

激光共焦显微镜在真菌性角膜炎诊断中的应用

常青¹, 王峰²

作者单位:¹(710002)中国陕西省西安市第一医院眼科;
²(710004)中国陕西省西安市,西安交通大学第二附属医院眼科

作者简介:常青,硕士,主治医师,研究方向:角膜病、眼表疾病。

通讯作者:常青. xxh219@126.com

收稿日期:2013-02-26 修回日期:2013-06-08

The application of laser corneal microscopy in diagnosis of fungal keratitis

Qing Chang¹, Feng Wang²

¹Department of Ophthalmology, the No. 1 Hospital, Xi'an 710002, Shaanxi Province, China; ² Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Qing Chang. Department of Ophthalmology, the No. 1 Hospital, Xi'an 710002, Shaanxi Province, China. xxh219@126.com

Received:2013-02-26 Accepted:2013-06-08

Abstract

• **AIM:** To evaluate the value of Heidelberg retina tomograph 3-RCM (HRT3-RCM) in clinical diagnosis of fungal keratitis.

• **METHODS:** Thirty-two eyes with clinical determined fungal keratitis were observed with HRT3 - RCM examination. In the same time, the corneal scraping was performed for all cases.

• **RESULTS:** In 32 patients, the positive rate of corneal scraping was 75% (24/32) and the positive rate of HRT3-RCM was 94% (30/32).

• **CONCLUSION:** HRT3-RCM, which is using laser as light source, is a new generation of confocal microscopy. It is a rapid, effective and noninvasive technique that can be used in the early diagnosis, treatment of fungal keratitis.

• **KEYWORDS:** fungal keratitis; laser confocal microscopy

Citation: Chang Q, Wang F. The application of laser corneal microscopy in diagnosis of fungal keratitis. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2013;13(7):1457-1458

摘要

目的:探讨激光共焦显微镜 HRT3-RCM 在真菌性角膜炎诊断中的应用价值。

方法:对临床拟诊真菌性角膜炎患者 32 例 32 眼行 HRT3-RCM 检查,同时进行角膜刮片细胞学检查。

结果:在 32 例患者中,24 例在角膜组织刮片中查到了菌

丝,阳性率为 75%;30 例在激光共焦显微镜下观察到真菌菌丝,阳性率为 94%。

结论:HRT3-RCM 是利用激光作为光源的新一代共焦显微镜,是一种快速、有效、无创的检查方法,可用于真菌性角膜炎的早期病原学诊断以及治疗观察。

关键词:真菌性角膜炎;激光共焦显微镜

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.07.48

引用:常青,王峰.激光共焦显微镜在真菌性角膜炎诊断中的应用.国际眼科杂志 2013;13(7):1457-1458

0 引言

真菌性角膜溃疡是当前治疗比较棘手的化脓性角膜炎,随着抗生素、皮质类固醇和免疫抑制剂的广泛应用,该病有增多趋势。由于缺乏特效的抗真菌药,或者因漏诊、诊治不及时,往往使角膜破坏严重,甚至丧失眼球。共焦显微镜(confocal microscopy,CM)能够从细胞水平对活体组织进行水平切面检查,具有无创伤、可重复、快速、动态等优点。我们对 32 例临床拟诊为真菌性角膜溃疡患者进行了 CM 检查,现将结果报告如下。

1 对象和方法

1.1 对象

1.1.1 一般资料 选取 2012-01/12 在我院临床拟诊为真菌性角膜炎的患者 32 例 32 眼,其中男 21 例,女 11 例,年龄 12~73 岁。所有患者用裂隙灯显微镜观察后,行角膜 CM 检查,然后在角膜病灶处刮片做涂片检查。

1.1.2 真菌性角膜溃疡入选标准 临床拟诊真菌性角膜溃疡入选标准^[1]:(1)有明确的植物外伤、角膜接触镜配戴或长期激素应用病史。(2)角膜溃疡表面有特有的菌丝苔被病灶。(3)角膜溃疡灶呈硬性感、云雾状,边缘呈毛刷状,周边有伪足、卫星灶或免疫环。(4)溃疡病灶小,但炎症反应重,可伴有前房积脓、内皮斑或者后弹力层皱褶。

1.2 方法

1.2.1 角膜组织刮片检查 患眼滴用盐酸奥布卡因眼水后,在溃疡的浸润灶边缘处刮取组织,涂于载玻片上,将 100g/L KOH 滴于其上,覆盖盖玻片,在光学显微镜下查找菌丝或孢子。

1.2.2 激光共焦角膜显微镜检查 仪器:激光共焦显微镜是由海德堡视网膜激光断层扫描系统 3 代(HRT3)和 Rostock 角膜模块组件(RCM)组成。主要参数:激光光源波长 670nm,放大倍率×800,数字分辨率:横向 1μm/像素,纵向 2μm/像素。横向视野:400μm×400μm。操作步骤:患眼滴用盐酸奥布卡因眼水进行表面麻醉后,将卡波姆眼用凝胶滴于物镜头表面,盖上无菌角膜接触帽。嘱患者注视固视灯,调整物镜位置使激光光束位于病变区,前移物镜至接触帽与角膜轻微接触,设两者接触的焦平

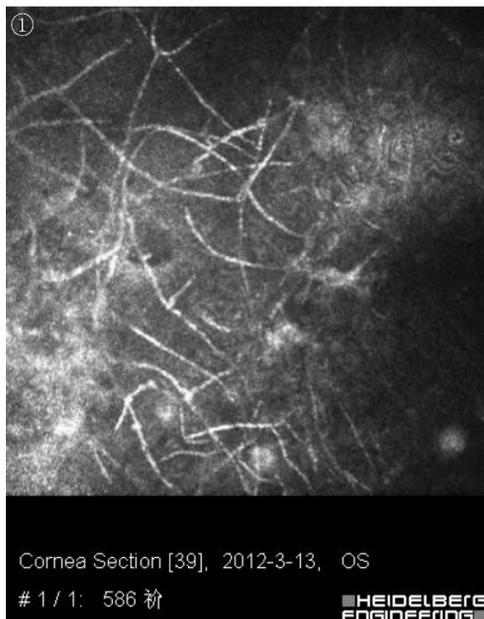


图1 真菌性角膜炎患者基质层的树枝样菌丝(HRT3)。

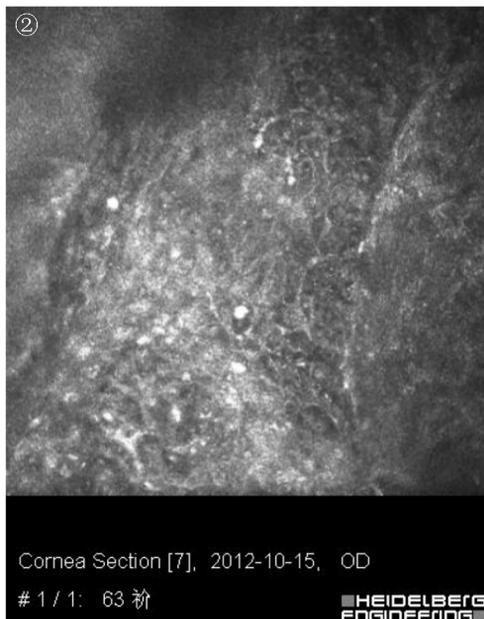


图2 真菌孢子(HRT3)。

面为0。通过改变焦平面,可获得不同深度的角膜图像。数码采集照片并保存图像。

2 结果

临床拟诊真菌性角膜炎患者中,24例角膜组织刮片中查到了菌丝,阳性率为75%;30例在共焦激光角膜显微镜下观察到真菌菌丝,阳性率为94%。在角膜病灶相对较暗的背景下,共焦激光角膜显微镜显示的菌丝反光较强,为相互交错的线形结构,有粗有细,也可见分枝,菌丝直径为2~6 μm (图1);菌丝旁可有反光较强的孢子,直径为10~15 μm (图2)。周围的组织明显水肿,无典型的角膜细胞结构,可见角膜组织被破坏形成的碎屑及少量炎症细胞。

3 讨论

1989年,Cavanagh等^[2]首次将CM应用于活体人眼的观察。在过去的20年间,CM检查在眼表系统结膜、角膜、泪膜及眼睑中的应用越来越广泛,并显现出不可比拟的优越性。文献报道,CM可以从细胞水平上对活体角膜的病理生理进行直接观察研究^[3,4],还可用于观察真菌性角膜炎^[5-7],在对角膜溃疡的病原学诊断中有较大的临床应用价值。目前,临床上检测真菌病原体的方法很多,常见的有涂片、组织活检和体外培养法,都存在较多缺陷,最主要是受取材限制,取材范围小则阳性率较低,重复取材或取材范围加大,则对角膜有创伤并使炎症扩散。另外,角膜刮片仅能检查已形成溃疡的病变,对上皮完整的病变无法检查。且该方法不能检出位于角膜深层的病原体;更无法对检查到的病原体进行深度定位。与上述方法相比,CM有以下优点:(1)利用激光作为光源,分辨率更高,图像更清晰。图像的放大倍数达到800倍^[8];(2)操作方便迅速,对角膜无损伤;(3)可用于早期上皮完整的病变,可以对病原体进行精确的深度定位,还可观察病原体周围组织情况^[9]。另外,HRT3-RCM除用于诊断病原体外,也可对患者进行治疗期的随诊^[9]。临床医师可根据病灶内是否

有菌丝残留及活动性炎症决定是否继续抗真菌治疗,或者改变治疗方案如逐步减量乃至停药。由于CM是一种新的检查仪器,对角膜进行活体观察的经验很不足,有许多现象尚不能为我们所了解,不可避免会出现很多假阳性。在诊断真菌性角膜炎时,应当对角膜基质神经干和上皮下神经分支有所认识,以免误诊为菌丝^[10]。但是,作为一种无创伤性的快速诊断工具,CM在真菌性角膜溃疡诊断的临床应用中有着重要的作用和显著的优点,并在对该病的病理特点的研究中也有着巨大的潜力,所有这些均有待于进一步的探讨和开发。

参考文献

- 1 姚晓明,黎明,聂丹瑶,等. 曲霉菌在活体角膜溃疡和培养菌落中的共焦显微镜比较. 中国实用眼科杂志 2010; 28(9):954-957
- 2 Cavanagh HD, Petroll WM, Alizadeh H, et al. Clinical and diagnostic use of *in vivo* confocal microscopy in patients with corneal disease. *Ophthalmology* 1993;100:1433-1454
- 3 黎明,林跃生,姚晓明,等. 人体角膜内皮细胞的共焦显微镜研究. 中国实用眼科杂志 2007;25(5):479-482
- 4 罗丽辉,刘祖国,陈家祺,等. 正常角膜基质细胞密度和角膜厚度的研究. 眼科研究 2004; 22(5):512-515
- 5 秦廷玉,王丽娅. 共焦显微镜在真菌性角膜炎角膜移植手术中的应用. 眼科研究 2008;26(7):540-542
- 6 Winchester K, Mathers WD, Sutphin JE. Diagnosis of *Aspergillus keratitis in vivo* with confocal microscopy. *Cornea* 1997;16(1):27
- 7 Florakis GJ, Moazami G, Schubert H, et al. Scanning slit confocal microscopy of fungal keratitis. *Arch Ophthalmol* 1997;115(11):1461-1463
- 8 Bourcier T, Dupas B, Borderie V. Heidelberg Retina Tomograph II findings of *Acanthamoeba keratitis*. *Ocul Immunol Inflamm* 2005;13:487-492
- 9 张琛,邓世靖,王智群,等. 激光共焦显微镜在阿米巴性角膜炎诊断中的应用. 眼科研究 2007;25(10):772
- 10 靳雷,崔建萍. 共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