

烯的变化及意义[J]. 中国医学文摘(皮肤科学), 2007, 24(6): 342-343.

5 王淑琳. 左西替利嗪治疗慢性荨麻疹临床疗效分析[J]. 临床合理用药杂志, 2017, 10(28): 77-78.

6 斯琴. 盐酸左西替利嗪阶梯递减疗法治疗慢性荨麻疹的临床研究[J]. 内蒙古医学杂志, 2016, 48(10): 1220-1221.

7 Kim MK, Lee SY, Park HS, et al. A Randomized, Multicenter, Double-blind, Phase III Study to Evaluate the Efficacy on Allergic

Rhinitis and Safety of a Combination Therapy of Montelukast and Levocetirizine in Patients With Asthma and Allergic Rhinitis[J]. Clin Ther, 2018, 40(7): 1096-1107. e1.

8 Walsh GM. A review of the role of levocetirizine as an effective therapy for allergic disease[J]. Expert Opin Pharmacother, 2008, 9(5): 859-867.

[收稿日期 2019-03-14][本文编辑 余军 吕文娟]

课题研究·论著

共聚焦显微镜对感染性角膜炎病原学的诊断价值

蓝倩倩, 陈丽妃, 黄慧, 沈朝兰, 陈琦

基金项目: 广西卫健委科研课题(编号:Z2016623)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院眼科

作者简介: 蓝倩倩(1984-), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 眼表疾病的诊治。E-mail: 54283122@qq.com

通讯作者: 陈琦(1973-), 男, 大学本科, 学士学位, 主任医师, 研究方向: 眼表疾病的诊治。E-mail: 228699223@qq.com

[摘要] **目的** 评价共聚焦显微镜(CM)对细菌、真菌、单纯疱疹病毒、棘阿米巴4种感染性角膜炎的病原体的鉴别诊断能力。**方法** 选择该院2015-01~2018-09临床确诊为4种感染性角膜炎患者,采取盲法利用CM进行病原学的鉴别诊断,并统计其诊断效能。**结果** 纳入临床确诊的感染性角膜炎共151例,其中细菌性角膜炎43例,真菌性角膜炎56例,单疱病毒性角膜炎49例,棘阿米巴性角膜炎3例。CM对细菌性角膜炎、真菌性角膜炎、单纯疱疹病毒性角膜炎、棘阿米巴性角膜炎病原学诊断的灵敏度依次为76.74%、91.07%、77.56%、100.00%,特异度依次为85.19%、97.89%、92.16%、100.00%,Kappa值依次为0.59、0.90、0.71、1.00。**结论** CM对感染性角膜炎的病原体有较好的鉴别诊断能力。

[关键词] 共聚焦显微镜; 感染性角膜炎; 诊断效能

[中图分类号] R 772.21 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2019)06-0626-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2019.06.12

Diagnostic efficiency of confocal microscopy in aetiology of infectious keratitis LAN Qian-qian, CHEN Li-fei, HUANG Hui, et al. Department of Ophthalmology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To evaluate the diagnostic efficiency ability of confocal microscopy (CM) for pathogens of four kinds of infectious keratitis caused by bacteria, fungi, herpes simplex virus and acanthamoeba. **Methods** We selected the patients diagnosed with the four kinds of infectious keratitis in our hospital. CM was performed to differentially diagnose the pathogens by blind method to analyse the diagnostic efficiency. **Results** One hundred and fifty-one cases were diagnosed with infectious keratitis, including 43 cases of bacterial keratitis, 56 cases of fungal keratitis, 49 cases of herpes simplex virus keratitis and 3 cases of acanthamoeba keratitis. The sensitivities of CM in diagnosis of bacterial keratitis, fungal keratitis, herpes simplex virus keratitis and acanthamoeba keratitis were 76.74%, 91.07%, 77.56% and 100.00% respectively, and the specificities of the four infections were 85.19%, 97.89%, 92.16% and 100.00% respectively. The Kappa values of the four infections were 0.59, 0.90, 0.71 and 1.00 respectively. **Conclusion** CM has high efficiency in differential diagnosis of pathogens of infectious keratitis.

[Key words] Confocal microscopy (CM); Infectious keratitis; Diagnostic efficiency

感染性角膜炎在亚洲、非洲等发展中国家是仅次于白内障的致盲性眼病^[1,2],引起角膜感染的病原体种类繁多,临床表现复杂多样,只有早期、快速、明确的诊断,才能及时针对病因采取准确有效的治疗方案,尽早控制感染,降低致盲率。感染性角膜炎的传统辅助检查是病原学的实验室检查,包括角膜刮片后在显微镜下涂片检查和培养法,这种诊断方法受取材限制较大,阳性率不高。共聚焦显微镜(confocal microscopy, CM)能对活体角膜进行非侵入性的快速检查^[3],被不同病原体感染的角膜显现不同的特征^[4],是诊断感染性角膜炎的有利工具。本研究主要是评价 CM 对细菌、真菌、单纯疱疹病毒(简称单疱病毒)、棘阿米巴这 4 种感染性角膜炎病原学鉴别诊断的准确性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015-01~2018-09 在广西壮族自治区人民医院眼科就诊的患者作为研究对象。纳入标准:(1)依据《感染性角膜病临床诊疗专家共识(2011年)》^[5],临床确诊为单一类型病原体感染的角膜炎患者;(2)以下 4 种角膜炎之一:细菌性角膜炎、真菌性角膜炎、单疱病毒性角膜炎、棘阿米巴性角膜炎;(3)自愿签署参加课题研究同意书并通过医院伦理委员会审批。排除标准:(1)临床诊断感染病原体不确定者;(2)病原学实验室检查发现 2 种及以上病原体混合感染者;(3)初诊时合并角膜开放性伤口或患者配合不佳无法完成 CM 检查者;(4)不遵医嘱治疗或随访者。共纳入 151 例(眼)临床确诊为感染性角膜炎的患者,年龄 16~84(65.79±12.52)岁,其中细菌性角膜炎 43 例,真菌性角膜炎 56 例,单疱病毒性角膜炎 49 例,棘阿米巴性角膜炎 3 例。

1.2 方法

1.2.1 CM 诊断 由 2 名具有 2 年以上 CM 检查经验的主治医师利用 CM(高视远望公司,海德堡 HRT3)扫描患者角膜病灶,操作步骤:患眼滴用盐酸奥布卡因眼水进行表面麻醉后,将氧氟沙星眼膏滴于物镜头表面,嘱患者注视固视灯,调整物镜位置使激光光束位于病变区,前移物镜头与角膜轻微接触,扫描角膜各层。根据图像特征及《活体角膜激光扫描共聚焦显微镜图像》^[6]进行诊断。细菌性角膜炎:尽管 CM 不能在角膜组织中直接发现细菌病原体,但病变处会聚集活化的树突状细胞及大量的炎症细胞,病灶区组织结构不清,边缘角膜组织水肿;真菌性角膜炎:在 CM 下可见病变区纵横交错的高反射的真

菌菌丝或高反光细长颗粒状的孢子,不同致病菌种属,其菌丝的形态可能不同,部分菌丝见分隔和分支,伴炎症细胞的浸润,基质纤维增生活跃;单疱病毒性角膜炎:CM 不能直接观察到病毒,但却可以发现病毒感染后相关的角膜结构改变,基底膜下神经纤维密度、神经主干的分支数减少,神经纤维直径变小,还可见大量活化的树突状细胞;棘阿米巴性角膜炎:CM 下有 4 种表现,包括包囊、滋养体、放射性角膜神经炎以及疾病后期基质内的空腔,包囊表现为 10~25 μm 大小的圆形高反光厚壁结构。

1.2.2 实验室病原学检查 患眼滴用盐酸奥布卡因眼水进行表面麻醉,患者取平卧位,采用一次性显微手术刀片对角膜病灶进行刮片,涂于载玻片上和培养皿上,送医院检验科进行显微镜下涂片检查、病原体外培养及药敏试验。阳性者记录病原学种类。

1.2.3 临床诊断 由 2 名具有 5 年以上角膜病诊治经验的眼科副主任医师或主任医师共同诊断。诊断标准和治疗方案参考《感染性角膜病临床诊疗专家共识(2011年)》^[5],病原学实验室检查结果阳性(涂片发现真菌菌丝或孢子,棘阿米巴包囊或滋养体,或培养见细菌、真菌、棘阿米巴)者可以确诊;病原学实验室检查结果阴性者则须参考临床表现、CM 检查结果、治疗效果综合诊断。治疗采用对应病原体的敏感类药物。

1.3 统计学方法 应用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析,计数资料以百分率(%)表示,采用 χ^2 检验。CM 检查与金标准的一致性比较采用 Kappa 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验室诊断 所有临床确诊的 151 例中,依据实验室病原学确诊的有 48 例(31.79%),其中细菌感染 15 例(眼)(占确诊者的 31.3%),真菌感染 30 例(占 62.5%),棘阿米巴感染 3 例(占 6.25%)。

2.2 CM 的诊断效能 以临床诊断为金标准,计算 CM 诊断 4 种感染性角膜炎的灵敏度、特异度、准确度、漏诊率、误诊率、阳性似然比、阴性似然比、比数比及 Kappa 值。5 例临床诊断为“真菌性角膜炎”,而 CM 诊断为“细菌性角膜炎”;2 例临床诊断为“细菌性角膜炎”,而 CM 诊断为“真菌性角膜炎”;11 例临床诊断为“单疱病毒性角膜炎”,而 CM 诊断为“细菌性角膜炎”;8 例临床诊断为“细菌性角膜炎”,而 CM 诊断为“单疱病毒性角膜炎”。CM 在细菌性角膜炎、真菌性角膜炎、单疱病毒性角膜炎、棘阿米巴性角膜炎诊断中的灵敏度依次为 76.74%、

91.07%、77.56%、100.00%；特异度依次为 85.19%、97.89%、92.16%、100.00%。Kappa 值依次为 0.59 ($P = 0.000$)、0.90 ($P = 0.000$)、0.71 ($P = 0.000$)、1.00 ($P = 0.000$)。见表 1~5。

表 1 两种方法诊断细菌性角膜炎结果比较(n)

CM 诊断	临床诊断		合计
	阳性	阴性	
阳性	33	16	49
阴性	10	92	102
合计	43	108	151

表 2 两种方法诊断真菌性角膜炎结果比较(n)

CM 诊断	临床诊断		合计
	阳性	阴性	
阳性	51	2	53
阴性	5	93	98
合计	56	95	151

表 3 两种方法诊断单疱病毒性角膜炎结果比较(n)

CM 诊断	临床诊断		合计
	阳性	阴性	
阳性	38	8	46
阴性	11	94	105
合计	49	102	151

表 4 两种方法诊断棘阿米巴性角膜炎结果比较(n)

CM 诊断	临床诊断		合计
	阳性	阴性	
阳性	3	0	3
阴性	0	148	148
合计	3	148	151

表 5 CM 结果对各类感染性角膜炎的诊断价值

诊 断	细菌性角膜炎	真菌性角膜炎	单疱病毒性角膜炎	棘阿米巴性角膜炎
临床诊断(眼)	43	56	49	3
CM 诊断(眼)	49	53	46	3
灵敏度(%)	76.74	91.07	77.56	100.00
特异度(%)	85.19	97.89	92.16	100.00
Kappa 值	0.59	0.90	0.71	1.00
准确度(%)	82.78	95.36	87.42	100.00
漏诊率(%)	23.26	8.92	22.45	0
误诊率(%)	14.81	2.11	7.84	0
阳性似然比	5.18	43.26	9.89	-
阴性似然比	0.27	0.09	0.24	0
比数比	18.98	474.30	40.59	-

3 讨论

3.1 传统诊断感染性角膜炎的金标准是实验室的病原学培养,但在临床中因为角膜取材量少,阳性率较低。张阳等^[7]在 6 220 例细菌性角膜炎中培养阳性率为 22.1%；张红敏等^[8]在 93 例真菌性角膜炎中培养阳性率为 43.20%。本研究中,诊断标准不仅是病原学实验室检查,而且是依据专家共识,由 2 名医师共同诊断,以临床确诊结果为判断标准。虽然也会存在误诊的情况,但是较实验室培养的阳性率要高。本研究以此标准来衡量 CM 的诊断效能,尽可能降低假阳性率和假阴性率,提高了结论的可靠性。

3.2 CM 是一种非侵入性的检查手段,具有快捷、方便及可重复检查的优点,可直接观察活体角膜中的真菌菌丝、孢子和棘阿米巴包囊。既往临床研究^[9~11]显示其对真菌和棘阿米巴感染角膜炎的诊断有很好的灵敏度和特异度。美国眼科学会于 2004 年对 51 项相关研究进行了分析,结果表明 CM 可作为真菌性角膜炎和棘阿米巴性角膜炎的重要辅助诊断工具^[12]。Kheirkhah 等^[13]发现用 CM 诊断丝状真菌角膜炎的灵敏度和特异度分别为(71.4 ± 0.0)%和(89.6 ± 3.0)%。张红敏等^[8]使用 CM 对 93 例真菌性角膜炎的诊断阳性率为 82.07%。本研究结果显示,CM 对 56 例真菌性角膜炎诊断中的灵敏度和特异度分别为 91.07%和 97.89%,3 例棘阿米巴性角膜炎诊断中的灵敏度和特异度均为 100.00%,显示出良好的诊断效能。

3.3 本研究显示,5 例临床诊断为“真菌性角膜炎”,其中有 2 例实验室病原学证实真菌感染,其余 3 例符合真菌性角膜炎的临床表现且抗真菌治疗有效。这 5 例初诊时 CM 未见菌丝和孢子,被诊断为“细菌性角膜炎”,我们推测 CM 误诊的原因有:病程较长;外院接受过角膜刮片或抗真菌治疗;角膜水肿和坏死组织过多影响 CM 光线的穿透力;真菌菌丝位于角膜基质深层或内皮面;以孢子为主的酵母菌无菌丝表现,尤其是微孢子性真菌,当组织坏死增多、菌丝量少、孢子形态不典型、量少及炎症细胞量多时,CM 对真菌的诊断难度提高,需要检查者具有丰富的经验,进行反复多位点的检查。Shah 等^[14]的团队和 Sagoo 等^[15]的团队分别报道了微孢子(微孢子的大小 1~2 μm)真菌性角膜炎在 CM 下不容易被分辨出,因此漏诊率高。这也提醒我们在临床上应先行 CM 检查再行角膜刮片检查,以免角膜刮片后菌丝断裂不典型,或因菌丝量少影响 CM 对病原体的观察。

3.4 本研究中,有 2 例临床诊断为“细菌性角膜炎”,

CM 诊断为“真菌性角膜炎”,因为检查医师在 CM 中见到少量可疑菌丝,后复查发现其实是基质层纤维断裂形态类似真菌,其中 1 例在角膜刮片培养到细菌,另 1 例虽然没有实验室病原学支持,但是未用抗真菌药物,仅使用抗细菌药物即达到了临床治愈的疗效。CM 对于不典型图像,尤其是真假菌丝的鉴别难度是误诊的主要原因。本研究在棘阿米巴的诊断中 CM 检查表现出良好的特异度和灵敏度,没有漏诊和误诊,是因为棘阿米巴在 CM 下有典型的病原学特征,但是本研究中观察的病例较少,可能一些假阳性或假阴性的情况没有被观察到。

3.5 本研究中,有 11 例临床诊断证实为“单疱病毒性角膜炎”,CM 诊断为“细菌性角膜炎”,有 8 例临床诊断为“细菌性角膜炎”,CM 诊断为“单疱病毒性角膜炎”。这两种角膜炎在临床诊断和 CM 诊断中出现了分歧,根据单疱病毒性角膜炎反复发作的病史和典型的眼部体征,在治疗中用抗病毒药物治疗,未使用抗细菌性药物,患者治愈,进一步证实了临床诊断的正确性。此外,细菌性角膜炎的临床诊断有病原学检查结果作为依据更具有可信度,因此我们认为是 CM 诊断出现了误诊。这是因为 CM 受分辨率的限制,很难直接观察到细菌,更不可能观察到病毒,仅能对细菌和单疱病毒引起的角膜结构改变进行观察,而两者有容易混淆的地方,检查医师很难单纯通过 CM 的图像特征进行准确地鉴别。因此 CM 在细菌、病毒感染中的诊断灵敏度和特异度不如真菌、棘阿米巴感染。

综上所述,CM 检查对患者的配合要求较高,其诊断的准确性依赖于检查者的丰富经验和娴熟的技术。CM 在角膜感染的病原学鉴别中具有显著的优势性,尤其是真菌性和棘阿米巴性的感染中表现出良好的诊断效能,其无创、快速的诊断在临床中有广阔的应用前景。

参考文献

1 Leck AK, Thomas PA, Hagan M, et al. Aetiology of suppurative corneal

- ulcers in Ghana and south India, and epidemiology of fungal keratitis [J]. *Br J Ophthalmol*, 2002, 86(11):1211-1215.
- 2 Gonzales CA, Srinivasan M, Whitcher JP, et al. Incidence of corneal ulceration in Madurai district, South India [J]. *Ophthalmic Epidemiol*, 1996, 3(3):159-166.
- 3 Mustonen RK, McDonald MB, Srivannaboon S, et al. Normal human corneal cell populations evaluated by in vivo scanning slit confocal microscopy [J]. *Cornea*, 1998, 17(5):485-492.
- 4 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 [J]. *中国实用眼科杂志*, 2007, 25(5):479-482.
- 5 中华医学会眼科学分会角膜病学组. 感染性角膜病临床诊疗专家共识(2011年) [J]. *中华眼科杂志*, 2012, 48(1):72-75.
- 6 孙旭光. 活体角膜激光扫描共聚焦显微镜图像 [M]. 北京:人民军医出版社, 2014:12-27.
- 7 张阳, 王智群, 孙旭光. 2006至2015年我国北方地区细菌性角膜炎病原学及药物敏感性分析 [J]. *中华眼科杂志*, 2017, 53(9):662-667.
- 8 张红敏, 窦新岩, 杨柯, 等. 激光扫描共聚焦显微镜结合裂隙灯显微镜检查对真菌培养阴性的常见丝状真菌性角膜炎诊断的可行性 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2018, 36(2):119-123.
- 9 赵家良. 眼科疾病临床诊疗规范教程 [M]. 北京:北京大学医学出版社, 2007:95.
- 10 李绍伟, Gebhardt BM, 史伟云, 等. 共焦显微镜鉴别诊断真菌性角膜炎的实验研究 [J]. *眼科研究*, 2001, 19(5):389-392.
- 11 Kumar RL, Cruzat A, Hamrah P. Current state of in vivo confocal microscopy in management of microbial keratitis [J]. *Semin Ophthalmol*, 2010, 25(5-6):166-170.
- 12 Kaufman SC, Musch DC, Belin MW, et al. Confocal microscopy: a report by the American Academy of Ophthalmology [J]. *Ophthalmology*, 2004, 111(2):396-406.
- 13 Kheirkhah A, Syed ZA, Satitpitakul V, et al. Sensitivity and specificity of Laser-scanning in vivo confocal microscopy for filamentous fungal keratitis: role of observer experience [J]. *Am J Ophthalmol*, 2017, 179(7):81-89.
- 14 Shah GK, Pfister D, Probst LE, et al. Diagnosis of microsporidial keratitis by confocal microscopy and the chromatrope stain [J]. *Am J Ophthalmol*, 1996, 121(1):89-91.
- 15 Sagoo MS, Mehta JS, Hau S, et al. Microsporidium stromal keratitis: in vivo confocal findings [J]. *Cornea*, 2007, 26(7):870-873.

[收稿日期 2018-12-05][本文编辑 余军 吕文娟]