

活体共聚焦显微镜在微生物性角膜炎诊断中的应用进展

吕健, 曾思明, 蒋莉, 李兰建, 徐帆

引用: 吕健, 曾思明, 蒋莉, 等. 活体共聚焦显微镜在微生物性角膜炎诊断中的应用进展. 国际眼科杂志 2020; 20(12): 2070-2073

基金项目: 广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目 (No. S2019084)

作者单位: (530021) 中国广西壮族自治区南宁市, 广西壮族自治区人民医院眼科

作者简介: 吕健, 女, 广西医科大学在读硕士研究生, 研究方向: 眼表疾病、白内障的诊治、人工智能。

通讯作者: 徐帆, 男, 毕业于中山大学, 博士, 硕士研究生导师, 副主任医师, 研究方向: 眼表疾病、白内障的诊治、人工智能. oph_fan@163.com

收稿日期: 2019-11-18 修回日期: 2020-11-05

摘要

微生物性角膜炎 (MK) 是由细菌、病毒、真菌、棘阿米巴等微生物感染引起的角膜组织炎症病变, 是导致角膜盲的重要原因之一。活体共聚焦显微镜 (IVCM) 是一种非侵入性成像技术, 可通过 IVCM 快速、实时地获取角膜组织的高分辨率图像, 在角膜疾病的诊断和临床研究中表现出独特的优势。近年来, 随着学科交叉与融合, 人工智能在辅助识别微生物性角膜炎 IVCM 图像的特征结构中崭露头角, 对准确、快速地诊断 MK 具有重要的临床价值。因此, 本文将从 IVCM 在诊断 MK 中的特征性表现以及人工智能在辅助医生诊断 MK 应用的进展两个方面进行综述, 为进一步推动人工智能辅助共聚焦显微镜诊断角膜炎的诊疗做基础。

关键词: 微生物性角膜炎; 活体共聚焦显微镜; 人工智能; 综述

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2020.12.11

Application and development of *in vivo* confocal microscopy in the diagnosis of microbial keratitis

Jian Lyu, Si-Ming Zeng, Li Jiang, Lan-Jian Li, Fan Xu

Foundation item: Guangxi Medical and Health Appropriate Technology Development and Promotion Application Project (No. S2019084)

Department of Ophthalmology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Fan Xu. Department of Ophthalmology, the

People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. oph_fan@163.com

Received: 2019-11-18 Accepted: 2020-11-05

Abstract

• Microbial keratitis (MK) is a common corneal blind eye disease in the world. Severe keratitis can cause irreversible complications and even lead to blindness. Rapid identification of pathogen is the key for early and accurate MK treatment and a large of clinical data indicated that identifying the type of infected microorganisms accurately and quickly is still a challenge for ophthalmologists. The *in vivo* confocal microscopy (IVCM) is a non-invasive imaging technology that can provide high-resolution images of all corneal layers in a fast and real-time manner, has been used in the diagnosis and follow-up of corneal diseases. In recent years, with the intersection and integration of disciplines, artificial intelligence has been used to identify the characteristic structures in microbial keratitis IVCM images, which has brought important value for accurate and rapid diagnosis of microbial keratitis. Therefore, this article will review the characteristics of confocal microscopy in the diagnosis of microbial keratitis and the application of artificial intelligence in the diagnosis of microbial keratitis. It is of great significance to promote the diagnosis and treatment of keratitis in the future.

• KEYWORDS: microbial keratitis; *in vivo* confocal microscopy; artificial intelligence; review

Citation: Lyu J, Zeng SM, Jiang L, et al. Application and development of *in vivo* confocal microscopy in the diagnosis of microbial keratitis. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020; 20(12): 2070-2073

0 引言

微生物性角膜炎 (microbial keratitis, MK) 是全球引起角膜盲的主要眼病之一^[1-2]。在发展中国家因 MK 导致的单眼失明高达 (150~200) 万人/a, 预防视力永久性丧失的关键在于早期准确的病原学诊断从而实现早期精准治疗。角膜刮片微生物培养是目前诊断 MK 病因的金标准, 但存在取材带来医源性损伤、病原体培养周期长、培养的阳性率低等许多缺点^[3-4]。活体共聚焦显微镜 (*in vivo* confocal microscopy, IVCM) 作为一种非侵入性成像技术^[5-8], 可实时提供清晰的角膜各层图像, 对角膜疾病诊断和随访起到不可替代的作用^[9]。但由于仪器在检查会产生大量的图片, 使医生诊断负担加重, 诊断准确性下降。近年来, 人工智能 (artificial intelligence, AI) 已被广泛应用于辅助医生通

过共聚焦图片诊断角膜炎,并表现出一定的优越性^[10-11]。

1 活体共聚焦显微镜在 MK 诊断中的应用

1.1 真菌性角膜炎

迄今为止,在全球已经发现大于 70 种可引起角膜感染的真菌^[12]。在以工农业为主而医疗条件有限的发展中国家中,真菌性角膜炎(fungal keratitis, FK)是导致国民单眼失明的主要原因^[13]。早期识别真菌病原体并提供有针对性的治疗可以降低严重并发症的发生率。通过 IVCM 图像可直观地观察菌丝、孢子,以及菌丝在角膜基质内的生长方式,是诊断 FK 的重要手段^[14]。

IVCM 中菌丝通常表现为高反光的紊乱线形结构,曲霉和镰刀菌长度约在 200~400 μm ,但菌种的不同其分支或分节也不同,如:曲霉菌丝直径 5~10 μm ,呈 45°分枝成两段;而镰刀菌则多以 90°分枝。酵母如白色念珠菌表现为卵形芽殖体,长 10~40 μm ,宽 5~10 μm ,并有可能发展成假菌丝^[15-16]。Das 等^[17]研究结果表明,IVCM 在早期诊断深部 FK 的敏感性为 83%。Kanavi 等^[18]对 133 例感染性角膜炎的病例进行研究,发现 IVCM 的敏感性为 94%,但通过涂片和培养检查,真菌性角膜炎的检出率仅分别为 20.3%和 12.0%。Winchester 等^[19]观察了 FK 治疗过程中角膜的变化,发现经过严格治疗 4d 后,这些细长的纤维减少并转变为短的白色纤维,继续治疗 3wk 后菌丝变为直径 5~10 μm 类似于反应细胞的高反光的圆形肿块,最终高反光的圆形结构完全消失。有研究使用 IVCM 对 121 例真菌性角膜炎患者抗真菌治疗过程进行监测,随着病情的好转,IVCM 可以观察到患者菌丝密度和炎性细胞数量逐渐减少,角膜基质细胞恢复良好^[20]。

综上所述,医生可以通过 IVCM 可视化菌丝和类菌丝结构从而做出诊断,对治疗期间角膜组织的损伤与修复进行实时地观察,对评估 FK 的治疗效果和选择手术时机有重要的指导意义^[18-21]。IVCM 还可用于深部角膜真菌感染的检测,是 FK 的重要诊断工具。尽管 IVCM 具有许多优点,但仍然存在一些限制,例如需要熟练的操作员或经验丰富的医生,检查时需要患者的配合,角膜瘢痕会严重干扰检查结果。

1.2 棘阿米巴角膜炎

棘阿米巴角膜炎(acanthamoeba keratitis, AK)是一种因棘阿米巴原虫感染导致的具有潜在破坏性的角膜溃疡。常表现为单眼发病,伴异物感、畏光、流泪,以及与体征不符的剧烈疼痛,未及时治疗常并发角膜穿孔。避免引起严重的并发症关键在于早期准确诊断及治疗^[22-23]。但棘阿米巴角膜炎早期的临床表现缺乏特异性,易延误治疗^[24]。微生物培养作为诊断 AK 的金标准,但存在培养周期长、阳性率低(0~68%)的缺点^[25-26]。

IVCM 在棘阿米巴病原体表现为休眠期的包囊和活跃期的滋养体两种形态^[16]。在 1994 年有文章首次报道了通过使用 IVCM 观察到 AK 时出现放射性角膜神经炎以及疾病后期基质内形成空腔,揭开了共聚焦成像技术可以应用于 AK 诊断的面纱^[27]。后期大量的文献指出棘阿米巴包囊常出现在角膜上皮层及基质层,其表现为直径 15~28 μm ,球形、圆形、卵球形、梨形或呈双壁状超反射结构^[28-32]。滋养体在 IVCM 图像中表现为大小 15~100 μm 、形态不规则的高反光结构^[33]。Chew 等^[27]认为滋养体大小为 15~100 μm 且周围被低反射的基质包围的高反射结构。也有学者将滋养体描述呈线状结构^[33]。自 2004 年以来,很多研究强调了 IVCM 作为 AK 有效诊断工具的作用

用^[33-35]。在 Kanavi 等对 133 例感染性角膜炎研究的文章中,指出 IVCM 在诊断 AK 的敏感性为 100%和特异性为 84%^[28-36]。因该项研究的对照组是利用角膜刮片进行病原学培养,其结果会受深层感染的样本数量的影响,可信度有待考量。Tu 等^[36]使用 IVCM 对 125 例怀疑患有 AK 的患者进行检查,其诊断检测灵敏度范围为 90.6%~92.9%,特异性范围为 77.3%~100%,证实了可以使用 IVCM 作为 AK 的诊断工具的结论。Matsumoto 等^[37]表明对 AK 患者角膜的重复 IVCM 检查结果显示,经规范化治疗后 4~6wk,滋养体和包囊开始消失。Babu 等^[38]使用 IVCM 监测联合真菌和棘阿米巴角膜炎的治疗,获得了较好的效果。这些研究结论说明 IVCM 对角膜深层的棘阿米巴原虫具有诊断作用,在评估疾病的治疗效果具有重要潜力,是早期、快速地诊断 AK 的主要方法。

1.3 单纯疱疹病毒性角膜炎

单纯疱疹性角膜炎(herpes simplex keratitis, HSK)在发达国家中是角膜盲的主要传染性病因^[39]。单纯疱疹病毒潜伏于神经元及上皮中,易引起反复感染和炎症,使上皮细胞和成纤维细胞溶解,最终形成角膜瘢痕^[18]。HSK 感染时 IVCM 下可在翼状细胞层和基底细胞层见到活化的树突细胞浸润,而恢复期其密度降低,在深基质层瘢痕与正常角膜交界处还可观察到众多的微血管小枝,但并未描述病毒的具体形态。Cavanagh 等^[40]使用 IVCM 分析了 1 例慢性复发性疱疹感染的情况,与先前的疱疹病毒受累区域相比,复发后上皮细胞较正常上皮细胞变大,角膜基质层致密纤维化,并且在瘢痕区域上皮下神经丛缺失。Rosenberg 等^[41]描述使用 IVCM 对 16 例患单侧 HSV 的患者进行观察,其中 11 眼基底神经正常,有 2 眼基底神经缺失和 3 眼长神经纤维束的数量减少及在瘢痕区基底上皮细胞中高度反射的树突状结构,并被认为是活化树突细胞。因此他们提出假设:图像中见到朗格汉斯细胞可能对临床医生区分疱疹性角膜炎和细菌性角膜炎是有帮助的。2011 年 Toine 等发现通过将裂隙灯与 IVCM 联合使用,检测到在 35 例患者中的 14 例共出现 17 次复发^[42],提示了 IVCM 检查可以通过结合细胞水平的形态学评估和客观角膜背向散射测量来增强炎症活动的早期检测。Müller 等^[43]使用 IVCM 观察 HSK 后角膜瘢痕形成眼及对侧临床未受累眼发现:瘢痕眼以及对侧眼角膜内皮细胞密度、总神经长度显著低于健康对照组,推测单侧 HSK 后双侧角膜神经受损神经肽水平降低、内皮细胞损失。可见,目前 IVCM 受限于像素原因,仍不能对病毒病原体进行直观观察^[44]。但可以通过 IVCM 观察和监测结构性 HSV 患者病情的变化,对其预后进行判断,并起到与其他类型角膜炎鉴别诊断的作用。

1.4 细菌性角膜炎

细菌性角膜炎(bacterial keratitis, BK)的流行病学和微生物学特征常因地域情况有所差异,在温带气候中细菌是传染性角膜炎的致病微生物^[45]。目前,诊断病原体常用的诊断方法仍然依靠角膜涂片和微生物培养,然而,阳性率仅为 40%~60%。原因是细菌直径仅为 1~2 μm ,除具有特征性的结构或体积较大外(如诺卡菌属)IVCM 无法直接可视化病变组织中细菌病原体^[15]。IVCM 观察 BK 时发现角膜翼状细胞层和基底细胞层大量有圆球形和高反光的炎症细胞浸润,病灶周围角膜基质细胞密度变大。发生溃疡时角膜 IVCM 表现为组织缺损、水肿、厚度增加,白细胞和朗格汉斯细胞数目明显增加,这为

辅助诊断及预后提供重要信息^[46-47]。Chew等^[27]首次使用激光共聚焦显微镜对角膜基质层内注射蜡状芽孢杆菌的BK的兔模型进行共聚焦成像,发现直径约10 μ m的细菌在前基质内可表现为圆形的、细小的超反射结构。这些结构容易与纤维细胞和体积较小、反光明显的白细胞区分。Kaufman等^[48]使用IVCM观察2例隐形眼镜相关性金黄色葡萄球菌和草绿色链球菌感染的角膜炎患者的角膜,IVCM图片中可见上皮水平以下1.5~2 μ m直径的超反射圆形体,其有可能对应细菌,并通过其大小与球形超反射结构(淋巴细胞或粒细胞)区分。但这些高反射的圆形结构与细胞内结构碎片大小与形态相似,因此无法将其与细菌区分。Vaddavalli等^[49]对3例有关诺卡氏角膜炎进行研究表明:诺卡氏菌是一种直径小于1.5 μ m的分枝纤维状细菌,IVCM图像中可见高反射、短、薄的分支细丝,当存在其他类型的炎症细胞浸润时边缘细丝变得更加明显。可见,目前仍未能通过IVCM区分细小的细菌、炎症细胞和组织细胞的碎片,仅可以观察特殊类型的细菌病原体。但在治疗期间使用IVCM对BK患者进行观察,可以起到有效监测BK愈合情况的作用,并能通过炎症细胞的浸润情况,判断角膜的严重程度,为治疗提供线索。

2 人工智能在自动识别IVCM图像中的应用

AI是计算机科学的一个分支,是研究、开发用于模拟、延伸和扩展人的智能的理论、方法、技术及应用系统的一门新的技术科学,其中图像识别与分析是人工智能的一个重要领域。随着多学科融合发展,图像分析技术被逐渐应用于医学研究和临床诊断领域,推动现代医学诊断的深刻变革^[50-51]。越来越多的学者利用AI对IVCM图像解读从而辅助医生诊断角膜炎^[10,52-53]。

2003年Saini等^[53]根据角膜炎的病因构建的人工神经网络模型在进行外部验证时可以将43例角膜溃疡中的39例正确分类。结果显示构建的模型对细菌和真菌识别的特异性分别为76.47%和100%,分类的准确率为90.7%,显著优于临床医师的诊断。2016年刘治团队更是应用局部二元模式(local binary pattern, LBP)和支持向量机(support vector machine, SVM)模型,将200张IVCM图像中的菌丝和正常角膜的神经纤维区分,准确率为93.53%^[10]。2018年该团队利用自适应鲁棒二进制模型(adaptive robust binary pattern, ARBP)结合SVM的方法构建自动诊断算法框架,结果显示在大约400幅图像的数据集上实现了菌丝自动检测的准确性为99.74%,灵敏度和特异性更是接近于100%。当ARBP结合SVM融入线段定量分析法后构建的具有自动识别菌丝并量化菌丝密度的深度学习模型,获得了灵敏度为89.29%,特异性为95.65%。ROC曲线下面积为0.946的结果,该方法与角膜刮片结果相比具有良好的优越性^[13]。

这些研究说明了AI在辅助医生通过IVCM识别FK,提高准确性方面具有重要的意义。但是应用AI辅助诊断FK的优势是显而易见的:图像自动检测不依赖技术人员,并且可以帮助经验不足的年轻医生,通过提供及时、准确、客观和定量地评价标准真菌性角膜炎。但目前这些研究的图像数量少,通常来自一个医疗中心,单一的设备设置、图片采集系统和人口特征可能会影响IVCM图像的多样性。

3 展望

感染性角膜炎患者角膜变薄且疼痛明显,IVCM检查是一种接触性检查工具,操作过程易引起患者眼部不适,且IVCM的成像视野小,操作者须将探头缓慢移动到整个感染区域,对于角膜边缘感染性微生物或间接感染成像困难,因此更需要患者高度的配合才能采集清晰图像和进行动态检查。并且对于同一患者感染期间跟踪角膜内细胞变化或进行随访检查时,对相同区域进行成像对比存在难度。另外,IVCM检查是产生的大量缺乏结构特异性的图像,即使是经验丰富的医生对结果的判读仍存在巨大挑战。当前已有研究使用机器学习的方法辅助医生进行诊断,但这些研究的图像通常来自一个医疗中心,单一的设备设置、图片采集系统和人口特征可能会影响IVCM图像的多样性,因而系统性能也会受到影响。且人工智能技术碍于全球医疗大数据的建立未完善以及人工智能处理图像的过程“黑匣子”特性,使得人工智能算法在图像层面分析模式和做出决策的方式变得模棱两可^[51,54-55]。

随着人工智能技术探究与发展,在医学领域的逐步落地。相信在不久的将来,随着共聚焦显微镜成像技术的提高以及大数据平台的构建、AI算法的优化,活体共聚焦显微镜能更精确地辅助医生提高对各类角膜疾病的诊断,提供遵循疾病过程和指导治疗的独特优势。

参考文献

- 1 Shah A, Sachdev A, Coggon D, et al. Geographic variations in microbial keratitis: an analysis of the peer-reviewed literature. *Br J Ophthalmol* 2011;95(6):762-767
- 2 Wang H, Zhang Y, Li Z, et al. Prevalence and causes of corneal blindness. *Clin Exp Ophthalmol* 2014;42(3):249-253
- 3 Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP. Corneal blindness: a global perspective. *Bull World Health Organ* 2001;79(3):214-221
- 4 Binnani A, Gupta P, Gupta A. Epidemic - Clinico - Microbiological Study of Mycotic Keratitis in North - West Region of Rajasthan. *Mycopathologia* 2018;183(4):717-722
- 5 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
- 6 Guthoff RF, Zhivov A, Stachs O. *In vivo* confocal microscopy, an inner vision of the cornea - a major review. *Clin Exp Ophthalmol* 2009;37(1):100-117
- 7 Alzubaidi R, Sharif MS, Qahwaji R, et al. *In vivo* confocal microscopic corneal images in health and disease with an emphasis on extracting features and visual signatures for corneal diseases: a review study. *Br J Ophthalmol* 2016;100(1):41-55
- 8 Chidambaram J, Prajna N, Palepu S, et al. *In Vivo* Confocal Microscopy Cellular Features of Host and Organism in Bacterial, Fungal, and Acanthamoeba Keratitis. *Am J Ophthalmol* 2018;190:24-33
- 9 蓝倩倩, 陈琦, 陈丽妃, 等. 共聚焦显微镜对感染性角膜炎病原学的诊断价值. *中国临床新医学* 2019;12(6):626-629
- 10 Qiu Q, Liu Z, Zhao Y, et al. Automatic Detecting Cornea Fungi Based on Texture Analysis. 2016 IEEE International Conference on Smart Cloud (Smart Cloud) 2016:214-217
- 11 Wu X, Qiu Q, Liu Z, et al. Hyphae Detection in Fungal Keratitis Images With Adaptive Robust Binary Pattern. *IEEE Access* 2018;6:13449-13460
- 12 Tarabishy A, Aldabagh B, Sun Y, et al. MyD88 regulation of Fusarium keratitis is dependent on TLR4 and IL-1R1 but not TLR2. *J Immunol* 2008;181(1):593-600

- 13 Wu X, Tao Y, Qiu Q, *et al.* Application of image recognition-based automatic hyphae detection in fungal keratitis. *Australas Phys Eng Sci Med* 2018;41(1):95-103
- 14 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焦显微镜检查. *第四军医大学学报* 2006;27(21):1925-1928
- 15 Labbé 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
- 16 Kumar RL, Cruzat A, Hamrah P. Current state of *in vivo* confocal microscopy in management of microbial keratitis. *Semin Ophthalmol* 2010;25(5-6):166-170
- 17 Das S, Samant M, Garg P, *et al.* Role of Confocal Microscopy in Deep Fungal Keratitis. *Cornea* 2009;28:11-3
- 18 Kanavi MR, Javadi M, Yazdani S, *et al.* Sensitivity and specificity of confocal scan in the diagnosis of infectious keratitis. *Cornea* 2007;26(7):782-786
- 19 Winchester K, Mathers WD, Sutphin JE, *et al.* Diagnosis of Acanthamoeba keratitis *in vivo* with confocal microscopy. *Cornea* 1995;14(1):10-17
- 20 Maharana PK, Sharma N, Nagpal R, *et al.* Recent advances in diagnosis and management of Mycotic Keratitis. *Indian J Ophthalmol* 2016;64(5):346-357
- 21 Anutarapongpan O, Thanathane O, Worravitawong J, *et al.* Role of Confocal Microscopy in the Diagnosis of Pythium insidiosum Keratitis. *Cornea* 2018;37(2):156-161
- 22 Awwad ST, Petroll WM, McCulley JP, *et al.* Updates in Acanthamoeba keratitis. *Eye Contact Lens* 2007;33(1):1-8
- 23 Ibrahim Y, Boase D, Cree I. Factors affecting the epidemiology of Acanthamoeba keratitis. *Ophthalmic Epidemiol* 2007;14(2):53-60
- 24 Dalmon C, Porco TC, Lietman TM, *et al.* The clinical differentiation of bacterial and fungal keratitis;a photographic survey. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(4):1787-1791
- 25 Kymionis GD, Diakonov VF, Shehadeh MM, *et al.* Anterior segment applications of *in vivo* confocal microscopy. *Semin Ophthalmol* 2015;30(4):243-251
- 26 Zhong J, Li X, Deng Y, *et al.* Associated factors, diagnosis and management of Acanthamoeba keratitis in a referral Center in Southern China. *BMC Ophthalmol* 2017;17(1):175
- 27 Chew S, Beuerman R, Assouline M. Early diagnosis of infectious keratitis with *in vivo* real time confocal microscopy. *CLAO J* 1992;18(3):197-201
- 28 Su PY, Hu FR, Chen YM, *et al.* Dendritiform cells found in central cornea by *in-vivo* confocal microscopy in a patient with mixed bacterial keratitis. *Ocul Immunol Inflamm* 2006;14(4):241-244
- 29 Chin J, Young AL, Hui M, *et al.* Acanthamoeba keratitis:10-year study at a tertiary eye care center in Hong Kong. *Cont Lens Anterior Eye* 2015;38(2):99-103
- 30 Foulks G. Acanthamoeba keratitis and contact lens wear; static or increasing problem? *Eye Contact Lens* 2007;33(6 Pt 2):412-414
- 31 Kobayashi A, Ishibashi Y, Oikawa Y. *In vivo* and *ex vivo* laser confocal microscopy findings in patients with early-stage acanthamoeba keratitis. *Cornea* 2008;27(4):439-445
- 32 Nagpal R, Singhal D, Maharana PK, *et al.* Reduction of Acanthamoeba Cyst Density Associated With Treatment Detected by *In Vivo* Confocal Microscopy in Acanthamoeba Keratitis. *Cornea* 2019;38(4):463-468
- 33 Parmar DN, Awwad ST, Petroll WM, *et al.* Tandem scanning confocal corneal microscopy in the diagnosis of suspected acanthamoeba keratitis. *Ophthalmology* 2006;113(4):538-547
- 34 Goh J, Harrison R, Hau S, *et al.* Comparison of *In Vivo* Confocal Microscopy, PCR and Culture of Corneal Scrapes in the Diagnosis of Acanthamoeba Keratitis. *Cornea* 2018;37(4):480-485
- 35 Chidambaram J, Prajna N, Larke N, *et al.* Prospective Study of the Diagnostic Accuracy of the *In Vivo* Laser Scanning Confocal Microscope for Severe Microbial Keratitis. *Ophthalmology* 2016;123(11):2285-2293
- 36 Tu E, Joslin C, Sugar J, *et al.* The Relative Value of Confocal Microscopy and Superficial Corneal Scrapings in the Diagnosis of Acanthamoeba Keratitis. *Cornea* 2008;27(7):764-772
- 37 Matsumoto Y, Dogru M, Sato E, *et al.* The application of *in vivo* confocal scanning laser microscopy in the management of Acanthamoeba keratitis. *Mol Vis* 2007;13(13):19-26
- 38 Babu K, Murthy K. Combined fungal and acanthamoeba keratitis: diagnosis by *in vivo* confocal microscopy. *Eye (Lond)* 2007;21(2):271-272
- 39 Kaufman H. Treatment of viral diseases of the cornea and external eye. *Prog Retin Eye Res* 2000;19(1):69-85
- 40 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(10):1444-1454
- 41 Rosenberg M, Tervo TM, Müller L, *et al.* *In Vivo* Confocal Microscopy After Herpes Keratitis. *Cornea* 2002;21(3):265-269
- 42 Hillenaar T, van Cleynebreugel H, Verjans GM, *et al.* Monitoring the inflammatory process in herpetic stromal keratitis;the role of *in vivo* confocal microscopy. *Ophthalmology* 2012;119(6):1102-1110
- 43 Müller RT, Pourmirzaie R, Pavan - Langston D, *et al.* *In Vivo* Confocal Microscopy Demonstrates Bilateral Loss of Endothelial Cells in Unilateral Herpes Simplex Keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(8):4899-4906
- 44 Hamrah P, Sahin A, Dastjerdi MH, *et al.* Cellular changes of the corneal epithelium and stroma in herpes simplex keratitis; an *in vivo* confocal microscopy study. *Ophthalmology* 2012;119(9):1791-1797
- 45 Keay L, Edwards K, Naduvilath T, *et al.* Microbial keratitis predisposing factors and morbidity. *Ophthalmology* 2006;113(1):109-116
- 46 Hau SC, Dart JK, Vesaluoma M, *et al.* Diagnostic accuracy of microbial keratitis with *in vivo* scanning laser confocal microscopy. *Br J Ophthalmol* 2010;94(8):982-987
- 47 梁庆丰, 孙旭光, Antoine L. 活体共聚焦显微镜在感染性角膜炎诊治中的应用. *中华眼科杂志* 2013;49(10):951-955
- 48 Kaufman SC, Musch DC, Belin MW, *et al.* Confocal microscopy: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology* 2004;111(2):396-406
- 49 Vaddavalli P, Garg P, Sharma S, *et al.* Confocal microscopy for Nocardia keratitis. *Ophthalmology* 2006;113(9):1645-1650
- 50 Wu X, Huang Y, Liu Z. Universal artificial intelligence platform for collaborative management of cataracts. *Br J Ophthalmol* 2019;103(11):1553-1560
- 51 Gargeya R, Leng T. Automated Identification of Diabetic Retinopathy Using Deep Learning. *Ophthalmology* 2017;124(7):962-969
- 52 Chen X, Graham J, Dabbah MA, *et al.* An Automatic Tool for Quantification of Nerve Fibers in Corneal Confocal Microscopy Images. *IEEE Trans Biomed Eng* 2017;64(4):786-794
- 53 Saini JS, Jain AK, Kumar S, *et al.* Neural network approach to classify infective keratitis. *Curr Eye Res* 2003;27(2):111-116
- 54 Lu W, Tong Y, Yu Y, *et al.* Deep Learning - Based Automated Classification of Multi-Categorical Abnormalities From Optical Coherence Tomography Images. *Transl Vis Sci Technol* 2018;7(6):41
- 55 Kermany DS, Goldbaum M, Cai W, *et al.* Identifying Medical Diagnoses and Treatable Diseases by Image-Based Deep Learning. *Cell* 2018;172(5):1122-1131