

真菌培养和共聚焦显微镜检查诊断非首诊真菌性角膜炎的临床评价

蒲琪, 胡丽华, 蔡苏博, 周海强, 王玮, 徐玲娟, 李贵刚, 李新宇

作者单位: (430030) 中国湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属同济医院眼科

作者简介: 蒲琪, 在读硕士研究生, 研究方向: 角膜病。

通讯作者: 李新宇, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 角膜病、角膜屈光手术。lixxy07@126.com

收稿日期: 2017-03-29 修回日期: 2017-12-25

Comparative study of fungal culture and *in vivo* confocal microscopy in the diagnosis of non-primary fungal keratitis

Qi Pu, Li-Hua Hu, Su-Bo Cai, Hai-Qiang Zhou, Wei Wang, Ling-Juan Xu, Gui-Gang Li, Xin-Yu Li

Department of Ophthalmology, Tongji Hospital, Tongji Medical College Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Xin-Yu Li. Department of Ophthalmology, Tongji Hospital, Tongji Medical College Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. lixy07@126.com

Received: 2017-03-29 Accepted: 2017-12-25

Abstract

• **AIM:** To compare fungal culture and *in vivo* confocal microscopy (IVCM) in the diagnosis of non-primary fungal keratitis.

• **METHODS:** The clinical data of 31 cases (31 eyes) with non-primary fungal keratitis from September 2016 to February 2017 in our Hospital were retrospectively reviewed. The positive rate of the two methods was compared by chi-square test.

• **RESULTS:** The positive rate by fungal culture was 58% (18/31) and IVCM was 19% (6/31); the positive rate comparison difference was statistically significant between fungal culture and IVCM ($\chi^2 = 7.56, P < 0.01$). In the 13 eyes with positive culture results, 2 eyes were positive by IVCM; in the 25 positive IVCM eyes, 14 eyes were positive in culture.

• **CONCLUSION:** The positive rate of fungal culture in non-primary fungal keratitis is higher than that of IVCM. Fungal culture is an essential auxiliary examination in the diagnosis of non-primary fungal keratitis. With the characteristics of fast, noninvasive and repeatable, IVCM also plays an important role in the diagnosis of non-primary fungal keratitis. The combination of the two

methods can improve the positive rate of diagnosis.

• **KEYWORDS:** fungal; keratitis; non-primary; *in vivo* confocal microscopy; fungal culture

Citation: Pu Q, Hu LH, Cai SB, *et al.* Comparative study of fungal culture and *in vivo* confocal microscopy in the diagnosis of non-primary fungal keratitis. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2018; 18(2):333-335

摘要

目的: 评价真菌培养和共聚焦显微镜检查在非首诊真菌性角膜炎患者诊断中的作用。

方法: 采用回顾性研究。对 2016-09/2017-02 于我院住院治疗的非首诊真菌性角膜炎患者的共聚焦显微镜检查和真菌培养检查进行汇总和分析, 利用配对四格表资料的 χ^2 检验统计方法比较两种检查的阳性率。

结果: 非首诊真菌性角膜炎患者 31 例 31 眼中, 真菌培养阳性 18 眼, 阳性率 58%, 角膜共聚焦显微镜检查阳性 6 眼, 阳性率 19%, 真菌培养检查的阳性率明显高于共聚焦显微镜检查的阳性率, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 7.56, P < 0.01$)。真菌培养阴性的 13 例 13 眼患者中, 2 眼共聚焦显微镜检查阳性; 共聚焦显微镜检查阴性的 25 例 25 眼患者中, 14 眼真菌培养阳性。

结论: 对非首诊真菌性角膜炎患者, 真菌培养阳性率较角膜共聚焦显微镜检查阳性率更高。真菌培养是诊断非首诊真菌性角膜炎并明确真菌种属的重要辅助检查方法。在临床诊治过程中, 共聚焦显微镜检查因其有着快速、无创、可重复操作的特点, 也应作为怀疑真菌性角膜炎患者的首选辅助检查。两种检查方法联合应用可提高诊断阳性率。对于部分辅助检查阴性的患者, 不可轻易否定其真菌感染的可能性。

关键词: 真菌性; 角膜炎; 非首诊; 共聚焦显微镜; 真菌培养
DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2018.2.33

引用: 蒲琪, 胡丽华, 蔡苏博, 等. 真菌培养和共聚焦显微镜检查诊断非首诊真菌性角膜炎的临床评价. 国际眼科杂志 2018; 18(2):333-335

0 引言

真菌性角膜炎 (fungal keratitis, FK) 是真菌直接感染角膜引起的一种严重的致盲性角膜炎^[1]。早期、快速、准确诊断, 积极正确治疗对于挽救真菌性角膜炎患者的眼球及视力有着十分重要的意义^[1-3]。FK 常用诊断方法有角膜刮片、真菌培养、共聚焦显微镜检查、角膜组织活检等。此前, 有很多文献报道了 FK 各种快速诊断方法的比较。

表1 31例患者院外治疗方式与入院后辅助检查结果数据汇总

检查结果	已行抗真菌治疗(14眼)		仅抗感染未抗真菌治疗(9眼)		治疗不详(8眼)	
	真菌培养	共聚焦检查	真菌培养	共聚焦检查	真菌培养	共聚焦检查
阳性	11(79)	4(29)	5(56)	1(11)	2(25)	1(13)
阴性	3(21)	10(71)	4(44)	8(89)	6(75)	7(87)

共聚焦显微镜检查明显有着快速、可重复性高、无创等优点,且与角膜刮片同作为快速诊断有互补作用,与检验时间稍长的真菌培养相比阳性率较高,也有一定的互补作用^[2]。那么,对于病程较长、非首诊的真菌性角膜炎患者,真菌培养和共聚焦显微镜检查的阳性率是否会有差别?本研究采用回顾性研究的方法,对2016-09/2017-02于我院住院治疗的非首诊真菌性角膜炎患者的真菌培养和共聚焦显微镜检查结果汇总、分析,结果报告如下。

1 对象和方法

1.1 对象 选取2016-09/2017-02于我院住院治疗的非首诊真菌性角膜炎患者31例31眼,其中男15例,女16例,年龄20~71(平均55.0±10.9)岁;农民及工人26例(84%),学生、银行职员、厨师各1例,无业人员2例(16%)。入院前病程2~45(平均19.9±11.7)d,植物性外伤史9眼,其余外伤史10眼,暴露性角膜炎1眼,无明显诱因患者11眼。入院前已行抗真菌治疗者14眼,行抗感染、未行抗真菌治疗者9眼,具体治疗方式不详者8眼。所有患者患眼均行裂隙灯及角膜共聚焦显微镜检查,角膜刮片行真菌培养。纳入标准:(1)角膜植物性、泥土等外伤异物史,眼部手术史,长期使用激素和抗生素病史。(2)角膜病灶表面较干燥,具有菌丝苔被、伪足、卫星病灶、免疫环、内皮斑、浓稠的前房积脓等特征。(3)角膜刮片检查、角膜共聚焦显微镜检查、真菌培养、角膜组织活检等证实有菌丝或孢子存在。(4)抗真菌治疗有效。(5)患者入院前已于院外行抗感染或抗真菌或其他治疗(5为必要条件,1~4满足条件之一即可)。排除标准:共聚焦显微镜检查和真菌培养检查二者缺一的患者。

1.2 方法

1.2.1 角膜共聚焦显微镜检查 向患者交代检查目的,取得患者同意并指导患者配合。0.5%盐酸丙美卡因滴眼液滴患眼3次,开睑器撑开眼睑,指导患者摆正检查体位,将0.3%盐酸左氧氟沙星眼用凝胶涂于角膜显微镜表面,嘱患者注视前方,调整摄像头位置,摄像头通过眼用凝胶与角膜接触,调节镜头调节器,并关注电脑同步显示图像,在病灶显影清晰时按下记录按钮,则图像被记录下来,选择有价值的图像保存并打印报告。消毒摄像头和仪器。所有患者的检查均由我院眼科特检室同一医生完成。

1.2.2 角膜刮片真菌培养 向患者交代检查目的,取得患者同意并指导患者配合。0.5%盐酸丙美卡因滴眼液滴患眼3次,开睑器撑开眼睑,指导患者摆正检查体位。裂隙灯下用15号无菌手术刀片刮取病灶处组织及病灶周围组织接种于血琼脂平板培养基上,送检验科行真菌培养。根据检验科真菌培养回报结果统计资料。

统计学分析:使用卡方检验计算器V1.70统计软件,采用配对四格表资料的卡方检验比较两种检查方法的阳性率差异, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

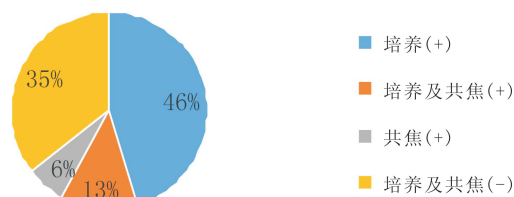


图1 31例患者辅助检查结果。

2 结果

在31例31眼非首诊真菌性角膜炎患者中,18眼角膜刮片真菌培养阳性,阳性率为58%,6眼角膜共聚焦显微镜检查可查见菌丝,阳性率为19%,真菌培养检查的阳性率明显高于共聚焦显微镜检查的阳性率,差异有统计学意义($\chi^2=7.56, P<0.01$)。两种检查结果均为阳性者4眼(4/31),阳性符合率为13%,两种检查均为阴性者11眼(11/31),阴性符合率35%,见图1。于院外已行抗真菌治疗的14例14眼患者中,11眼真菌培养阳性,阳性率79%,4眼角膜共聚焦显微镜检查阳性,阳性率29%;入院前行抗感染治疗,未行抗真菌治疗的9例9眼患者中,5眼真菌培养阳性,阳性率56%,1眼角膜共聚焦显微镜检查阳性,阳性率11%;入院前治疗不详的8例8眼患者中,2眼真菌培养阳性,阳性率25%,1眼角膜共聚焦显微镜检查阳性,阳性率13%。真菌培养阴性的13例13眼患者中,2眼角膜共聚焦显微镜检查阳性;角膜共聚焦显微镜检查阴性的25例25眼患者中,14眼真菌培养阳性,见表1。

3 讨论

真菌性角膜炎多与外伤有关,我国是农业大国,植物性外伤较常见,收割季节此病更为多见^[1-3]。此次调查研究涉及的31例31眼患者中,有26例26眼(84%)系农民、工人,这类患者就诊意识稍弱,多初诊于当地诊所,由于诊疗水平及医疗设备的限制,多数患者未得到规范化的抗真菌治疗,病情恶化或不可控制时方转上级医院诊疗,延误了治疗。对于这部分患者的正确诊断、治疗对控制病情、缩短病程、减轻患者经济负担有着十分重要的意义。

此次研究中所有非首诊真菌性角膜炎患者真菌培养的阳性率为58%(18/31),与之前报道的文献基本接近^[4-5]。31例31眼非首诊真菌性角膜炎患者中,有14眼已经于院外行抗真菌治疗,入院后角膜刮片真菌培养阳性率79%(11/14),并未见比总的真菌培养阳性率降低;另外共聚焦显微镜检查阴性的25例25眼患者中,14眼真菌培养阳性,阳性率56%(14/25),与整体真菌培养阳性率接近。说明对已行抗真菌治疗或共聚焦显微镜检查阴性的患者,角膜刮片行真菌培养仍然是必要的,且仍保持较高的阳性率,对提高诊断准确率、明确病原体及指导诊疗有着不可取代的价值。

角膜共聚焦显微镜检查阳性率 19%, 相比同类型文献报道的则明显较低^[6-7]。为此我们考虑了以下几个方面的原因: (1) 此次研究涉及的患者入院前均已在院外行一定时间的抗真菌或抗感染等药物治疗及角膜溃疡清创等有创操作, 这会降低共聚焦显微镜检查的阳性率^[8-10]。(2) 病程的不同时期, 真菌菌丝及孢子的检出率不同, 病程对检查结果也存在影响^[11-13]。(3) 不同类型的真菌菌丝及孢子在共聚焦显微镜下检出率不同, 不排除部分非首诊真菌性角膜炎患者所感染真菌菌丝及孢子不易检出^[6,13]。(4) 不同的共聚焦显微镜仪器成像质量不同, 我们此次统计数据所用共聚焦显微镜系 ConfoScan 4, 其光源为卤素灯, 与激光共聚焦显微镜相比, 除角膜内皮成像较清晰, 对其余各层组织成像欠佳, 可能会影响检查的阳性率^[16]。(5) 探头与角膜间的接触介质也许对图片质量有一定程度的影响。因此, 对于共聚焦显微镜检查阴性的患者, 不可轻易排除其真菌感染可能。

非首诊真菌性角膜炎患者 31 例 31 眼中, 11 眼真菌培养及共聚焦显微镜检查两种检查均为阴性, 入院后予以单纯药物抗真菌治疗或手术联合药物抗真菌治疗有效, 支持临床诊断“真菌性角膜炎”, 说明经验性治疗对于部分难以获得辅助检查佐证的患者显得更为重要。

综上所述, 真菌培养是诊断非首诊真菌性角膜炎并明确真菌种属的重要辅助检查方法, 阳性率较共聚焦显微镜检查高, 其缺点是耗时较长 (3 ~ 7d), 不宜用于快速诊断^[14]。在临床诊治过程中, 共聚焦显微镜检查因其有着快速、无创、可重复操作的特点, 也应作为怀疑 FK 首选辅助检查, 检查阳性者可指导早期正确治疗^[15-16]。两种检查方法联合应用可提高诊断准确率。对于部分辅助检查阴性的患者来说, 不可轻易否定其真菌感染的可能性, 临床医生根据临床经验和医学知识的判断进行经验性治疗是辅助检查无法替代的。

此次临床调查研究只统计了本院近 6mo 的 31 例 31 眼非首诊真菌性角膜炎患者, 样本量较少, 所计算得出的各个比率代表性尚不强, 但对非首诊真菌性角膜炎患者辅

助检查选择仍有一定的指导作用, 可行更大样本量的统计分析得出更具代表性的结论。

参考文献

- 1 李凤鸣, 谢立信. 中华眼科学. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社 2014: 1298-1299
- 2 王楠, 赵桂秋, 高昂, 等. 刮片镜检法联合激光扫描共聚焦显微镜快速诊断真菌性角膜炎的临床评价. 中华实验眼科杂志 2013; 31(5): 493-495
- 3 赵堪兴, 杨培增. 眼科学. 第 8 版. 北京: 人民卫生出版社 2013: 126-127
- 4 窦新岩, 王丽娅, 孙声桃, 等. 真菌性角膜炎临床常用诊断方法比较分析. 中国实用眼科杂志 2016; 34(6): 564-568
- 5 陈鹏飞, 秦晓怡, 毛丽萍, 等. 实验室诊断技术在真菌性角膜炎诊断敏感性的对比研究. 国际眼科杂志 2015; 15(8): 1322-1326
- 6 谢立信, 李绍伟. 史伟云, 等. 共聚焦显微镜在真菌性角膜炎临床诊断中的应用. 中华眼科杂志 1999; 35(1): 7-9
- 7 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
- 8 姚晓明, 曹端荣, 黎明, 等. 真菌性角膜溃疡刮片前后的共聚焦显微镜对照研究. 中国实用眼科杂志 2011; 29(11): 1146-1149
- 9 孙昱昭, 胡悦东, 陈蕾, 等. 角膜溃疡清创术联合抗真菌药物治疗真菌性角膜炎. 国际眼科杂志 2011; 11(12): 2151-2153
- 10 罗知卫, 李建南, 姜德咏, 等. 局部清创联合 50g/L 安尔碘稀释液治疗真菌性角膜炎临床观察. 国际眼科杂志 2010; 10(9): 1743-1744
- 11 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. 中华眼科杂志 2005; 41(7): 614-619
- 12 杜蕊, 吴洁, 马吉献, 等. 兔曲霉菌性角膜炎动物模型建立及角膜共聚焦显微镜检查. 第四军医大学学报 2006; 27(21): 1925-1928
- 13 李绍伟, Gebhardt BM, 史伟云, 等. 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; 19(5): 389-392
- 14 Chidambaram JD, Prajna NV, Larke N, et al. *In vivo* confocal microscopy appearance of fusarium and aspergillus species in fungal keratitis. *Br J Ophthalmol* 2017; 101(8): 1119-1123
- 15 Brasnu E, Bourcier T, Dupas B, et al. *In vivo* confocal microscopy in fungal keratitis. *Br J Ophthalmol* 2007; 91(5): 588-591
- 16 黎明, 姚晓明. 共聚焦显微镜临床应用指南. 北京: 人民卫生出版社 2015: 5-7