

· 论 著 ·

激光共焦显微镜观察真菌性角膜炎治疗效果的研究

吴 艳, 石 尧, 薛春燕

[摘要] **目的** 研究激光共焦显微镜对观察真菌性角膜炎治疗过程中病情转归的意义。**方法** 对 42 例(42 眼)经门诊诊断为真菌性角膜炎的患眼,临床使用那他霉素眼用混悬液抗真菌治疗,治疗前及治疗后 1 周、1 月分别行患眼的激光共焦显微镜检查,观察真菌菌丝生长情况。并根据临床反应判断治疗结果。**结果** 治疗后病灶处菌丝密度明显减少,甚至消失,周边炎性细胞浸润减少,基质透亮度增加,胶原纤维增生,组织呈瘢痕化增生。治疗前,激光共焦显微镜下 42 例中 37 例见菌丝分布(88.1%),抗真菌治疗 1 周后 42 例菌丝阳性为 26 例(61.9%),1 月后患眼菌丝阳性为 9 例(21.4%),结果差异具有统计学意义($P < 0.05$)。最终治愈 28 例(66.7%),好转 9 例(21.4%),无效 5 例(11.9%)。最终有效率达 88.1%。其中无效 5 例中均为菌丝阳性,好转中菌丝阳性为 4 例,但密度较治疗前明显减少。**结论** 激光共焦显微镜对观察真菌性角膜炎病情的转归具有临床意义。

[关键词] 激光共焦显微镜;真菌性角膜炎;那他霉素眼液;菌丝

[中图分类号] R772.21 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-271X(2012)03-0227-03

The imaging investigation of the treatment of fungal keratitis by laser confocal microscopy

WU Yan, SHI Yao, XUE Chun-yan. Department of Ophthalmology, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing, Jiangsu 210002, China

[Abstract] **Objective** To observe the treatment of the fungal keratitis by laser confocal microscope. **Methods** Forty-two cases (42 eyes) suffered with fungal keratitis were treated with natamycin eyedrop. Laser confocal microscope scanning was given before and after the treatment 1 week and 1 month for observation of the existence of the hypha. **Results** The hypha and the inflammatory cells were decreased, the stroma was lighten, and the corneas became scarring after the treatment. The hypha was found in 37 out of 42 cases before the treatment. There were 26 cases had hypha 1 week after treatment, and 9 cases had hypha 1 month after treatment, which showed the statistical significance ($P < 0.05$). The final effective power rate was 88.1%, which curing 28 cases, improving 9 cases and no-effective 5 cases. The hypha was found in all the no effective cases and 4 of improving cases, but the latter showed a decreasing density. **Conclusion** The laser confocal microscope can be used for observing the treatment of the fungal keratitis in clinic.

[Key words] laser confocal microscopy; fungal keratitis; natamycin eyedrop; hypha

真菌性角膜炎是发展中国家角膜病中致盲性眼病之一,由于缺乏高效、低毒、广谱的抗真菌药物,真菌性角膜炎的致盲率居高不下。本研究利用那他霉素滴眼液治疗真菌性角膜炎,并利用激光共焦显微镜观察组织中菌丝分布情况,取得较好的疗效。

1 对象与方法

1.1 对象 2010 年 1 月至 2011 年 1 月在我院眼科就诊 42 例(42 眼,左眼 26 眼,右眼 16 眼),门诊诊断真菌性角膜炎的患者,性别不限,年龄 28 ~ 67 岁,

并排除其他眼疾。32 例检查前未予抗真菌治疗,10 例在外院已行抗真菌治疗,疗程 1 ~ 3 d。

1.2 数据采集 入选后所有患眼行激光共焦显微镜及角膜真菌培养检查,明确菌丝情况及真菌菌属。记录菌丝阳性患眼数及真菌培养阳性患眼数。所有患眼均采用那他霉素眼用混悬液(那特真,含 5% 那他霉素,美国爱尔康公司生产)滴眼治疗,同时根据激光共焦显微镜观察情况决定加用抗菌治疗,对所有前房反应的患眼均加用阿托品眼凝胶散瞳治疗,分别在 1 周、1 个月后复查激光共焦显微镜,分析角膜组织结构变化情况及菌丝分布状态,判断角膜愈合情况。

1.3 临床观察 所有患眼在治疗前后均接受裂隙灯检查,根据裂隙灯下角膜形态改变完成临床疗效

作者简介:吴 艳(1981-),女,江苏常州人,硕士,医师,从事眼科专业

作者单位:210002 江苏南京,南京军区南京总医院眼科

通讯作者:石 尧, E-mail: shiyao1965@126.com

判定。疗效判定标准为:治愈:角膜炎完全消失,角膜荧光素染色(-),角膜水肿减退、前房反应及积脓消失,角膜遗留不同程度的斑翳,视力完全或部分恢复;好转:角膜炎大部分消失,角膜荧光素染色(+),角膜水肿显著缓解,前房积脓消失,视力升高;无效:溃疡无明显变化,甚至扩大,症状加重,甚至角膜穿孔。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件包进行统计学分析,计数资料行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 激光共焦显微镜检查

2.1.1 组织结构改变 治疗前真菌性角膜炎在激光共焦显微镜下通常表现为溃疡灶内细长、扭曲、无规则走形的菌丝,在深层的基质组织内,菌丝也可表现为短棒状的变化。在菌丝周围存在大量炎症细胞的浸润,溃疡基底部组织透明度明显降低,深层基质及内皮层往往不能窥入,见图 1。治疗后可见,病灶处菌丝密度明显减少,甚至消失,周边炎性细胞浸润减少,基质透亮度增加,胶原纤维增生,组织呈瘢痕化增生,见图 2。

2.1.2 菌丝分布 治疗前,激光共焦显微镜下 42 例中 37 例见菌丝分布(88.1%),使用那他霉素眼液治疗后 1 周、1 月,行激光共焦显微镜检查,结果发现,1 周后 42 例菌丝阳性为 26 例(61.9%),1 月后患眼菌丝阳性为 9 例(21.4%),对结果进行 χ^2 检验,治疗后菌丝阳性率与治疗前相比差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。

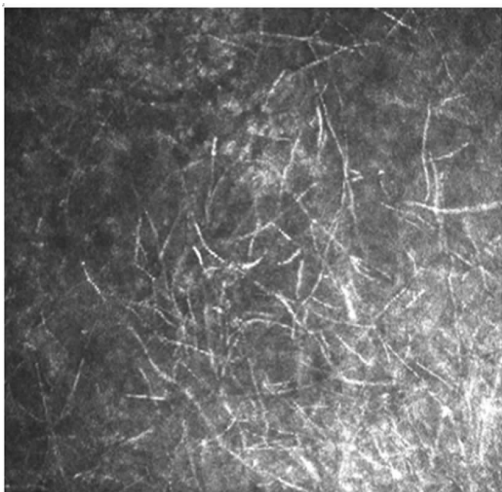


图 1 治疗前共焦显微镜图片:溃疡灶内大量细长、扭曲、无规则走形的菌丝,提示丝状菌感染

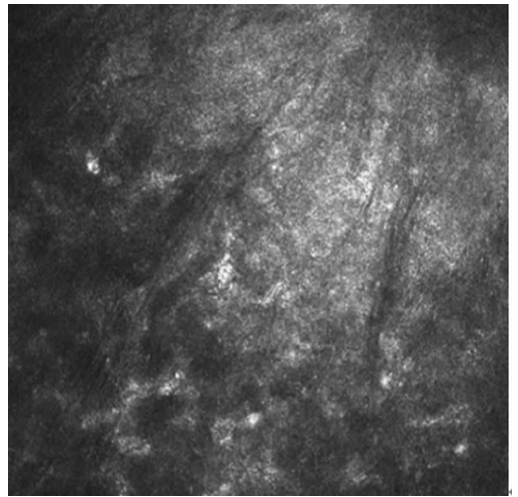


图 2 治疗 1 个月后共焦显微镜图片:溃疡灶消失,病灶局部胶原纤维增生,呈瘢痕化改变,其间可见基质出现皱褶样暗纹

2.2 临床疗效 1 周后,患眼治愈 0 例,好转 22 例,无效 20 例。有效率 52.4%,其中无效 20 例中,菌丝阳性为 17 例,好转 22 例中,菌丝阳性为 9 例。1 月后,患眼治愈 28 例(66.7%),好转 9 例(21.4%),无效 5 例(11.9%)。有效率(含治愈和好转)达 88.1%。无效 5 例中均为菌丝阳性(100%),好转中菌丝阳性为 4 例(44.4%),但密度较治疗前明显减少。

3 讨论

3.1 真菌性角膜炎的治疗现状 真菌性角膜炎多与植物外伤有关,在发达国家发生率较低,而在我国有较高的发病率,在某些乡村地区甚至占据感染性角膜疾病的首位^[1]。该病具有发病慢、病程长、易反复、误诊率高及治疗困难的特征,对视力危害较大。随着社会进入老龄化,临床免疫制剂、糖皮质激素使用增加,特别是广谱抗生素滥用,真菌感染的发病率逐年提高^[2]。

临床将真菌性角膜炎分为丝状菌核酵母菌型角膜炎,发展中国家主要以丝状菌感染为主^[3-4]。目前的研究^[5]认为,镰刀菌和曲霉菌是我国真菌性角膜炎的主要感染菌属,目前抗真菌药物主要有:多烯类、唑类、嘧啶类及烯丙胺类等,其中那他霉素被作为治疗丝状真菌导致的真菌性角膜炎的一线药物^[6]。本研究使用的 5% 那他霉素眼用混悬液,是一种从 NATALENSIS 链霉菌中提取的四烯类抗生素。其作用机制是通过药物分子与真菌细胞膜的麦角固醇部分结合,形成多烯固醇复合物,改变细胞膜的渗透性,使真菌细胞内的基本细胞成分流出,而致

细菌死亡^[7]。这种抗真菌药物几乎对所有的霉菌和酵母菌具有抗菌活性,但对细菌和病毒无效。王志昕等^[8]观察了眼部真菌感染病原菌体外药敏实验的结果,表明 93.40% 的镰刀菌和 72.41% 的曲霉菌对那他霉素敏感。Lalitha 等^[9]测定了抗真菌药物对真菌性角膜炎患者眼部镰刀菌、曲霉菌等病原菌的抗菌活性,结果显示虽然那他霉素的最小抑菌浓度(MICs)比两性霉素 B 明显偏高,但使用处方剂量时,效果明显好于两性霉素 B。Ledbetter 等^[10]观察了从马真菌性角膜炎眼中分离的 74 种病原菌的药物敏感性,结果显示,那他霉素对曲霉菌、念珠菌和镰刀菌均敏感,对镰刀菌的敏感率为 100%,总敏感率为 87.5%。Garcia-de-Lomas 等^[11]对兔实验性烟曲霉菌性角膜炎的研究表明,那他霉素 50 mg/ml 局部点眼有效,结膜下注射与局部点眼效果相同。目前,在发达国家,5% 那他霉素滴眼液作为治疗真菌性角膜炎的一线药物。

3.2 激光共焦显微镜检查 以往对真菌性角膜炎的诊断依赖于角膜刮片及真菌培养,具有滞后和阳性率低下缺陷,激光共焦显微镜的使用大大提高了真菌的检出率。在前期实验中,我们发现,真菌性角膜炎的菌丝表现为较暗背景下折光高反光的丝状物或短棒状物,而孢子的检出率极低^[2]。因其特征性的组织结构改变,真菌性角膜炎的确诊率得到大幅度提高。但是,从临床上,我们发现,即使得到正确的诊断和及时对症的治疗,患者的复发率仍占相当高的比例。那么,是否能利用激光共焦显微镜的实时、重复、无创的特点,对角膜的真菌情况进行动态观察,并指导临床用药,是本研究所要解决的问题。从结果上,我们发现,抗真菌治疗后,菌丝的密度及检出率大大降低,与临床症状的改善相符合。在临床表现为好转的患者中,仍有部分可检出菌丝,提示这部分患眼持续抗真菌治疗的必要性。而对最终无效的 5 例,患眼均检出菌丝,提示有抗菌谱的偏

移或耐药可能。所有结果提示,激光共焦显微镜在显示抗真菌治疗效果及指导用药方面,有确切的、积极的临床意义。当然,我们必须认识到,真菌性角膜炎菌丝的检出率跟操作者的经验与熟练程度有很大关系,同时由于不同的菌属在激光共焦显微镜下常表现出不同的形态特征,往往造成临床判断的偏差。因此,增进操作者的临床经验至关重要。

【参考文献】

- [1] 单秀水,肖凤枝,吴永刚,等. 真菌性角膜炎病原学诊断[J]. 中国实用眼科杂志,2006,24(8):828-829.
- [2] 洪原城,黄鑫成,黄种杰,等. 老年肺真菌感染患者检测葡聚糖的临床意义[J]. 东南国防医药,2011,13(1):28-30.
- [3] Srinivasan M. Fungal keratitis[J]. Curr Opin Ophthalmol,2004,15(4):321-327.
- [4] 何彦,潘志强. 真菌性角膜炎诊治进展[J]. 中华眼科杂志,2009,45(9):860-864.
- [5] 石尧,吴艳,薛春燕,等. 激光角膜共焦显微镜观察真菌性角膜炎的研究[J]. 医学研究生学报,2009,22(4):380-382.
- [6] Sonogo-Krone S, Sanchez-Di D, Martino D, et al. Clinical results of topical fluconazole for the treatment of filamentous fungal keratitis[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol,2006,244(7):782-787.
- [7] 袁东兵,袁士超,于明玉,等. 那他霉素滴眼液治疗真菌性角膜炎[J]. 海南医学院学报,2009,15(9):1128-1132.
- [8] 王志昕,王智群,罗时运,等. 眼部真菌感染的病原学及体外药物敏感性分析[J]. 眼科研究,2007,25(2):145-148.
- [9] Lalitha P, Shapiro BL, Srinivasan M, et al. Antimicrobial susceptibility of fusarium, aspergillus, and other filamentous fungi isolated from keratitis[J]. Arch Ophthalmol,2007,125(6):789-793.
- [10] Ledbetter EC, Patten VH, Scarlett JM, et al. In vitro susceptibility patterns of fungi associated with keratomycosis in horses of the northeastern United States:68 cases(1987-2006)[J]. J Am Vet Med Assoc,2007,231(7):1086-1091.
- [11] Garcia-de-Lomas J, Fons MA, Nogueira JM, et al. Chemotherapy of aspergillus fumigatus keratitis: an experimental study[J]. Mycopathologia,1985,89(3):135-138.

(收稿日期:2011-11-29;修回日期:2011-12-29)

(本文编辑:黄攸生; 英文编辑:王建东)