基因、种属特异性 PCR);宏基因组测序(mNGS)
病毒性角膜炎	疱疹病毒科(如单纯疱疹病毒、水痘-带状疱疹病毒、巨细胞病毒)	典型角膜树枝状病变、盘状角膜炎、原因不明的角膜内皮炎;疾病反复发作或怀疑耐药	实时定量 PCR(首选);mNGS 用于不典型或罕见病例
阿米巴角膜炎	棘阿米巴原虫(滋养体和包裹)	接触镜相关且常规抗感染治疗效果不佳的慢性角膜炎;角膜共聚焦显微镜发现疑似阿米巴包裹或滋养体	棘阿米巴培养(无营养大肠杆菌平板,金标准);分子检测(如 18S rRNA 基因 PCR)

2.2 真菌性角膜炎 起病相对隐匿,多有植物性外伤史或长期使用激素/免疫抑制剂病史^[7]。角膜病灶可呈羽毛状浸润、卫星灶等特征。主要病原体为丝状真菌(如镰刀菌、曲霉)和酵母菌(如念珠菌)^[8-11]。送检指征:存在农业外伤等高风险因素且临床表现符合者,或常规抗菌治疗无效者,应首选角膜刮片行氢氧化钾(KOH)湿片镜检、乳酸酚棉蓝染色等快速检查。分子诊断应用共识:在以下情况,推荐采用分子诊断作为关键补充或确诊依据。a:涂片镜检疑似真菌但培养结果为阴性;b:需要快速、精确鉴定菌种以指导抗真菌药物选择(如区分镰刀菌与曲霉);c:临床高度怀疑但传统方法(包括共聚焦显微镜)均未获得明确病原学证据的疑难病例;d:怀疑混合感染(如细菌合并真菌);e:可根据情况选择真菌通用 PCR(靶向 ITS 或 18S rRNA 基因)、种属特异性 PCR 或 mNGS^[6, 12]。

2.3 病毒性角膜炎 典型特征为反复发作。单纯疱疹病毒(HSV)可致树枝状/地图状溃疡,水痘-带状疱疹病毒(VZV)常伴皮损,巨细胞病毒(CMV)多引起角膜内皮炎^[13, 14]。送检指征:对于典型疱疹性角膜炎(如树枝状溃疡),临床诊断即可成立并启动治疗。当需要实验室确诊、鉴别病毒类型、评估病毒载量或疑为罕见病毒感染时,应进行病原学检测。分子诊断应用共识:①首选方法:实时定量 PCR(qPCR)是检测和分型的首选及核心方法,具有高灵敏度和特异性,尤其适用于房水样本确诊 CMV 角膜内皮炎。②应用场景:a:所有需要实验室确诊的病毒性角膜炎病例;b:临床表现不典型,需与细菌或真菌感染鉴别时;c:抗病毒治疗疗效监测或怀

疑耐药时;d:疑为罕见病毒感染或常规 PCR 检测阴性时,可考虑 mNGS。

2.4 棘阿米巴角膜炎 病程迁延,特征性表现为剧烈眼痛与临床体征不相符(痛征分离)。高危因素主要为配戴接触镜,尤其使用非无菌液体护理者。早期可见放射状神经炎,进展期可形成环状浸润^[15]。送检指征:接触镜相关或眼表外伤后常规抗感染治疗无效的慢性角膜炎;或共聚焦显微镜(IVCM)检查发现典型阿米巴包裹/滋养体影像学特征时。分子诊断应用共识:①诊断价值:角膜刮片镜检发现滋养体或包裹可确诊,典型 IVCM 影像亦具重要诊断价值。然而,上述方法敏感性有限。②强烈推荐采用:基于 18S rDNA 的分子检测(如荧光定量 PCR)具有极高的灵敏度与特异性,在以下情况应作为不可或缺的确证工具:a:临床高度疑似但镜检和/或培养结果为阴性;b:IVCM 检查未发现明确包裹,但临床与病史高度符合;c:需要进行虫株基因分型或评估治疗反应。③培养与分子检测互为重要辅助,后者尤其适用于早期诊断和避免治疗延误^[16, 17]。

通过建立并遵循上述基于不同感染性角膜炎的临床表现与病原体特征所构建的送检指征体系,可有效引导临床医师与检验医师之间实现协同工作,共同优化病原学检测流程,最终目标是实现对所有类型感染性角膜炎的早期、精准病原学诊断。

3 标本采集及质量评估

3.1 标本采集及转运原则 本共识参考 2022 年《感染性眼病的病原微生物实验室诊断专家共识》^[18]、2021 年美国《眼部感染临床微生物实验室实用指南》^[19]及国内外相关规范,制定以下原则。

3.1.1 标本采集原则 标本应遵循“即刻送检、优先涂片、床旁接种”的原则。对于厌氧培养标本,此原则尤为重要;若无法实现床旁接种,标本应于室温保存并密封转运,严禁冷藏或冷冻,同时清晰标注采集时间。①对于角膜病灶的采集,需在表面麻醉下进行。可使用刮铲刮取病变组织,并将其均匀涂成薄层,注意避免细胞堆积;也可用专用拭子蘸取分泌物或刮取物,并需在病灶区域停留足够时间。采集后,涂片需经无水甲醇固定。样本应在室温下尽快送检或进行床旁接种;若需短暂存放,应置于常温密闭容器中,进行厌氧培养时则需使用专用转运装置。采集的关键在于优先获取新鲜的分泌物或病变边缘组织,并制成高质量的薄层细胞涂片。②泪器样本的获取需先进行表面麻醉。随后用无菌棉签挤压泪囊区,促使脓性分泌物或黏稠的坏死物从泪小点溢出,并收集这些中段物质,同样制成薄层涂片后以无水甲醇固定。其转运与储存要求与眼表样本基本一致,即室温下快速送检或妥善密闭暂存。在制备涂片时,对于质地坚硬的坏死物,应事先将其充分碾碎,以利于后续的显微镜检。③对于眼内样本,需在麻醉下通过前房穿刺获取房水,或通过玻璃体切割术获取玻璃体原液。所得液体可直接涂片并使用无水甲醇固定。为确保运输安全,装有液体的注射器必须外加防泄漏包装,并放置于密闭转运箱中立即送检。特别需要注意的是,如果获取的是玻璃体灌洗液,需先经过离心步骤,然后将沉淀物用于涂片和培养,而不能直接用原液操作。

3.1.2 分子检测样本的防污染采集原则 进行分子检测(如 PCR、mNGS)的样本,其采集与转运过程需严格遵守防污染规范,以最大限度减少假阳性风险:①人员与物品准备:操作者须佩戴无滑石粉手套。所有接触样本的器械(如刮铲、刀片、拭子)必须无菌、一次性使用,并在采样前确认其包装完好。②操作环境与顺序:采样应在相对洁净的环境中进行,避开可能存在气溶胶污染的区域(如正在运行的 PCR 产物处理区)。若同一患者需进行多项采样,分子检测样本应优先采集,再进行其他可能引入污染的操作(如荧光素钠染色)。③麻醉剂与染色剂的影响:如采样前使用了荧光素钠、丙美卡因等眼部麻醉剂或染色剂,必须在检验申请单上明确注明。因为这些试剂可能抑制微生物活性、干扰核酸提取或扩增,是导致假阴性或假阳性的潜在因素。④样本容器的选择:使用无菌、无核酸酶的一次性容器盛放样本。严禁使用可能残留有上次检测产物的容器。⑤转运隔离:分子检测样本在转运过程中,应与其它非分子检测样本物理隔离包装,

避免交叉污染。

3.1.3 各环节规范 为确保不同实验室间分子检测结果的可比性与准确性,建议对感染性角膜炎病原体 PCR 检测的关键环节进行规范。核酸提取推荐使用经临床验证的商品化核酸提取试剂盒及自动化提取仪。例如,可参照使用 EZ1 病毒小量试剂盒(V2.0)在 EZ1 advanced XL 仪器上进行提取,洗脱体积建议为 60~120 μl ,以兼顾后续多项检测需求。每批次提取必须设置阴性质控(如无菌水)以监测污染。

靶标选择与质控:针对不同病原体,应采用经过验证的特异性基因靶标进行扩增,如细菌的 16S 核糖体 RNA 基因、真菌的内转录间隔区或 18S rRNA 基因、病毒的特异性保守基因以及棘阿米巴的 18S rDNA。每次检测应包含内参基因(如人类 RNase P)以监控核酸提取效率及抑制物存在情况。①鉴于眼部标本具有量少、不可重复获取的特点,临床医师应在送检时明确标注检测项目及其优先级,以便实验室合理分配标本并优化检测流程。②角膜溃疡标本须由经验丰富的眼科医师在裂隙灯显微镜引导下,使用无菌刮铲(如 15 号手术刀片)轻柔刮取病灶边缘及基底,并立即涂片及完成床旁接种。③角膜组织及活检材料宜以无菌器械切碎后接种;眼内标本(如房水、玻璃体)需经手术途径获取。④眼内液(房水或玻璃体)检测仅推荐用于高度怀疑感染性眼内炎或严重角膜炎累及眼内的病例。须由具备相关经验的医师在严格无菌条件下完成采集。术前可予抗生素滴眼液点眼,行表面麻醉后,依次进行皮肤消毒与聚维酮碘结膜囊冲洗。⑤房水抽取量宜控制在 0.1~0.2 ml;玻璃体切割术中所获的玻璃体标本量应不少于 0.5 ml(最初抽取的未稀释部分最佳)。⑥样本可注入无菌 EP 管运送,或使用带针帽的注射器密闭转运。⑦对于隐形眼镜、护理液或眼外伤相关异物,可酌情进行微生物学检测,但需审慎解读其培养结果。因非临床样本(如镜片、护理液)中检出的微生物可能仅为暂存殖居,其阳性结果需结合患者临床表现综合评估病原学意义。

3.2 标本质量评估 鉴于眼部标本具有量少、珍贵且难以重复获取的特点,实验室原则上不轻易拒收任何样本。即使遇到标本量不足或转运时间超出常规要求的情况,也应尽可能完成相关检验,并及时与临床医生沟通标本的具体情况,为可能的二次送检创造条件。所有标本的质量评估均应遵循系统化的标准流程。

对于刮片标本的细胞学评估,要求将分泌物、

脓液或坏死组织等制成均匀薄层涂片,直径控制在 10 毫米左右。除玻璃体灌洗液需离心取沉淀或甩片处理外,其余类型标本均应直接使用原始材料进行涂片制备。组织标本的合格标准为载玻片上的分泌物、脓液或坏死组织呈薄层平铺状态,无组织细胞过度堆积现象。角膜刮片的质量要求更为具体,角结膜病灶区域获取的标本中,脱落上皮细胞或炎性细胞数量需达到国际分级标准中的 1 级或以上。该标准规定:低倍镜视野下细胞计数 ≤ 10 个为 0 级,11~50 个为 1 级,51~100 个为 2 级,101~1000 个为 3 级,超过 1000 个为 4 级^[18]。此分级标准同样适用于房水、玻璃体等其他眼内标本的细胞学评估。

培养标本的质量控制需要实施全过程管理。评估内容包括标本采集前的抗菌药物使用情况(包括种类和使用时间)、采集方式的规范性、转运装置的适用性、采样量的充足程度、是否实现床旁接种

以及是否在采集后 2 小时内送达实验室等关键环节。同时还需根据标本类型和临床拟诊的病原体类型,评估所申请检测项目的适宜性与必要性。考虑到眼部标本的特殊临床价值,对于评估中存在缺陷的标本,实验室不应简单拒收,但需在检验报告中对标本存在的局限性或不合格之处进行客观说明,以帮助临床医生准确理解检验结果的诊断价值。

4 实验室分子诊断

传统病原学检查方法在感染性角膜炎诊断中常存在局限。随着分子生物学发展,基于 PCR、qPCR 及宏基因组测序等技术,能够实现对细菌、真菌、病毒及阿米巴病原体的快速、精准鉴定(表 2),不仅显著提升诊断敏感性与特异性,还为混合感染与耐药评估提供了关键依据,已成为角膜炎现代化诊疗的重要支撑。

表 2 感染性角膜炎分子诊断技术的临床应用

角膜炎类型	核心分子诊断技术	靶点/方法	主要优势与临床价值	应用场景与备注
细菌性角膜炎	① 16S rDNA PCR & 测序 ② 下一代测序(NGS) ③ 种特异性实时荧光定量 PCR (qPCR) ④ 耐药基因 PCR	① 细菌 16S 核糖体 DNA 保守区域 ② 样本中全部微生物 DNA ③ 特定基因(如铜绿假单胞菌的 <i>ecfX</i> 基因) ④ 特定耐药基因(如 <i>mecA</i>)	① 快速、准确鉴定难培养或非典型细菌 ② 无偏倚检测,揭示多微生物感染,对培养阴性病例有突破性价值 ③ 高特异性与敏感性,为早期定向治疗提供依据 ④ 为应对抗生素耐药性提供早期分子依据	适用于初始治疗无效、病情复杂或怀疑罕见菌/混合感染的情况。NGS 尤其适用于传统诊断方法失败的难治性角膜炎。
真菌性角膜炎	① ITS 区 PCR 与测序 ② qPCR ③ mNGS ④ 多位点序列分型 (MLST)	① 核糖体 DNA 内转录间隔区 (ITS) ② 真菌特异性 DNA(可定量) ③ 样本中所有微生物 DNA ④ 多个看家基因序列	① 鉴定真菌物种的“金标准”分子方法,能有效区分常见致病菌 ② 可定量病原体载量,评估感染严重程度和治疗反应 ③ 无需预设病原体,适用于罕见真菌或混合感染诊断 ④ 用于医院感染暴发调查和流行病学溯源	当镜检提示菌丝但培养阴性时,分子检测是关键确认手段。mNGS 在传统方法诊断不明时具有重要价值。
病毒性角膜炎	① qPCR ② 序列特异性引物 PCR (PCR-SSP) 与 Sanger 测序	① 病毒特异性 DNA(可定量) ② 特定基因序列(如胸苷激酶基因)	① 首选方法,高灵敏度、特异性、可定量,可用于监测疗效 ② 用于病毒基因分型及识别耐药相关突变,为个性化治疗提供依据	核心是检测病毒 DNA。对于 CMV 角膜内皮炎,房水 qPCR 具有确诊意义。分子诊断对于识别耐药和区分病毒亚型至关重要。
阿米巴角膜炎	① qPCR ② DNA 序列分析与基因分型	① 棘阿米巴 18S 小亚基单位核糖体 DNA(可定量) ② 18S rDNA 等基因序列	① 最敏感和特异的诊断方法之一,灵敏度显著高于传统方法,能同时检测滋养体和包裹,利于早期诊断和疗效评估 ② 有助于了解病原体致病潜力与传播来源	在临床疑似但镜检和培养阴性的病例中,qPCR 已成为不可或缺的确证工具。

基于 TaqMan 探针的方法是典型代表

4.1 细菌性角膜炎的分子诊断 细菌性角膜炎起病急、进展迅速,快速、准确地鉴定病原菌对指导抗生素治疗至关重要。传统培养方法耗时长且阳性率有限。对于细菌性角膜炎,基于 16S 核糖体 RNA (16S rRNA) 基因的测序是鉴定难培养或非典型细

菌(如诺卡菌属)的重要分子技术。然而,需注意其临床应用的特定场景:由于该技术会扩增所有细菌的保守基因区域,无法区分病原菌与眼表正常定植菌,因此单纯的 16S rRNA PCR 甚至 qPCR 不适用于角膜样本的病原学初筛。传统的桑格测序仅能准

确鉴定单一菌感染,对混合感染则无能为力;而早期研究中采用的 16S rDNA 克隆文库法,因通量低、速度慢,已被宏基因组测序技术所取代。

mNGS 通过对样本中全部微生物 DNA 进行无偏倚的高通量测序,能够全面揭示病原体谱,包括细菌、病毒、真菌及寄生虫,尤其适用于传统培养阴性、病情复杂或疑为混合感染的难治性角膜炎,具有突破性诊断价值。然而,值得注意的是,由于角膜组织暴露于外界环境,眼表常存在正常菌群定植,mNGS 检测结果易受这些定植菌或环境微生物核酸的影响,导致假阳性率较高。因此,在解读 mNGS 报告时,必须结合临床表型、病原体相对丰度、序列覆盖度以及传统微生物学结果进行综合判断,避免将定植菌误判为致病菌。对于此类培养阴性的急性感染病例,推荐结合涂片镜检结果与 mNGS 技术进行综合鉴定。

在临床高度怀疑特定病原体(如铜绿假单胞菌)或需早期识别耐药基因(如 *mecA* 基因)时,可采用种属特异性 qPCR 或耐药基因 PCR,为精准治疗提供依据。

4.2 真菌性角膜炎的分子诊断 真菌性角膜炎的诊断常因病原体生长缓慢和形态学鉴定的复杂性而延迟。分子诊断显著提升了其诊断的灵敏度和速度。针对真菌核糖体 DNA 内转录间隔区(ITS)的 PCR 扩增与测序^[20, 21],因其在物种间的高度变异性和物种内的保守性,能够有效区分常见致病菌(如镰刀菌、曲霉菌和念珠菌),显著提升了诊断的灵敏度和速度。然而,在临床应用中需注意,真菌坚韧的细胞壁会导致 DNA 提取效率降低,进而可能影响 PCR 的检测阳性率。有实践表明,对于涂片镜检可见少量菌丝或孢子的样本,PCR 检测结果可能出现阴性。因此,在采用 PCR 法进行诊断时,建议对临床样本的 DNA 提取方法进行规范,以确保检测的可靠性。同时,分子诊断结果也需结合临床背景谨慎解读,以区分活动性感染与定植。

mNGS 通过直接对样本中所有微生物 DNA 进行高通量测序,无需预设病原体,尤其适用于罕见真菌或混合感染的诊断^[22]。此外,多位点序列分型(MLST)等高分型技术则在医院感染暴发调查和流行病学溯源中发挥重要作用。值得注意的是,基于 CRISPR/Cas 系统的新型检测技术(如 RID-MyC)因快速、便捷的特点,在资源有限场景及疑难病例的快速筛查中展现出应用潜力。

4.3 病毒性角膜炎的分子诊断 病毒性角膜炎,尤其是由疱疹病毒家族(如 HSV-1, VZV, CMV)引起的感染,具有复发性强、可导致严重视力损害的特

点。其分子诊断的核心是检测病毒特异性 DNA。qPCR 是目前临床诊断病毒性角膜炎的首选方法,具有高灵敏度、高特异性和可定量等优点。多项研究证实,qPCR 的检出率显著高于传统的病毒培养和免疫荧光法(IFA)。例如,在角膜刮片样本中,qPCR 对 HSV 的检出率可达 24.7%,而 IFA 仅为 14.6%。qPCR 的敏感性可达 85.7%,特异性为 86.2%。与常规 PCR 相比,qPCR 因无需后处理且能定量,诊断效率更高。

对于单纯疱疹病毒性角膜炎,样本类型显著影响检出率。角膜上皮刮片是首选样本,其 HSV DNA 检出率(46.4%)和病毒载量均显著高于泪液样本(13.3%)。角膜印记膜(CIM)作为一种侵入性更小的取材方法,其检出率(36.4%)也高于常规拭子(25.5%)。PCR 可从角膜上皮或房水样本中检测病毒 DNA,即使在非活动期也可能呈阳性,为潜伏感染的诊断提供线索。但需注意,PCR 阳性仅代表病毒 DNA 存在,无法区分活性与无活性病毒颗粒,其结果必须结合临床表现解读。临床诊断与 PCR 结果的一致性在典型病例中较高(约 46%),但在不典型病例中较低(约 8%)。

在 CMV 角膜内皮炎的确诊中,房水样本的 CMV-DNA PCR 检测具有决定性意义^[23],因其临床表现常不典型,且培养极为困难。此外,qPCR 的定量功能对于监测抗病毒治疗后的病毒载量变化、评估疗效至关重要。研究表明,病毒 DNA 载量与临床症状评分呈正相关,可提示疾病严重程度。通过结合测序技术,还能进一步分析病毒基因型及识别与耐药相关的基因突变(如 HSV 胸苷激酶基因突变),为临床制定个性化治疗方案提供分子层面的指导。

除了 qPCR,一些新技术在 HSK 诊断中展现出潜力。多重点杂交(MDH) assay 能够同时检测多种病原体,对于混合感染的鉴别有优势。一项研究显示,其诊断 HSK 的敏感性和特异性分别达到 93.3% 和 100%,阳性与阴性预测值也极高,且能在一天内出结果。免疫层析法(ICGA),如商品化试剂盒 AmpliVue,通过等温扩增技术,可在约 1 小时内快速检测 HSV DNA,为门诊提供初步诊断工具。其在角膜结膜样本中的敏感性可达 84%。另一种 ICGA 试剂盒可直接检测病毒糖蛋白 D 抗原,15 分钟内即可获得结果,与临床诊断的阳性符合率为 55.0%,阴性符合率为 100%。泪膜抗体/抗原检测,即检测泪液中 HSV 特异性的分泌型 IgA(sIgA)或感染细胞蛋白 0(ICP0),可作为补充手段。研究表明,联合检测泪液中的 HSV DNA 和 sIgA,能比单一方法获得更高的诊断敏感性(76.9%)和阴性预测值。

总而言之,qPCR 是病毒性角膜炎分子诊断的基石。临床应用中,应优先采用角膜刮片进行检测,并审慎解读结果,尤其是低载量阳性或不典型病例。对于快速筛查,ICGA 等床旁检测具有实用价值;对于疑难或混合感染,MDH 等多元检测技术可提供更全面的信息。分子诊断的终极目标是建立与临床表型紧密关联的标准化检测与解读流程。

4.4 阿米巴角膜炎的分子诊断 阿米巴角膜炎诊断困难,常被误诊或延迟诊断,导致预后不良。其分子诊断主要依赖于检测阿米巴的核糖体 DNA。临床上较易开展的棘阿米巴分子诊断方法为 qPCR,可提供快速、敏感的实验室诊断依据。共识推荐采用 TaqMan 探针法,其特异性扩增引物旨在识别 JDP1/JDP2 所对应的棘阿米巴 18S rDNA 的 ASA.S1 片段(序列为 5'-GGCCCAGATCGTTTACCGTGAA-3' / 5'-TCTCACAAGCTGCCTAGGAGCTCA-3')。针对棘阿米巴 18S 小亚基单位核糖体 DNA 的 qPCR,是目前最敏感和特异的诊断方法之一^[24]。以 18S 为靶点设计的 qPCR assay 具有极高的检测灵敏度,能够同时检出处于活动期的滋养体和休眠期的包囊两种形态,其诊断效能显著优于检出率低的传统培养和镜检。

在临床应用中,该技术已成为早期诊断和确诊的基石,尤其当患者具有典型的接触镜佩戴史、剧烈眼痛与临床体征不符等特征,但共聚焦显微镜检查未能发现明确包囊,或传统病原学检查呈阴性时,qPCR 是获取病原学证据、避免延误治疗的关键工具。该技术不仅能检测具有代谢活性的滋养体,也能检测处于休眠状态的包囊,这对于评估治疗效果和发现潜在复发风险具有重要意义。在临床疑似但镜检和培养阴性的病例中,qPCR 已成为确诊阿米巴感染不可或缺的工具。

此外,mNGS 亦可用作疑难病例诊断及虫株种属鉴定,但其诊断效能有待进一步研究验证。在共识推荐的诊断路径中,分子生物学检查(棘阿米巴 PCR 检查)结果阳性被列为重要的确诊依据之一,与在角膜标本中发现病原体、或共聚焦显微镜(IVCM)下观察到典型病原体结构具有同等关键的诊断价值。

5 分子诊断结果的解读与报告规范

分子诊断结果的解读是连接实验室数据与临床决策的桥梁,其核心在于区分病原体的致病状态与定植/污染。高灵敏度技术使得检测痕量核酸成为可能,但也提高了假阳性风险。假阳性结果主要来源于:① 采样或实验过程中的交叉污染;② 眼表或非致病性微生物定植核酸;③ 既往感染后

残留的非活性病原体核酸。因此,任何阳性分子诊断结果都必须结合以下要素进行临床综合评判,以确定其“临床承认程度”:① 患者典型的临床症状与体征;② 样本质量(如细胞学分级);③ 病原体核酸载量(Ct 值/序列数);④ 传统镜检或培养结果;⑤ 对经验性治疗的反应。单纯依赖分子阳性报告而缺乏临床支持,不足以确诊感染性角膜炎。

5.1 细菌性角膜炎分子诊断结果的解读与报告规范 qPCR 的阳性判断阈值(Ct 值)应基于特定试剂和平台,通过严格的性能验证(包括使用临床样本进行 ROC 曲线分析)来确定,以优化诊断效能,区分活动性感染与定植。较低 Ct 值(如 ≤ 30)通常提示较高的核酸载量,与急性感染相关;而临界值附近或较高的 Ct 值结果需谨慎解读,并结合临床表现和其他微生物学证据综合判断。

基于 16S rRNA 基因测序进行病原鉴定时,需保证测序数据本身的质量与可靠性,例如要求序列达到足够的覆盖深度和准确度,以确保后续比对和物种分类的可信度^[25]。mNGS 报告的病原体,其序列数据应在样本中具有显著的相对丰度或统计学显著性,并需通过生信分析管道系统性地排除来自宿主、试剂及环境的背景噪音和常见污染^[26]。

所有分子检测结果都必须由临床医生结合患者的具体体征(如溃疡大小、前房反应、视力下降速度)进行解读。当分子检测结果与临床表现不一致时,应以临床表现为首要考量,并对分子结果的可信度进行重新评估,必要时采用传统微生物学方法进行验证。

检测报告应包含以下核心内容:明确标注所采用的检测方法,如“16S rDNA PCR+测序”或“多重 PCR”;详细报告检测出的病原体种类与载量信息,包括具体菌种(如铜绿假单胞菌)及基于 Ct 值或序列数的半定量载量分级(低/中/高)。在结果解释与临床建议部分,若检出耐药基因(如 *mecA*),应注明“提示甲氧西林耐药,建议避免 β -内酰胺类抗生素”;对于混合感染病例,应按载量高低顺序列出主要病原体,并建议采用覆盖广谱抗菌药物的治疗方案。对条件致病菌的解读需特别谨慎。凝固酶阴性葡萄球菌、棒状杆菌等常见结膜定植菌,必须满足高载量(Ct 值 < 30)且与角膜病灶定位一致的条件方可报告阳性,否则应备注“不排除污染或定植”的可能。

5.2 真菌性角膜炎分子诊断结果的解读与报告规范 真菌性角膜炎的分子诊断中,用基于 ITS 区的 qPCR 进行检测时,其阳性判断阈值(Ct 值)应由实验室根据所用试剂和平台,通过严格的性能验证自行建立并确定^[27]。

分子检测阳性结果需谨慎解读,必须与患者的临床表现、角膜刮片镜检或真菌培养结果相结合,以区分活动性感染与定植或残留核酸。对于 mNGS 检测,其阳性结果的判定应遵循规范化的生信分析和报告解读流程^[28]。可靠的病原体判定通常需要满足多重标准,例如:特异性序列数显著高于背景对照、具有合理的相对丰度、其检出符合临床意义,以及(在可能的情况下)在真菌基因组的多个保守区域(如 ITS、LSU)均能检测到该病原体的序列,以提高鉴定的准确性和特异性。

在结果与临床表现的一致性分析方面,典型体征(如卫星灶、菌丝苔被、内皮斑)结合 PCR 阳性结果可确立诊断。若出现 PCR 阳性但病灶表现为细菌性溃疡特征的情况,需怀疑样本交叉污染,建议重复采样或联合共聚焦显微镜检查。

检测报告应明确标注所采用的检测方法,例如“qPCR+测序”或“mNGS”;详细报告菌属(如镰刀菌属、曲霉菌属)及基于序列数的相对载量。在结果解释与临床建议部分,应标注“镰刀菌属对氟康唑天然耐药,推荐那他霉素或伏立康唑”;若检出罕见真菌(如链格孢菌),则建议参考药敏试验调整用药方案。对条件致病菌的解读需保持审慎态度。念珠菌属等常见腐生菌,需在角膜深部样本或重复检测中均呈现高载量方可报告临床阳性,否则备注“建议结合角膜刮片氢氧化钾湿片法验证”。

5.3 病毒性角膜炎分子诊断结果的解读与报告规范 病毒性角膜炎的分子诊断标准要求 qPCR 检测病毒 DNA(如 HSV-1、VZV、CMV)以 Ct 值 ≤ 36 为阳性,其中 Ct 值 < 30 提示病毒处于活动性复制阶段;特别值得注意的是,房水样本中 CMV DNA 载量 $\geq 10^4$ copies/ml 具有重要诊断意义。

在结果与临床表现的一致性分析中,上皮型树枝状溃疡与 HSV-DNA 阳性呈现高度一致性;对于角膜内皮炎病例,房水 CMV-DNA 阳性即可确诊 CMV 内皮炎,即使角膜上皮保持完整状态。病毒载量与疾病活动度密切相关,在治疗后可动态监测 Ct 值变化以评估疗效。

检测报告需明确标注所采用的检测方法,如“多重 qPCR”或“靶向 UL54 基因 CMV 检测”;应详细报告具体病毒类型及定量值(copies/ml 或 Ct 值)。在结果解释与临床建议部分,需标注“HSV-1 阳性,建议局部及全身抗病毒治疗”;若检出耐药突变(如 TK 基因突变),应注明“疑似阿昔洛韦耐药,推荐更换更昔洛韦”。对条件致病菌的解读需要特别谨慎。疱疹病毒潜伏感染可能导致低载量阳性(Ct 值 > 36),若无活动性角膜病变,应备注“可能为

潜伏感染,需结合临床表现综合判断”。

5.4 阿米巴角膜炎分子诊断结果的解读与报告规范 阿米巴角膜炎的分子诊断标准要求 18S rDNA qPCR 以 Ct 值 ≤ 35 为阳性,且序列匹配度需 $\geq 99\%$;在 mNGS 检测中,棘阿米巴序列数需显著高于背景(如 > 50 倍),并需经过 PCR 验证确认。

在结果与临床表现的一致性分析方面,环形浸润、放射状神经炎与 PCR 阳性结果呈现高度相关性;包囊期虽然载量较低(Ct 值 30~35),但仍具有重要诊断价值。治疗后载量下降缓慢可能提示包裹残留,这与疾病复发风险密切相关。

检测报告应明确标注所采用的检测方法,如“18S rDNA TaqMan qPCR”或“mNGS+靶向验证”。在结果解释与临床建议部分,应注明“棘阿米巴 T4 型阳性,推荐 0.02% 氯己定联合普罗帕咪联合治疗”;若载量较高且伴有前房炎症,建议评估是否需联合角膜清创术。对条件致病菌的解读需要格外谨慎。环境中的游离阿米巴污染可能导致假阳性结果,必须满足临床体征典型且载量持续升高的条件方可确认致病性。

总之,在分子诊断报告的编制过程中,应特别注重方法学的透明度,明确说明技术原理与局限性,例如 PCR 无法区分病原体活性,mNGS 需警惕数据库偏差等问题。临床关联性方面,必须强调检测结果需要与裂隙灯检查、共聚焦显微镜等影像学证据进行整合分析。动态监测具有重要价值,建议在治疗后 1~2 周复查载量,以评估疗效与耐药风险。对于条件致病菌的注释,应对低风险病原体附加警示说明,以避免过度治疗的情况发生。

6 小结

感染性角膜炎的病原学诊断需要建立系统化的诊疗路径。眼科医师在申请实验室检查前,应全面评估眼部病变的临床特征,根据初步拟诊精准选择染色方法及培养策略。当出现刮片或涂片检测结果与培养结果不一致的情况时,实验室人员需及时与临床医师沟通,共同分析差异产生的可能原因。对于脓性标本培养阴性的结果,应综合考虑多种影响因素,包括取材部位与方法的规范性、转运条件与时间、患者近期抗生素使用史、麻醉剂对微生物活性的抑制效应,以及是否存在特殊病原体等。

在此过程中,分子诊断技术展现出其显著优势与重要价值。相较于传统方法,它通过直接检测病原体特异性核酸序列,实现了高灵敏度与高特异性,能将诊断效能从“天数级”提升至“小时级”。例如,mNGS 无需预设病原体即可对样本中全部微生

物进行无偏倚筛查,使传统培养阴性的疑难病例诊断率获得极大地提高,并能全面揭示混合感染的复杂情况。此外,基于 qPCR 或 多重 PCR 的检测体系,不仅能实现快速病原鉴定,还可同步进行耐药基因分析,为早期精准抗感染治疗提供了关键的分子依据。

在此特别强调,眼科医师与微生物检验人员之间需要建立紧密的协作机制。临床医师应掌握正确的标本采集技术,并在条件允许时积极推行床旁接种,以最大限度提高病原体检出率。实验室方面则应建立完善的眼科病原体检测技术平台,除传统的培养方法外,还应具备分子诊断、免疫学检测及特殊染色等多元化技术手段,特别是要补充病毒、非典型病原体及寄生虫等特殊病原体的检测能力。

需要指出的是,常规抗菌药物敏感性试验的折点标准主要基于全身给药途径制定,并不完全适用于眼科局部用药场景。在多数情况下,抗感染治疗方案仍需依赖医师的临床经验,并结合本地区的流行病学数据和耐药监测结果进行个体化调整。通过加强实验室与临床的深度合作,才能最终实现感染性角膜炎的精准诊断与有效治疗。本共识倡导,在推广和应用分子诊断技术的同时,必须强化对结果的审慎解读。临床医师应充分了解分子诊断的技术原理与局限,检验人员应深入理解眼部感染的临床特征,双方通过有效沟通,共同评判每一份分子报告的真实临床意义,避免技术优势因解读不当而转化为临床决策的风险,从而使分子诊断真正成为提升感染性角膜炎诊疗水平的有力工具。

执笔专家

龚波(四川省医学科学院·四川省人民医院),洪佳旭(复旦大学附属眼耳鼻喉科医院),晋秀明(浙江大学医学院附属第二医院),余曼(四川省医学科学院·四川省人民医院)

参与共识意见形成的专家组成员(按姓氏拼音排序)

陈百华(中南大学湘雅二医院),陈吉利(上海市市北医院),陈陆霞(天津市眼科医院),陈琦(广西壮族自治区人民医院),陈蔚(温州医科大学附属眼视光医院),程燕(西安市第一医院),丁琳(新疆维吾尔自治区人民医院),董贺(大连理工大学附属第三人民医院),董锴(四川省医学科学院·四川省人民医院),董诺(厦门大学附属厦门眼科中心),董燕玲(山东第一医科大学附属青岛眼科医院),冯云(北京大学第一医院),谷浩(贵州医科大学附属医院),顾正宇(安徽医科大学第一附属医院),郭萍

(深圳市眼科医院),何宇(四川省医学科学院·四川省人民医院),胡建章(福建医科大学附属协和医院),黄晓丹(浙江大学医学院附属第二医院),霍亚楠(浙江大学医学院附属第二医院),接英(首都医科大学附属北京同仁医院),揭黎明(厦门大学附属厦门眼科中心),柯碧莲(上海交通大学医学院附属仁济医院),李贵刚(华中科技大学同济医学院附属同济医院),李兰(昆明市第一人民医院),李琳(内蒙古医科大学附属医院),李素霞(山东省眼科医院),李颖(西安市人民医院(西安市第四医院)),林琳(浙江大学医学院附属第二医院),刘海(云南大学附属医院),刘俐娜(海南省眼科医院),陆成伟(吉林大学第一医院),莫茜(四川省医学科学院·四川省人民医院),曲利军(哈尔滨医科大学附属第二医院),渠继芳(上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心),热孜万·买买提明(新疆维吾尔自治区人民医院),任胜卫(河南省人民医院),邵毅(上海交通大学医学院附属上海市第一人民医院),石磊(安徽省第二人民医院),田磊(首都医科大学附属北京同仁医院),吐尔洪江·麦麦提(新疆喀什地区第二人民医院),王林农(南京爱尔眼科医院),王旭(济南市第二人民医院),吴洁(西安市第一医院眼科医院),吴娟(西宁市第一人民医院),吴鹏程(兰州大学第二医院),武耀红(山西医科大学第二医院),肖湘华(西安市第一医院 陕西省眼科研究所),谢华桃(华中科技大学同济医学院附属协和医院),徐玲娟(华中科技大学同济医学院附属同济医院),徐梅(重庆医科大学附属第一医院),薛劲松(南京医科大学眼科医院),杨侃(兰州市第一人民医院),杨瑞波(天津医科大学眼科医院),杨燕宁(武汉大学人民医院),俞莹(上海中医药大学附属曙光医院),曾庆延(武汉大学附属爱尔眼科医院),张琪(重庆医科大学附属第一医院),张晓峰(苏州大学附属第四医院),张宇燕(上海中医药大学附属龙华医院),赵少贞(天津医科大学眼科医院),郑钦象(浙江大学医学院附属邵逸夫医院),郑霄(华夏渝州眼科医院),郑晓汾(山西省眼科医院),周旭娇(复旦大学附属眼耳鼻喉科医院)

利益冲突 所有参与制定本共识的专家均声明不存在任何利益冲突

共识声明 本共识的制定,既充分考虑患者的成本效益、个人价值观与选择偏好,也兼顾可能的社会负担、当前诊疗方案的可行性以及患者的接受程度,旨在为眼科医师的临床诊疗工作提供客观、适宜的参考意见。

免责声明 本共识的内容仅代表参与制定的

专家对本共识的指导意见,供临床医生参考。尽管专家们进行了广泛的意见征询和讨论,但仍有不全面之处。本共识所提供的建议并非强制性意见,与本共识不一致的做法并不意味着错误或不当。临床实践中仍存在诸多问题需要探索,正在进行和将来开展的研究将提供进一步的证据。随着临床经验的积累和研究的进展,未来需要对本共识定期修订、更新为受检者带来更多临床获益。

【参考文献】

- [1] Flaxman SR, Bourne RRA, Resnikoff S, et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990-2020; a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet Glob Health*, 2017,5(12): e1221-e1234.
- [2] Ting DSJ, Ho CS, Deshmukh R, et al. Infectious keratitis: an update on epidemiology, causative microorganisms, risk factors, and antimicrobial resistance[J]. *Eye (Lond)*, 2021,35(4): 1084-1101.
- [3] Song X, Xie L, Tan X, et al. A multi-center, cross-sectional study on the burden of infectious keratitis in China[J]. *PLOS ONE*, 2014,9(12): e113843.
- [4] Cabrera-Aguas M, Khoo P. Watson, infectious keratitis: a review [J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2022,50(5): 543-562.
- [5] Jayasudha R, Narendran V, Manikandan P, et al. Identification of poly-bacterial communities in patients with postoperative, posttraumatic, and endogenous endophthalmitis through 16S rRNA gene libraries[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2020,52(5): 1459-1466.
- [6] Holmgaard DB, Barnadas C, Mirbarati SH, et al. Detection and identification of acanthamoeba and other nonviral causes of infectious keratitis in corneal scrapings by real-time PCR and next-generation sequencing-based 16S-18S gene analysis [J]. *J Clin Microbiol*, 2021,59(2): e02224-20.
- [7] Mills B, Radhakrishnan N, Karthikeyan Rajapandian SG, et al. The role of fungi in fungal keratitis[J]. *Exp Eye Res*, 2021,202: 108372.
- [8] Donovan C, Arenas E, Ayyala RS, et al. Fungal keratitis: mechanisms of infection and management strategies[J]. *Surv Ophthalmol*, 2022,67(3): 758-769.
- [9] Ung L, Bispo PJM, Shanbhag SS, et al. The persistent dilemma of microbial keratitis: Global burden, diagnosis, and antimicrobial resistance[J]. *Surv Ophthalmol*, 2019,64(3): 255-271.
- [10] Yuen GY. Schoneweis, strategies for managing fusarium head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat[J]. *Int J Food Microbiol*, 2007,119(1-2): 126-130.
- [11] Sha XY, Shi Q, Liu L, et al. Update on the management of fungal keratitis[J]. *Int Ophthalmol*, 2021,41(9): 3249-3256.
- [12] Brown L, Leck AK, Gichangi M, et al. The global incidence and diagnosis of fungal keratitis[J]. *Lancet Infect Dis*, 2021,21(3): e49-e57.
- [13] Valerio GS, Lin CC. Ocular manifestations of herpes simplex virus [J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2019,30(6): 525-531.
- [14] Koganti R, Yadavalli T, Naqvi RA, et al. Pathobiology and treatment of viral keratitis[J]. *Exp Eye Res*, 2021,205: 108483.
- [15] Ibrahim YW, Boase DL, Cree IA. Factors affecting the epidemiology of Acanthamoeba keratitis[J]. *Ophthalmic Epidemiol*, 2007,14(2): 53-60.
- [16] 棘阿米巴角膜炎诊断与治疗专家共识制定小组,中国医师协会眼科医师分会眼感染学组,棘阿米巴角膜炎诊断与治疗专家共识(2023)[J]. *中华实验眼科杂志*, 2023,41(10): 953-960.
- [17] Schroeder JM, Booton GC, Hay J, et al. Use of subgenomic 18S ribosomal DNA PCR and sequencing for genus and genotype identification of acanthamoebae from humans with keratitis and from sewage sludge[J]. *J Clin Microbiol*, 2001,39(5): 1903-1911.
- [18] 北京医学会检验分会,感染性眼病的病原微生物实验室诊断专家共识[J]. *中华检验医学杂志*, 2022,45(1): 14-23.
- [19] Leal SM, Rodino KG, Fowler WC, et al. Practical guidance for clinical microbiology laboratories: diagnosis of ocular infections [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2021,34(3): e0007019.
- [20] Ren Z, Liu Q, Wang Y, et al. Diagnostic information profiling and evaluation of causative fungi of fungal keratitis using high-throughput internal transcribed spacer sequencing[J]. *Sci Rep*, 2020,10(1): 1640.
- [21] Ferrer C, Alió JL. Evaluation of molecular diagnosis in fungal keratitis. Ten years of experience[J]. *J Ophthalmic Inflamm Infect*, 2011,1(1): 15-22.
- [22] Pan XY, Wang M, Xu YD, et al. Application of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of infectious keratitis[J]. *J Ophthalmol*, 2024,2024: 9911979.
- [23] Kandori M, Inoue T, Takamatsu F, et al. Prevalence and features of keratitis with quantitative polymerase chain reaction positive for cytomegalovirus[J]. *Ophthalmology*, 2010,117(2): 216-222.
- [24] Zhang Y, Sun X, Wang Z, et al. Identification of 18S ribosomal DNA genotype of acanthamoeba from patients with keratitis in north China[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2004,45(6): 1904-1907.
- [25] Lin X, Waring K, Ghezzi H, et al. High accuracy meets high throughput for near full-length 16S ribosomal RNA amplicon sequencing on the Nanopore platform[J]. *PNAS Nexus*, 2024,3(10): pgae411.
- [26] Deng X, Achari A, Federman S, et al. Metagenomic sequencing with spiked primer enrichment for viral diagnostics and genomic surveillance[J]. *Nat Microbiol*, 2020,5(3): 443-454.
- [27] Ghenciu LA, Faur AC, Bolintineanu SL, et al. Recent advances in diagnosis and treatment approaches in fungal keratitis: a narrative review[J]. *Microorganisms*, 2024,12(1): 161.
- [28] 中国药学会,中华医学会细菌感染与耐药防治分会,国家卫生健康委临床抗微生物药物敏感性折点研究和标准制定专家委员会,病原宏基因组高通量测序临床本地化检测规范专家共识[J]. *中华预防医学杂志*, 2024,58(4): 454-465.

(收稿日期:2026-03-30;修回日期:2026-04-07)

(本文编辑:彭羽)