

# 真菌性角膜炎两种特殊染色辅助诊断的比较

武鹏安, 阎艳, 崔家瑞

作者单位:(710002) 中国陕西省西安市第一医院病理科  
作者简介:武鹏安,男,专科,主管技师,研究方向:病理活检组织切片的特殊染色及应用。  
通讯作者:武鹏安. wupengan65@sina. com  
收稿日期:2011-01-21 修回日期:2011-05-04

## Comparison between two kinds of specific stain diagnostic methods of fungal kerato-helcosis

Peng-An Wu, Yan Yan, Jia-Rui Cui

Department of Pathology, the First Hospital of Xi'an City, Xi'an 710002, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Peng-An Wu. Department of Pathology, the First Hospital of Xi'an City, Xi'an 710002, Shaanxi Province, China. wupengan65@sina. com

Received:2011-01-21 Accepted:2011-05-04

### Abstract

• AIM: To find special staining methods which is fast, accurate and convenient operation for fungal keratitis tissue section.

• METHODS: Specimens of 50 cases with the clinical diagnosis of suspected fungal keratitis or corneal ulcer were selected. They were conventionally fixed, dehydrated and dipped in wax for 4 $\mu$ m paraffin sections, then subject to conventional dewaxing to water. Periodic acid-Schiff stain and gomori methenamine silver stain were compared.

• RESULTS: Positive detection rate of periodic acid-Schiff stain was 84%, positive detection rate of gomori methenamine silver stain was 79%. Result was statistically significant ( $P < 0.05$ ).

• CONCLUSION: Periodic acid-Schiff staining method is simple, fast, accurate, high positive rate and lower cost. It is superior to gomori methenamine silver staining, and worth promoting

• KEYWORDS: fungal keratitis; paraffin sections; periodic acid-Schiff stain; gomori methenamine silver stain

Wu PA, Yan Y, Cui JR. Comparison between two kinds of specific stain diagnostic methods of fungal keratohelcosis. *Guoji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(6):1076-1077

### 摘要

目的:寻找真菌性角膜炎组织切片快速、准确、方便操作的特殊染色方式。

方法:采用临床诊断疑似真菌性角膜炎或角膜溃疡的标本

50例,常规固定、脱水、透明、浸蜡,进行4 $\mu$ m石蜡切片,常规脱蜡至水,选用高碘酸—无色品红法(PAS)和六胺银(GSM)染色法进行染色对比。

结果:高碘酸—无色品红法检测阳性率为84%,六胺银染色法检测阳性率为79%。结果比较有统计学意义( $P < 0.05$ )。

结论:高碘酸—无色品红染色法简便、快捷、准确,阳性率高且成本较低,优于六胺银染色法,值得推广。

关键词:真菌性角膜炎;石蜡切片;高碘酸—无色品红法;六胺银染色法

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2011.06.047

武鹏安,阎艳,崔家瑞.真菌性角膜炎两种特殊染色辅助诊断的比较.国际眼科杂志2011;11(6):1076-1077

### 0 引言

真菌性角膜炎是一种真菌感染性角膜疾病,常有角膜溃疡发生。在角膜病变组织病理切片常规HE染色诊断方法中,对真菌难以有效着色,容易造成误诊、漏诊。因而需要进行特殊染色,进行辅助检查,才能获得准确、真实结果。我们在多年病理诊断工作中,对其所采用的高碘酸-无色品红染色法(PAS)和六胺银(GSM)染色法进行对比,现汇总报告如下。

### 1 对象和方法

1.1 对象 本院眼科门诊或住院临床诊断为疑似真菌性角膜炎的患者50例的活检组织或角膜移植术后取下的病变组织。

1.2 方法 角膜标本50例经40g/L甲醛固定,脱水、石蜡包埋,4 $\mu$ m厚切片各切2张,常规脱蜡至水。分别进行高碘酸—无色品红染色法(PAS)和六胺银(GSM)染色法检测。

1.2.1 高碘酸-无色品红染色法 (1)切片脱蜡至水后蒸馏水洗;(2)5g/L高碘酸浸染10min,蒸馏水洗;(3)雪夫液避光浸染20min,蒸馏水洗;(4)5g/L偏亚硫酸钠液洗1min $\times$ 2次,自来水冲洗10min;(5)常规脱水透明,中性树胶封片。结果观察,真菌显示为紫红色。

1.2.2 六胺银 (1)切片脱蜡至水后蒸馏水洗;(2)50g/L铬酸溶液氧化1h;(3)将切片浸入10g/L亚硫酸氢钠水溶液中1min,蒸馏水洗;(4)将切片浸入已经加热到60 $^{\circ}$ C六胺银液中1h,蒸馏水洗1min $\times$ 3次;(5)1g/L氯化金调色5min,蒸馏水洗1min $\times$ 3次;(6)浸入20g/L硫代硫酸钠水溶液1~2min,蒸馏水洗1min $\times$ 3次;(7)苏木素—伊红(HE)染色;(8)常规脱水透明,中性树胶封片。结果观察,真菌显示呈黑色。

统计学分析:采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 2 结果

高碘酸-无色品红法检测阳性率为84%,六胺银染色

法检测阳性率为 79%。两种检测结果经统计学分析,  $\chi^2 = 4.32 > 3.84, P < 0.05$ , 即两种检测方法具有显著差异, PSA 法优于 GSM 法。

### 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。真菌性角膜炎在临床上容易漏诊、误诊, 常因治疗不当而造成失明。在病理活检中, 真菌性角膜炎标本浸润灶呈白色或灰色, 致密, 表面欠光泽, 呈牙膏样或苔垢样外观, 溃疡周围有胶原溶解形成的浅沟, 或抗原抗体反应形成的免疫环。有时在角膜病灶旁可见伪足或卫星样浸润灶, 病灶后可有斑块状纤维脓性沉着物。真菌穿透性强, 进入前房或角膜穿破时易引起真菌性眼内炎。

一般情况下, 真菌不会侵犯正常角膜, 但当有眼外伤、长期局部使用抗生素、角膜炎及干眼症等情况时, 非致病的真菌就可能变为致病菌, 引起角膜继发性真菌感染。真菌性角膜炎并非少见。夏秋农忙季节发病率高。在年龄与职业上, 多见于青壮年、老年及农民。常见的致病菌为曲霉菌, 其次是镰刀菌、白色念珠菌、头芽孢菌及链丝菌等<sup>[1]</sup>。因致病菌种不同, 角膜溃疡形态不一。

近年来, 由于免疫缺陷病毒感染者的不断出现, 使原来轻微致病的真菌转化为致病真菌。因此, 真菌感染已成为一个日益严峻的问题。根据角膜植物损伤史, 结合角膜病灶的特征, 可作出初步诊断。实验室检查找到真菌和菌丝可以确诊。常用方法有角膜刮片 Gram 和 Giemsa 染色、100~200g/L 氢氧化钾湿片刮片及培养均为阴性, 而临床又高度怀疑者, 可考虑作角膜组织活检<sup>[2]</sup>。此外, 免疫荧光染色、电子显微镜检查和 PCR 技术也用于真菌角膜炎的诊断。角膜共焦显微镜作为非侵入性检查, 可直接发现病灶内的真菌病原体。但是随着疾病的发生, 病变过程有时不是很明显, 在涉及到医疗纠纷和法律纠纷时通常通过病理诊断才能得出较正确的结论, 所以病理诊断也是最后

的宣判性诊断<sup>[3]</sup>。真菌用 HE 染色一般着色不佳, 因此需用特殊染色方法来显示<sup>[4]</sup>。GSM 法用铬酸氧化真菌壁的多糖而暴露出醛基, 醛基还原六胺银内的银离子为黑色的金属银而显色。PAS 用高碘酸氧化真菌菌壁的多糖游离出醛基, 后者与无色品红结合生成新的品红色复合物而被显色<sup>[5]</sup>。这两种方法可显示大多数真菌, 是应用最广泛的染色方法<sup>[6]</sup>。但是, 常规病理工作中, 对试剂的配制问题及操作的可行性要求较多。综合考虑多方面的因素, GSM 染色, 对温度比较敏感, 高于 60℃ 容易造成假阳性着色, 低于 60℃ 可能造成假阴性。其次由于角膜组织的特殊性, 在 60℃ 条件下染色 1h 后, 易导致组织打褶或掉片。再次 GSM 染色方法比较繁琐, 试剂配制复杂、成本较高; 对操作过程和仪器要求较高, 容易影响染色结果; 真菌染色阳性率低, 易造成假阴性, 最终影响诊断。

PAS 染色方法简便易行, 试剂配制简单、成本较低, 真菌染色阳性率较高。PAS 不但可以应用于真菌染色, 而且还可以应用于糖原、中性黏液、脂褐素及阿米巴滋养体等多种物质的染色<sup>[7]</sup>。我们通过 50 例真菌性角膜炎组织切片进行特殊染色后, 对比发现 PAS 染色法优于 GSM 染色法。

### 参考文献

- 1 孙为荣, 王传富. 眼科病理学. 北京: 人民卫生出版社 1997: 150
- 2 李鹏, 李良毛, 潘世锦. 真菌性角膜炎诊断及治疗的新进展. 国际眼科杂志 2008; 8(10): 2097
- 3 和瑞芝, 王家富, 陈命家. 病理学. 北京: 人民卫生出版社 2006: 2
- 4 王伯运, 李玉松, 黄高昇, 等. 病理学技术. 北京: 人民卫生出版社 2000: 997
- 5 王珏, 王莉, 张健. 不同组织中 PAS 染色的特点. 郟阳医学院学报 2009; 28(5): 77
- 6 Zheng J, Zhang W, Lin J. The advantages and disadvantages of GMS and PAS Staining in fungal keratitis. *Yan Ke Xue Bao* 2010; 25(2): 67-69
- 7 赵文宝. 实用病理技术手册. 西安: 西安地图出版社 2003: 46