

# 紫药水在真菌性角膜炎诊断中的应用

谢茂松<sup>1</sup>, 郑永征<sup>2</sup>, 林宇岚<sup>3</sup>, 徐国兴<sup>1</sup>

基金项目: 中国福建省自然科学基金资助项目 (No. 2009-J05063); 中国福建省科技平台建设基金资助项目 (No. 2010-Y2003)

作者单位:<sup>1</sup>(350005) 中国福建省福州市, 福建医科大学附属第一医院眼科 福建省眼科研究所;<sup>2</sup>(350005) 中国福建省福州市, 福建中医药大学附属人民医院眼科;<sup>3</sup>(350005) 中国福建省福州市, 福建医科大学附属第一医院检验科

作者简介: 谢茂松, 博士, 主治医师, 研究方向: 玻璃体与视网膜病。

通讯作者: 徐国兴, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 白内障、玻璃体与视网膜病. zjfmuxgx@pub5. fz. fj. cn

收稿日期: 2011-05-25 修回日期: 2011-07-28

## Application of Methylrosanilinium Chloride in fungal keratitis diagnosis

Mao-Song Xie<sup>1</sup>, Yong-Zheng Zheng<sup>2</sup>, Yu-Lan Lin<sup>3</sup>, Guo-Xing Xu<sup>1</sup>

Foundation items: Fujian Natural Science Foundation, China (No. 2009J05063); Fujian Science and Technology Platform Construction Project, China (No. 2010Y2003)

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University; Eye Institution of Fujian Province, Fuzhou 350005, Fujian Province, China;<sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Affiliated People's Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350005, Fujian Province, China;<sup>3</sup>Department of Inspection, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China

Correspondence to: Guo-Xing Xu, Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University; Eye Institution of Fujian Province, Fuzhou 350005, Fujian Province, China. zjfmuxgx@pub5. fz. fj. cn

Received: 2011-05-25 Accepted: 2011-07-28

## Abstract

• AIM: To investigate the application of Methylrosanilinium Chloride in the diagnosis of fungal keratitis.

• METHODS: Seventy fungal keratitis cases were collected from January 2009 to December 2010. The corneal scraping specimens were performed Methylrosanilinium Chloride staining and 100g/L KOH wet mount before microscopic observation, fungal culture and strain identification. The cultivation results were regarded as the "gold standard" of fungal keratitis diagnosis.

• RESULTS: The cultivation results of 58 cases were positive among 70 samples of fungal keratitis, the positive rate was 82.9%. Methylrosanilinium Chloride staining showed the positive rate was 61.4%, sensitivity 67.2%, specificity 29.6%, false positive rate 33.3%, false negative

rate 32.8%, the correct index -3.1%, positive predictive value 90.7%, negative predictive value 29.6%. 10% KOH wet mount showed the positive rate was 44.3%, sensitivity 44.8%, specificity 17.9%, false positive rate 41.7%, false negative rate 55.2%, the correct index -37.2%, positive predictive value 83.9%, negative predictive value 17.9%.

• CONCLUSION: Methylrosanilinium Chloride staining is a fast, effective way for the early diagnosis of fungal keratitis.

• KEYWORDS: fungal keratitis; Methylrosanilinium Chloride; KOH based smear; culture

Xie MS, Zheng YZ, Lin YL, et al. Application of Methylrosanilinium Chloride in fungal keratitis diagnosis. *Guoji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(9):1585-1587

## 摘要

目的: 探讨紫药水在真菌性角膜炎诊断中的应用。

方法: 我院 2009-01/2010-12 诊断为真菌性角膜炎病例 70 例, 行角膜刮片, 标本分别行紫药水染色、KOH 湿片检查和真菌培养及菌种鉴定。以培养结果做为确诊真菌性角膜炎的“金标准”。

结果: 真菌性角膜炎病例 70 例中 58 例检出真菌, 阳性率 82.9%。紫药水染色法查找真菌阳性率 61.4%, 灵敏度 67.2%, 特异度 29.6%, 假阳性率 33.3%, 假阴性率 32.8%, 正确指数 -3.1%, 阳性预测值 90.7%, 阴性预测值 29.6%。KOH 湿片法查找真菌阳性率 44.3%, 灵敏度 44.8%, 特异度 17.9%, 假阳性率 41.7%, 假阴性率 55.2%, 正确指数 -37.2%, 阳性预测值 83.9%, 阴性预测值 17.9%。

结论: 紫药水染色法是真菌性角膜炎早期诊断的快速、有效方法。

关键词: 真菌性角膜炎; 紫药水; KOH 湿片法; 培养  
DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2011.09.028

谢茂松, 郑永征, 林宇岚, 等. 紫药水在真菌性角膜炎诊断中的应用. 国际眼科杂志 2011;11(9):1585-1587

## 0 引言

真菌性角膜炎是严重的致盲眼病, 多发生在农业人口为主的发展中国家, 如中国、印度等。近年来, 真菌性角膜炎发病率呈上升趋势, 部分地区成为首位感染性眼病<sup>[1-3]</sup>。真菌性角膜炎的确诊需依靠实验室检查, 目前仍然以涂片细胞学和真菌培养为主<sup>[4]</sup>。真菌性角膜炎诊断的“金标准”是真菌培养及菌种鉴定<sup>[4,5]</sup>, 但培养所需时间较长, 一般需 2~21d, 明确诊断往往延误治疗<sup>[5]</sup>。传统 KOH 湿片法检查真菌性角膜炎的诊断阳性率低, 误诊率高。如何快速准确地诊断真菌性角膜炎是目前研究的热点<sup>[4]</sup>。本研

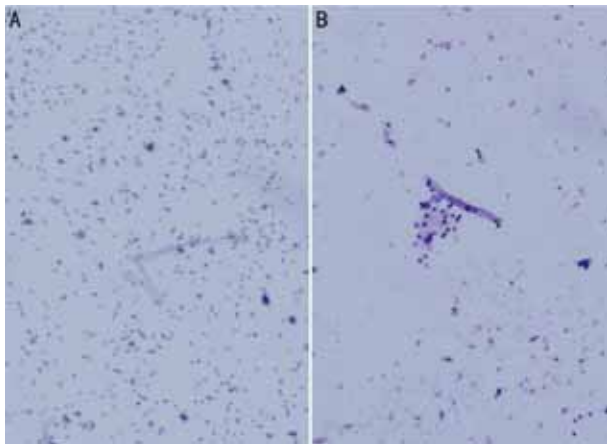


图1 涂片查找真菌(×100) A:KOH湿片法;B:紫药水染色法。

究收集 2009-01/2010-12 诊断为真菌性角膜炎病例 70 例行角膜刮片,探讨紫药水在真菌性角膜炎诊断中的应用价值。

### 1 对象和方法

**1.1 对象** 我院 2009-01/2010-12 诊断为真菌性角膜炎病例 70 例,其中男 54 例,女 16 例;右眼 38 例,左眼 32 例;年龄 5~83(平均 52.2)岁;农民 47 例,工人 14 例,其他 9 例;眼外伤史 53 例,引起外伤的异物为植物性(谷物、草、木头、竹子、树叶等)35 例,土壤 11 例,焊屑 3 例,其他 4 例;7 例既往有使用糖皮质激素、免疫抑制剂病史;10 例无明显病因。

### 1.2 方法

**1.2.1 检查方法** 患眼倍诺喜表面麻醉,750mL/L 乙醇消毒眼周皮肤,开睑器开睑,用消毒手术刀刮取角膜溃疡表面、周边部及基底部物质,标本涂片行紫药水染色和 KOH 湿片法查找真菌,并行真菌培养。KOH 湿片法查找真菌:取适量角膜溃疡刮取物涂片于载玻片上,尽量将刮取物薄层铺开,滴加 100g/L KOH 1 滴,盖上盖玻片,放置 10min,使杂质溶解,显微镜下先用低倍镜找到标本位置,再用高倍镜查找菌丝和孢子。紫药水染色查找真菌:取适量角膜溃疡刮取物涂片于载玻片上,尽量将刮取物薄层铺开,火焰固定,紫药水过滤后染色 20s,水洗后烘干封片,显微镜下先用低倍镜找到标本位置,再用高倍镜查找菌丝和孢子。真菌培养:取适量角膜溃疡刮取物接种于沙氏培养基试管,斜面朝上,25℃ 温箱孵育培养 3~21d,观察有无真菌生长,根据菌落的外观、生长速度、菌丝、孢子或菌细胞形态特征等进行菌种鉴定。

**1.2.2 数据收集及统计处理** 以真菌培养结果作为确诊真菌性角膜炎的“金标准”。计算紫药水染色法和 KOH 湿片法查找真菌的阳性率、灵敏度、特异度、假阳性率、假阴性率、正确指数、阳性预测值和阴性预测值。

### 2 结果

KOH 湿片法真菌菌丝显示为近透明条索状结构,与背景对比度差(图 1A)。紫药水染色后真菌菌丝显示为蓝色管腔状结构,与背景对比度强(图 1B)。70 例真菌性角膜炎病例中 58 例检出真菌,阳性率 82.9%。紫药水染色法查找真菌阳性率 61.4%,灵敏度 67.2%,特异度 29.6%,假阳性率 33.3%,假阴性率 32.8%,正确指数-3.1%,阳性预测值 90.7%,阴性预测值 29.6%(表 1)。

表 1 紫药水染色法查找真菌结果与真菌培养结果比较 例

紫药水染色法	真菌培养		合计
	阳性	阴性	
阳性	39	4	43
阴性	19	8	27
合计	58	12	70

表 2 KOH 湿片法查找真菌结果与真菌培养结果比较 例

KOH 湿片法	真菌培养		合计
	阳性	阴性	
阳性	26	5	31
阴性	32	7	39
合计	58	12	70

KOH 湿片法查找真菌阳性率 44.3%,灵敏度 44.8%,特异度 17.9%,假阳性率 41.7%,假阴性率 55.2%,正确指数-37.2%,阳性预测值 83.9%,阴性预测值 17.9%(表 2)。

### 3 讨论

真菌性角膜炎是严重的致盲眼病,早期诊断、早期治疗对视力预后有着决定性的影响。真菌性角膜炎的确诊需依靠实验室检查<sup>[4]</sup>。本研究发现紫药水染色法查找真菌的灵敏度、特异度、阳性率、正确指数、阳性预测值、阴性预测值均高于 KOH 湿片法;紫药水染色法查找真菌的假阳性率、假阴性率均低于 KOH 湿片法。诊断试验的真实性包括灵敏度和特异度。灵敏度即真阳性率,指的是诊断试验能将实际患病的病例正确地判断为患病的能力。特异度即真阴性率,是指诊断试验能将实际未患某病的病例正确地判断为未患病的能力。正确指数(约登指数)=灵敏度+特异度-1。灵敏度、特异度越高,诊断试验的正确指数愈高,则该试验的真实性愈高。本研究发现紫药水染色法查找真菌的灵敏度、特异度和正确指数均高于 KOH 湿片法查找真菌,这说明紫药水染色法查找真菌的真实性更高。阳性预测值是指诊断试验阳性的病例中真阳性的比例;阴性预测值是指试验阴性的病例中真阴性的比例。研究人群患病率水平对诊断试验阳性预测值的影响却很大。本研究人群为临床诊断真菌性角膜炎病例,这属高危人群,诊断试验的阳性预测值较高。本研究发现紫药水染色法查找真菌的阳性预测值高于 KOH 湿片法查找真菌,达 90.7%。这说明紫药水染色法查找真菌阳性的病例患真菌性角膜炎的可能性很大,这可用于指导临床早期治疗。假阳性率指诊断试验将实际未患病的病例错误判断为患病的能力,即为误诊率。假阴性率是指诊断试验将实际患病的病例错误判断为无病的能力,即为漏诊率。本研究发现紫药水染色法查找真菌的假阳性率、假阴性率均低于 KOH 湿片法查找真菌。这说明紫药水染色法查找真菌的误诊率和漏诊率均较低。

紫药水,又称甲紫溶液,是临床常用的皮肤黏膜消毒剂,主要成份为氯化四甲基副品红苯胺、氯化五甲基副品红苯胺与氯化六甲基副品红苯胺的混合物,甲紫溶液为其乙醇、水的 10g/L 溶液。紫药水价格便宜,20mL 一瓶不到 2 元,易于获得。紫药水为紫色液体,可将菌丝、孢子染色紫色,增强与背景的对比度,使菌丝和孢子易于被检出,从

而提高了诊断试验的灵敏度、阳性率、阳性预测值;且染色后的菌丝与角膜纤维、杂质易于区分,提高了诊断试验的特异性、阴性预测值。

影响真菌涂片检出率的因素:(1)紫药水染液:紫药水染液久置后会产生沉淀,过滤后染色,这可减少由于染液沉淀造成假阳性的出现,减低误诊率。(2)标本采集:当刮片中真菌数量少时,紫药水染色检出率就下降<sup>[4,5]</sup>。由于真菌生长多位于溃疡周边部及底部,但溃疡中央的白色黏性物质往往是菌丝丛,角膜标本少,采集的标本时连溃疡中央的白色黏性物质一起采集后直接涂片可提高真菌涂片的检出率。(3)涂片过厚:涂片过厚时,标本重叠不利于镜下观察判断,涂片标本应在染色液中尽量分散开,必要时在盖玻片上加压促进团块状物质分散。

随着角膜接触镜的普及以及广谱抗生素、激素、免疫抑制剂的广泛使用,真菌性角膜炎的发病率不断增高。真菌性角膜炎早期、快速、有效的诊断方法是目前研究的热点<sup>[1,2,4]</sup>。激光共焦显微镜和PCR技术在真菌性角膜炎诊断领域中展示了良好的应用前景,但其价格昂贵,目前还不能普及应用<sup>[6-8]</sup>,且有许多问题有待进一步研究。紫药水染色法价格便宜,查找真菌几分钟便可出结果,灵敏度

高,阳性预测值高,是真菌性角膜炎早期诊断简单、快速、有效的方法。

#### 参考文献

- 1 Jurkunas U, Behlau I, Colby K. Fungal keratitis: changing pathogens and risk factors. *Cornea* 2009;28(6):638-643
- 2 王丽娅. 我国真菌性角膜炎的研究现状. *眼科* 2005;14(3):143-144
- 3 Das S, Sharma S, Kar S, et al. Is inclusion of Sabouraud dextrose agar essential for the laboratory diagnosis of fungal keratitis? *Indian J Ophthalmol* 2010;58(4):281-286
- 4 Nayak N. Fungal infections of the eye-laboratory diagnosis and treatment. *Nepal Med Coll J* 2008;10(1):48-63
- 5 Bashir G, Shah A, Thokar MA, et al. Bacterial and fungal profile of corneal ulcers-a prospective study. *Indian J Pathol Microbiol* 2005;48(2):273-277
- 6 Menassa N, Bosshard PP, Kaufmann C, et al. Rapid detection of fungal keratitis with DNA-stabilizing FTA filter paper. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(4):1905-1910
- 7 Avunduk AM, Beuerman RW, Varnell ED, et al. Confocal microscopy of *Aspergillus fumigatus* keratitis. *Br J Ophthalmol* 2003;87(4):409-410
- 8 谢立信, 李绍伟, 史伟云. 共焦显微镜在真菌性角膜炎临床诊断中的应用. *中华眼科杂志* 1999;35(1):7-9