

# 感染性角膜炎 466 例共焦显微镜检查结果临床分析

肖 卉,张德艳,范忠义

作者单位:(110042)中国辽宁省沈阳市,中国人民解放军第四六三医院眼科

作者简介:肖卉,博士研究生,主治医师,研究方向:屈光手术、角膜疾病。

通讯作者:范忠义,毕业于上海第二军医大学,硕士研究生,主任医师,主任,研究方向:白内障、角膜疾病、屈光手术。fanzhongyi463@hotmail.com

收稿日期:2014-05-15 修回日期:2014-09-04

## Clinical features and confocal microscopic imaging characteristics of 466 cases with infectious keratitis

Hui Xiao, De-Yan Zhang, Zhong-Yi Fan

Department of Ophthalmology, the No. 463 Hospital of Chinese PLA, Shenyang 110042, Liaoning Province, China

**Correspondence to:** Zhong-Yi Fan. Department of Ophthalmology, the No. 463 Hospital of Chinese PLA, Shenyang 110042, Liaoning Province, China. fanzhongyi463@hotmail.com

Received:2014-05-15 Accepted:2014-09-04

### Abstract

• **AIM:** To observe the role of confocal microscopy in infectious keratitis management.

• **METHODS:** Totally 466 patients (467 eyes) diagnosed as infectious keratitis from January 2010 to December 2013 were retrospectively studied. the corneas were examined early by *in vivo* confocal microscopy. The characteristics of their images and clinical features were studied and summarized.

• **RESULTS:** All patients were recorded, the average age was 54.4±13.0 years, in which 264 cases (56.7%) were male, and 202 cases (43.3%) were female. In the 466 patients, 190 (40.8%) were fungal keratitis, 148 (31.8%) were viral keratitis, 125 (26.8%) were bacterial keratitis and 3 (0.6%) were acanthamoeba keratitis. There were fungal hyphae in the images of fungal keratitis. Amebic cysts were found in acanthamoeba keratitis.

• **CONCLUSION:** Confocal microscope can help the early diagnose and treatment of infectious keratitis. It is a noninvasive imaging technique that provides high resolution images of ocular structures at a cellular level and infectious keratitis represents one of its most important clinical uses.

• **KEYWORDS:** confocal microscopy; keratitis; fungi; bacteria; viruses; acanthamoeba

**Citation:** Xiao H, Zhang DY, Fan ZY. Clinical features and confocal microscopic imaging characteristics of 466 cases with infectious keratitis. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2014;14(10):1825-1827

### 摘要

**目的:**探讨共焦显微镜在感染性角膜炎的病原学诊断上的意义。

**方法:**回顾性病例系列研究。对2010-01/2013-12共466例467眼感染性角膜炎共焦显微镜的检查结果进行回顾性分析,总结其共焦显微镜图像特点及各类型角膜炎的临床特征。

**结果:**患者466例平均54.4±13.0岁,男264例(56.7%),女202例(43.3%),诊断为真菌性角膜炎190例(40.8%),病毒性角膜炎148例(31.8%),细菌性角膜炎125例(26.8%),棘阿米巴角膜炎3例(0.6%),真菌性角膜炎可见大量真菌菌丝,棘阿米巴角膜炎可见典型阿米巴包囊。

**结论:**共焦显微镜是一种早期辅助诊断感染性角膜炎的有效方法,尤其对真菌及棘阿米巴角膜炎的早期诊断具有特异性,有利于感染性角膜炎的早期诊断及指导治疗。

**关键词:**共焦显微镜;角膜炎;真菌;细菌;病毒;棘阿米巴

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.10.23

**引用:**肖卉,张德艳,范忠义.感染性角膜炎466例共焦显微镜检查结果临床分析.国际眼科杂志2014;14(10):1825-1827

### 0 引言

感染性角膜炎至今仍是世界性的常见致盲眼病,调查结果显示,角膜盲已占我国致盲性眼病的第二位,仅次于白内障<sup>[1]</sup>。角膜感染的主要病原微生物为细菌、真菌、病毒,近年来有关棘阿米巴角膜炎的报道亦不断增加。对感染性角膜炎的早期诊断、早期治疗至关重要,可避免造成角膜穿孔、眼内炎等严重后果。目前对感染性角膜炎的诊断主要依赖实验室检查,但这些检查均有耗时长、阳性率低和创伤大的缺点,往往造成诊断困难,甚至影响治疗。目前,角膜共焦显微镜已逐渐成为一种有临床应用价值的早期诊断及指导感染性角膜炎治疗的新型检查仪器,并因其具有无创、及时、高检出率的特点得到了眼科临床医师的认可<sup>[2]</sup>。本文收集了2010-01/2013-12间临床诊断为角膜溃疡的患者466例,对其角膜共焦显微镜检查结果、临床特征及治疗结果进行了分析,探讨共焦显微镜在临床诊断感染性角膜炎的病原学诊断和指导临床治疗中的应用价值。

### 1 对象和方法

**1.1 对象** 选择2010-01/2013-12在我院眼科门诊就诊的临床资料完整的466例467眼感染性角膜炎患者,其中男264例,女202例,年龄9~88(平均54.4±13.0)岁。按年龄将患者分为4组,0~14岁为儿童组;15~44岁青壮年组;45~59岁为中年组;≥60岁为老年组。入选标准:裂隙灯显微镜检查可见角膜浸润、溃疡病灶,病灶面积大于1mm<sup>2</sup>。

### 1.2 方法

**1.2.1 详细询问病史** 包括病程,眼部患病史,外伤史,是否有配戴角膜接触镜史及眼部用药史。

表1 感染性角膜炎患者466例不同年龄组的分布情况 例(%)

分组	真菌性	细菌性	病毒性	棘阿米巴	合计
儿童组	0	1(0.8)	2(1.4)	0	3(0.6)
青年组	34(17.9)	16(12.8)	30(20.3)	1(33.3)	81(17.4)
中年组	87(45.8)	64(51.2)	64(43.2)	1(33.3)	216(46.4)
老年组	69(36.3)	44(35.2)	52(35.1)	1(33.3)	166(35.6)
合计	190(100.0)	125(100.0)	148(100.0)	3(100.0)	466(100.0)

1.2.2 裂隙灯显微镜检查 记录首诊临床体征,病灶浸润面积、位置、深度以及前房情况。

1.2.3 共焦显微镜检查 仪器:角膜共焦显微镜由德国海德堡公司提供。其主要由海德堡视网膜激光断层扫描系统Ⅱ代(HRTⅡ)和Rostock角膜模块组件(RCM)组成。其中激光波长670nm,观察视野为380μm×380μm,分辨率为1μm,可放大倍数为800。按常规共焦显微镜检查方法进行,由同一技师完成,连续扫描角膜各层的图像,重点连续扫描病变部位及病变周边部位,记录所有受检者是否发现真菌菌丝及其深度,通过显示器选取有价值的清晰的图像存盘。

统计学分析:采用SPSS 16.0对感染性角膜炎不同年龄组两组间的计数资料进行χ<sup>2</sup>检验,当P<0.05差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 感染性角膜炎流行病学特点 患者466例中经共焦显微镜检查诊断为真菌性角膜炎190例(40.8%),病毒性角膜炎148例(31.8%),细菌性角膜炎125例(26.8%),棘阿米巴角膜炎3例(0.6%),见图1。不同性别患者患病情况:男性患者264例(56.7%),女性患者202例(43.3%)。真菌性角膜炎患者中,男110例(57.9%),女80例(42.1%),细菌性角膜炎患者中,男63例(50.4%),女62例(49.6%),病毒性角膜炎患者中,男90例(60.8%),女58例(39.2%),棘阿米巴角膜炎男1例(33.3%),女2例(66.7%),男性患者多于女性患者。不同年龄组患者情况见表1。不同年龄组患病差异有统计学意义(χ<sup>2</sup>=152.8, P<0.01)。青年组、中年组、老年组明显多于儿童组(χ<sup>2</sup>=46.16, 213.5, 102.5; P<0.01);中年组、老年组明显多于青年组(χ<sup>2</sup>=32.3, 15.04, P<0.01),中年组和老年组间差异无统计学意义(χ<sup>2</sup>=3.29, P=0.07)。

2.2 感染性角膜炎裂隙灯显微镜检查特点 真菌性角膜炎190例中,有134例(70.5%)可见菌丝苔被,表现为病变区域灰白色隆起,外观干燥,无光泽,与其下组织连接紧密。前房积脓37例(19.5%),伪足81例(42.6%),卫星灶43例(22.6%),免疫环则不多见,浸润病灶多位于角膜的中央及中央偏下区域。细菌性角膜炎125例中,有69例(55.2%)表现为角膜中央区的圆形灰白色浸润灶,边界较清楚,浸润区上皮水肿、基质渗出,大多伴有脓性分泌物。边缘性角膜炎41例(32.8%),前房积脓10例(8.0%);病毒性角膜炎上皮型主要特点为树枝状或地图状浸润51例(34.5%),角膜基质型97例(65.5%)表现为角膜基质呈灰白色水肿混浊,部分可见角膜云翳或斑翳,可见新生血管长入;棘阿米巴角膜炎早期1例,见角膜上皮树枝状浸润,可见白色略隆起于角膜表面的小圆形浸润灶,周围基质水肿,另2例为环形浸润,均无前房积脓。

## 2.3 共焦显微镜检查特点

2.3.1 真菌性角膜炎 真菌性角膜炎病变部位角膜各层形态结构破坏明显,各层结构紊乱,病灶内及周围可见不同程度的炎细胞浸润,严重者溃疡底部组织透过度减低,

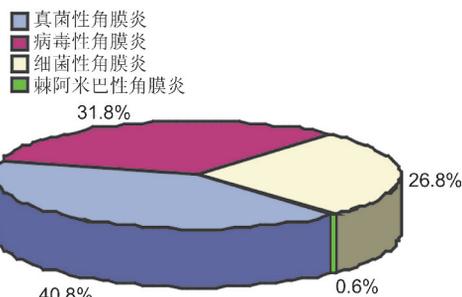


图1 不同类型角膜炎比例示意图。

深层基质及内皮不能窥入;角膜上皮至基质不同程度水肿;细胞变大,结构较模糊,边界欠清。真菌菌丝表现为高折光性的丝状或线状结构,可有分支,有的呈竹节样或树枝样,可平行或交错,长度50~250μm(图2A,B),少部分病例菌丝旁可见反光较强的孢子,多呈卵圆形,直径为10~15μm。经过治疗后真菌菌丝形态发生改变,呈萎缩干燥状,菌丝数量、炎细胞密度降低(图2C)。

2.3.2 细菌性角膜炎 共焦显微镜下可见角膜上皮、基质层病灶内有大量的炎性细胞集聚,病灶周围角膜基质细胞密度变大,其炎性细胞为多形核白细胞,直径为8~10μm。细菌菌体镜下表现为1~2μm的高反光点(图2D),由于病变区域的图像反光强,不易辨认,应适当降低光的亮度,使背景图像变暗,以易于发现细菌菌体。

2.3.3 病毒性角膜炎 可见到病变区域上皮细胞的增大,浅基质层纤维化,上皮神经丛减少甚至消失,有时可见到微血管小支。病变区域可见大量的树突状细胞(图2E),浅基质层可见较多高反光不规则细胞聚集。

2.3.4 棘阿米巴角膜炎 在角膜上皮或浅基质层可见圆形、卵圆形、梨形或鸭蛋形高反光结构,包囊直径大致为10~25μm,成排排列(图2F),病灶周围可见基质内可见小空洞样改变和炎性细胞浸润。

## 3 讨论

感染性角膜炎是因病原微生物侵入角膜引发的炎症性病变,感染性角膜炎是我国的主要致盲眼病之一,占角膜盲的首位<sup>[1]</sup>。在本研究中,患者年龄跨度在9~88岁之间,其中中、老年人是就诊的主要患者,男性多于女性,考虑主要是男性从事体力劳动较多,容易发生角膜外伤,角膜上皮是抵御病原微生物侵袭的第一道屏障,如果角膜上皮受损,容易发生微生物感染所致。本组病例中老年患者所占比例相对较高,考虑与这个年龄段患者从事户外及体力活动较多有关,且老年人抵抗力相对较低,角膜炎不易愈合,病程迁延。

感染性角膜炎的早期诊断是治疗成功的关键因素,也是一个难题,由于缺乏快速有效的早期诊断方法,常常导致误诊而延误病情的诊治,共焦角膜显微镜是近年发展起来的一种活体生物检查技术,它的工作原理是使用共、扼焦点技术,利用激光扫描对角膜组织进行三维空间显示,具有高分辨率和高图像对比度的特点,能够在细胞水平对

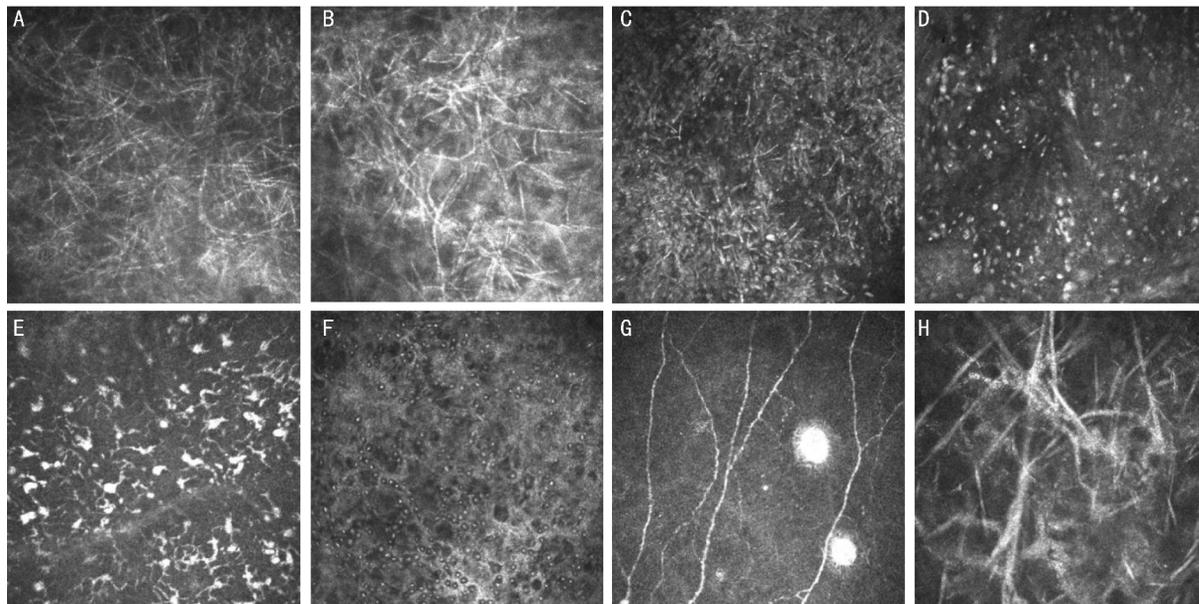


图2 共焦显微镜检查 A:真菌菌丝表现为高折光性的丝状结构;B:线状结构的真菌菌丝,可见分支;C:治疗后真菌菌丝呈萎缩干燥状,菌丝断裂;D:镜下见大量炎性细胞浸润;E:大量活化的树突状细胞;F:成排排列圆形阿米巴包囊;G:神经纤维直径较粗,多有分支;H:修复期基质内纤维条索缺乏自然弯曲且边界模糊。

活体角膜进行无创的动态观察,将角膜病的临床检查提高到了细胞形态学水平<sup>[2-4]</sup>。

结合本组病例我们看到,不同致病菌导致的角膜炎在共焦显微镜下呈现不同的特点,其中真菌及棘阿米巴感染具有特征性镜下表现。真菌在共焦显微镜检查中,其图像主要有3种表现:(1)树枝状菌丝:表现为菌丝粗细较均匀,直径 $2\sim 5\mu\text{m}$ ,分支角度大小不一,呈树枝状或局部连成网状,有一定的生理弯曲度。与光镜下所见真菌菌丝形态特征十分相似。多位于角膜上皮层或基底细胞层。(2)直、长线状菌丝:此真菌菌丝较易在角膜浅、中基质层中发现,菌丝粗细均匀,直径 $3\sim 7\mu\text{m}$ ,长而直,可见菌丝分隔为其特征。菌丝周围可伴有炎性细胞的浸润。(3)孢子型:在共焦显微镜下较难检查到典型的真菌孢子,本研究中仅发现2例。当治疗有效时,可以发现菌丝数量减少,形态上也出现变化,表现为菌丝肿胀、断裂<sup>[5]</sup>,但是共焦显微镜并不能鉴定真菌的菌种;真菌菌丝需要注意与角膜基质神经及高反光的纤维条索相鉴别:菌丝是在相对暗的背景下呈较亮的线状形态,弥漫分布,相互交织,角膜基质中的神经分布有一定规律,多呈Y形分支,走行一般呈上下垂直方向,直径略粗(图2G)。角膜组织修复期可见一些纤维条索与菌丝相似,纤维条索缺乏自然弯曲且边界模糊(图2H)。棘阿米巴角膜炎的共焦显微镜图像特点为:棘阿米巴包囊呈圆形、卵圆形、梨形或鸭蛋形高反光结构,可见双壁形态,但有时并不显示为双壁结构,这与图像采集的平面、周围组织的倾斜角度等有关。包囊为 $10\sim 25\mu\text{m}$ 大小的球型结构,比白细胞大而小于上皮细胞。与角膜其他结构最重要的区别在于它们的闪光特性及双囊结构,这种球型结构全部位于角膜上皮层、上皮下和前基质中,可成簇排列或者成对排列,阿米巴滋养体在本组检查中未查见;细菌及病毒很难在镜下发现菌体及病毒,需要根据炎性细胞及朗格罕氏细胞及神经细胞等特点进行诊断。细菌性角膜炎在共焦显微镜下可见 $1\sim 2\mu\text{m}$ 高反光点,由于细菌菌体细小,形态多样,缺少特征,故在共焦显微镜下不易分辨,仅表现为高亮度反光点。在共焦显微镜下不能区别是什么细菌感染,但可见上皮、基质层感染灶内有大量的炎性细胞集聚,病灶周围角膜基质细胞密度变大。细菌性角膜炎的炎性细胞浸润以中性粒细胞为主。

复发性单疱病毒性角膜炎,可以发现浅基质层树突状细胞的聚集及随后出现高反光的角膜细胞,病变区域的上皮细胞增大,浅基质层纤维化,上皮下神经丛减少,少数患者可以在深基质层瘢痕与正常角膜交界处见到细小血管。

在本研究中真菌性角膜炎检出率较高,考虑其原因一是由于抗生素和糖皮质激素的广泛使用及医务人员对其认识和诊断水平的提高,另一个原因是由于真菌性角膜炎的早期临床表现并不具备特异性,因此早期诊断较难,常在使用抗病毒、抗细菌、抗阿米巴药物治疗失败后才疑诊为真菌性角膜炎,患者才来我院进行角膜共焦显微镜检查,因此其检出率明显高于其他类型角膜炎。而且不能以一次共焦显微镜检查结果定论,尤其是有些已经经过抗真菌治疗的患者,本组病例中有5例患者均在首次检查中未查见真菌菌丝,在第二次检查中查到典型真菌菌丝。

共焦显微镜具有无创、快速、可重复性的优点<sup>[6]</sup>,可以早期对感染性角膜炎进行病原学的辅助诊断,避免了多重用药加重眼表的继发损害,但是在临床工作中仍要结合病史、裂隙灯下浸润灶特点、刮片及培养等综合分析进行诊断和治疗,当临床表现和检查结果明显不吻合时要反复多次检查,以免误诊,影响早期治疗。总之,共焦显微镜检查为感染性角膜炎的早期病原学诊断、病情疗效判断及预后提供了较客观的依据,随着临床应用的不断普及和研究的不断深入,必将成为更准确的活体生物检查技术。

#### 参考文献

- 1 谢立信. 临床角膜病学. 北京:人民卫生出版社 2014;28-30
- 2 Vaddavalli PK, Garg P, Sharm S, et al. Role of confocal microscopy in the diagnosis of fungal and acanthamoeba keratitis. *Ophthalmology* 2011; 118(1):29-35
- 3 Thomas PA, Geraldine P. Infectious keratitis. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20(2):129-141
- 4 Labbe A, Khammari C, Dupas B, et al. Contribution of *in vivo* confocal microscopy to the diagnosis and management of infectious keratitis. *Ocul Surf* 2009;7(1):41-52
- 5 史伟云,牛晓光,王富华. 真菌性角膜炎药物治疗后转归的共焦显微镜观察. *中华眼科杂志* 2003;41(7):614-619
- 6 Niederer RL, McGhee CN. Clinical *in vivo* confocal microscopy of the human cornea in health and disease. *Prog Retin Eye Res* 2010; 29(1):30-58