

# 共聚焦显微镜在真菌性角膜炎中的应用

王学勇, 王绪梅

作者单位: (276600) 中国山东省莒南县红十字光明医院眼科  
作者简介: 王学勇, 男, 毕业于锦州医学院, 学士, 研究方向: 角膜病、晶状体病、视网膜病。  
通讯作者: 王绪梅, 毕业于济宁医学院, 护师, 研究方向: 视网膜病。 wxywangxueyong@126. com  
收稿日期: 2010-11-19 修回日期: 2010-12-06

## Application of confocal microscopy in fungal keratitis

Xue-Yong Wang, Xu-Mei Wang

Department of Ophthalmology, Red Cross Light Hospital of Junan County, Junan County 276600, Shandong Province, China

Correspondence to: Xu-Mei Wang. Department of Ophthalmology, Red Cross Light Hospital of Junan County, Junan County 276600, Shandong Province, China. wxywangxueyong@126. com

Received: 2010-11-19 Accepted: 2010-12-06

### Abstract

- AIM: To investigate the application of confocal microscopy in fungal keratitis.
- METHODS: A total of 42 patients 42 eyes diagnosed with suspected fungal keratitis were performed the confocal microscopy and corneal lesions stained tissue smear examination simultaneously and the results were analysed retrospectively.
- RESULTS: In 42 patients 42 eyes with fungal keratitis, fungal hyphae was observed in 39 eyes (93%) by the confocal microscopy, however in 30 eyes (71%) by corneal lesions stained tissue smear examination. Statistical analysis showed that the difference was statistically significant ( $\chi^2 = 6.574, P < 0.05$ ).
- CONCLUSION: Confocal microscopy is a noninvasive, efficient, intuitive inspection equipment, which has important clinical value in the initial diagnosis of fungal keratitis.
- KEYWORDS: microscopy; confocal; keratitis; fungal

Wang XY, Wang XM. Application of confocal microscopy in fungal keratitis. *Guji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(2):311-312

### 摘要

目的: 探讨共聚焦显微镜在真菌性角膜炎中的应用价值。  
方法: 回顾性分析在我院就诊的拟诊为真菌性角膜炎患者 42 例 42 眼, 行共聚焦显微镜检查, 同时行角膜病灶组织刮片染色检查。  
结果: 真菌性角膜炎患者 42 例 42 眼, 行共聚焦显微镜检查, 观察到真菌菌丝为 39 例 39 眼, 检出阳性率 93% (39/42), 行角膜病灶组织刮片染色镜检, 观察到真菌菌丝为 30 例

30 眼, 检出阳性率 71% (30/42)。统计学分析表明两者差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 6.574, P < 0.05$ )。

结论: 共聚焦显微镜是一种无创、高效、直观的检查设备, 对真菌性角膜炎的初步诊断有着重要的临床价值。

关键词: 显微镜; 共聚焦; 角膜炎; 真菌性

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2011.02.036

王学勇, 王绪梅. 共聚焦显微镜在真菌性角膜炎中的应用. 国际眼科杂志 2011;11(2):311-312

### 0 引言

真菌性角膜炎在就诊时, 多依据角膜植物性外伤史, 再结合病灶的特征做出初步诊断。然后给予角膜病灶组织刮片染色镜检, 然而检出阳性率并不高。而真菌培养费时, 不利于早期诊断。共聚焦显微镜作为一种非侵入性检查设备可高效、直观的观察真菌菌丝, 达到早期诊断, 指导临床用药。我院 2010-07/11 就诊的拟诊为真菌性角膜炎患者 42 例 42 眼行共聚焦显微镜检查, 取得了良好的效果, 报告如下。

### 1 对象和方法

1.1 对象 回顾性分析 2010-07/11 在我院就诊的拟诊为真菌性角膜炎患者 42 例 42 眼, 男 29 例 29 眼, 女 13 例 13 眼, 右眼 18 例, 左眼 24 例, 年龄 35 ~ 85 岁。角膜植物性外伤史 31 例 31 眼。无明显诱因 11 例 11 眼。就诊时间 1 ~ 20d。来我院就诊以前在当地医院误认为“感冒”、“红眼病”而经过抗细菌、抗病毒、糖皮质激素等药物治疗者 37 例 37 眼。未经过任何治疗的 5 例 5 眼。所有患者均未经过抗真菌药物治疗。

1.2 方法 拟诊为真菌性角膜炎的 42 例 42 眼。使用 Heidelberg 公司生产的 HRT III 型共聚焦显微镜进行检查。检查前, 在受检眼的结膜囊内滴 5g/L 丙美卡因滴眼液 2 次, 每次间隔 3min, 用弹簧式开睑器开睑, 嘱患者将下颌置于托架上, 前额紧靠头带, 保持头位与显微镜探头垂直, 在显微镜探头表面涂布均匀 2g/L 卡波姆凝胶, 在探头前套上 1 个一次性无菌帽, 注意无菌帽内壁与探头表面要没有空隙或气泡, 通过调节主机上的手柄使戴有无菌帽的探头与患者受检眼角膜接触, 调节成像焦点平面, 使角膜各层图像通过计算机屏幕快速显示, 查找真菌菌丝, 并存入电脑<sup>[1]</sup>。拟诊为真菌性角膜炎患者 42 例 42 眼。在行共聚焦显微镜检查后, 行角膜病灶组织刮片, 革兰氏染色, 光镜下查找真菌菌丝。

统计学分析: 研究数据采用 SPSS 11.5 统计学软件分析, 采用  $\chi^2$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

真菌性角膜炎患者 42 例 42 眼。行共聚焦显微镜检查, 观察到真菌菌丝为 39 例 39 眼, 检出阳性率 93% (39/42)。行角膜病灶刮片染色检查, 见真菌菌丝为 30 例 30 眼, 检出阳性率 71% (30/42)。统计学分析表明两者差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 6.574, P < 0.05$ )。

### 3 讨论

真菌性角膜炎是一种由致病真菌引起的致盲率极高的感染性角膜病变。常发生于角膜植物性外伤后,也可发生在其他的角膜上皮缺损后,一些菌种的发病与机体的免疫失调有关<sup>[2]</sup>。我们主要是根据典型的临床表现作出初步诊断:(1)菌丝苔被。表现为角膜感染灶呈灰白色轻度隆起,外观干燥,无光泽,与其下方组织粘连紧密;(2)伪足。在角膜感染灶周围有伪足,像树枝状浸润;(3)卫星灶。在角膜感染灶周围出现与病灶之间没有联系的小的圆形感染灶;(4)免疫环。在角膜感染灶周围出现环形浸润,与感染灶之间有一模糊的透明带;(5)内皮斑。角膜内皮面有圆形块状斑,常见于病灶的下方或周围<sup>[3]</sup>。

由于真菌性角膜炎在就诊前大多数已在当地诊所误诊为“感冒”、“红眼病”而给予抗病毒、抗细菌及糖皮质激素等药物治疗。当治疗无效时才来就诊,此时已失去典型的临床表现,给临床诊断增加难度。此时我们在临床中拟诊为真菌性角膜炎时,还要依据辅助检查,包括角膜病灶刮片染色、真菌培养和角膜组织活检等。此外,免疫荧光染色、电子显微镜检查和PCR技术也用于真菌性角膜炎的诊断。在此,我们重点来讨论共聚焦显微镜检查。共聚焦显微镜诊断真菌性角膜炎主要是以直接观察到真菌菌丝为依据<sup>[4,5]</sup>。我院对临床上拟诊为真菌性角膜炎的42例42眼患者,行Heidelberg公司生产的HRTⅢ型共聚焦显微镜检查,其优点如下:(1)检出阳性率高。HRTⅢ型共聚焦显微镜放大倍率为800倍,视野为400 $\mu\text{m}$ ×400 $\mu\text{m}$ ,水平与纵向分辨率为1 $\mu\text{m}$ ,能获取清晰的图像。我院对拟诊为真菌性角膜炎患者42例42眼行共聚焦显微镜检查,有39例39眼直接观察到真菌菌丝,检出阳性率为93%。这与谢立信等<sup>[6]</sup>报道的96.9%,潘飞等<sup>[7]</sup>报道的95.56%(4345)相近。(2)诊断快速。Scquence模式,在同一断层平面上以10幅/s速度连续记录动态图像。Section模式,选取角膜任意层面拍照,所见即所得。Volume模式,沿z轴动态连续扫描,每组图像间隔2 $\mu\text{m}$ ,总体扫描深度80 $\mu\text{m}$ ,可采集到基质深层真菌菌丝。(3)安全无创。检查探头前套一次性无菌帽,与角膜接触,不会损伤角膜,患者检查前已滴表面麻醉药,无不适感。(4)可重复性。在治疗过程中可多次检查,尤其是对同一患者,检查真菌菌丝

有无减少或增多,指导临床合理用药。

当然,每一种检查设备在具备优点的同时,也有其缺点。HRTⅢ型共聚焦显微镜也不例外。(1)不能进行真菌分型,李绍伟等<sup>[8]</sup>尝试用共聚焦显微镜鉴别真菌菌种,但尚未形成系统理论。(2)对角膜溃疡面积较小、位置表浅的易漏诊。(3)检查者的经验在一定程度上也会影响扫描质量<sup>[9]</sup>。(4)检查费用较贵。在我国眼科医院或眼科门诊,尤其是基层医院,并未常规开展。

为了提高检查的准确性,在临床工作中,我们总结经验如下:(1)在检查前,充分麻醉被检眼,同时为防止角膜干燥,可滴用羟糖苷等润滑剂,争取患者配合检查。(2)根据病灶区图像反光强弱,调整亮度,使成像清晰可辨<sup>[10]</sup>。(3)选择病灶中央及周围4个位点进行观察,能较全面的反应病情的变化<sup>[11]</sup>。

总之,真菌性角膜炎的早期诊断至关重要。共聚焦显微镜检查为其提供了充分的依据,对临床治疗和研究具有重要的价值。

#### 参考文献

- 1 徐建江,乐琦华.眼表活体共聚焦显微镜.第1版.上海:复旦大学出版社2009:5-12
- 2 惠延年.眼科学.第5版.北京:人民卫生出版社2003:83-84
- 3 李凤鸣.中华眼科学.第2版.北京:人民卫生出版社2005:1216-1220
- 4 Florakis GJ, Moazami G, Schubert H, et al. Scanning slit confocal microscopy of fungal keratitis. *Arch Ophthalmol* 1997;115(11):1461-1463
- 5 Winchester K, Mathers WD, Sutphin JE. Diagnosis of Aspergillus keratitis in vivo with confocal microscopy. *Corneal* 1997;16(1):27-31
- 6 谢立信,李绍伟.共聚焦显微镜在真菌性角膜炎临床诊断中的应用. *中华眼科学* 1999;35(1):7-9
- 7 潘飞,张蓓,姚玉峰,等.共聚焦显微镜在临床诊断真菌性角膜炎中的应用. *中国实用眼科杂志* 2004;22(1):23-25
- 8 李绍伟, Gebhardt BM, 史伟云.共聚焦显微镜鉴别诊断真菌性角膜炎的实验研究. *眼科研究* 2001;17(5):389-392
- 9 郑洋,乔一平,张熙伯,等.真菌性角膜炎70例早期临床诊断分析. *国际眼科杂志* 2010;10(4):662-664
- 10 史伟云,牛晓光,王富华,等.真菌性角膜炎药物治疗后转归的共聚焦显微镜观察. *中华眼科学* 2005;41(7):614-619
- 11 勒雷,崔建平.聚焦显微镜在角膜溃疡病原学诊断中的临床应用. *国际眼科杂志* 2008;8(12):2512-2513