论著

文章编号:1000-5404(2013)02-0132-06

经皮导管引流对重症急性胰腺炎大鼠胰腺损伤的影响

陈光宇[1,2],戴睿武[2],闫洪涛[2],陈 涛[2],黎冬暄[2],郑晓博[2],汤礼军[2] (400038 重庆,第三军医大学研究生管理大队[1];610083 成都,成都军区总医院全军普通外科中心[2])

[摘要] **目的** 探讨经皮导管引流(percutaneous catheter drainage, PCD)对大鼠重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis,SAP)胰腺损伤的影响及意义。**方法** 60只Wistar大鼠按随机数字表法分为假手术组(仅行开腹手术)、SAP组(逆行胰胆管注射牛磺胆酸钠诱导SAP大鼠模型)和PCD治疗组(在SAP组基础上行PCD治疗),每组20只,每组分6、24 h 2个时相点,每时相点10只。分别于术后6、24 h取血清及腹水测定TNF-α、IL-1β及淀粉酶、蛋白酶水平,留取胰腺组织制作石蜡切片行光镜下病理检查、免疫组化检测Bcl-2、Bax在胰腺组织的表达以及采用TUNEL染色观察胰腺组织细胞的凋亡指数。**结果** 注射牛磺胆酸钠后大鼠血清淀粉酶、TNF-α、IL-1β在造模后有显著升高($P<0.05$),相同时相点的大鼠经PCD治疗后血清及腹水中炎症因子及腹水中蛋白酶含量即有明显下降($P<0.05$),光镜病理检查提示PCD治疗组大鼠胰腺病理损伤较未治疗的SAP大鼠明显改善,TUNEL染色可见术后24 h PCD治疗组大鼠胰腺组织细胞凋亡指数较未治疗的SAP组高[(14.6±2.1) *vs* (2.7±1.5),$P<0.05$],免疫组化结果提示PCD治疗后Bcl-2表达下调[术后24 h:(10.81±2.16) *vs* (28.45±5.41),$P<0.05$]、Bax表达上调[术后24 h:(23.17±4.39) *vs* (9.64±1.85),$P<0.05$]。**结论** PCD可减轻SAP大鼠胰腺损伤并缓解其病情,其可能机制与引流出富含炎症细胞因子及胰酶等有害物质的腹水从而抑制机体炎症反应促进胰腺组织细胞凋亡有关。

[关键词] 胰腺炎,急性坏死性;经皮导管引流;胰腺损伤;凋亡;大鼠
[中图法分类号] R322.491;R576.05;R657.5 [文献标志码] A

Effect of percutaneous catheter drainage on pancreatic injury in rats with severe acute pancreatitis

Chen Guangyu[1,2], Dai Ruiwu[2], Yan Hongtao[2], Chen Tao[2], Li Dongxuan[2], Zheng Xiaobo[2], Tang Lijun[2] ([1]Administration Office of Graduate Students, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [2]Center of General Surgery, General Hospital of Chengdu Military Command, Chengdu, Sichuan Province, 610083, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of percutaneous catheter drainage (PCD) on pancreatic injury of severe acute pancreatitis (SAP) rats and its significance. **Methods** Sixty Wistar rats were equally randomized into 3 groups, sham-operation group, SAP model group and PCD group. Acute hemorrhagic pancreatitis was induced in rats by injecting 5% sodium taurocholate (2 mL/h, 0.1 mL/100 g) into the common biliopancreatic duct. Rats in each group were then divided into 2 subgroups, which were killed in 6 and 24 h after operation ($n=10$). The levels of TNF-α, IL-1β, amylase, tryptase in the serum samples and ascites were measured in the 6th and 24th hour postoperatively. Apoptosis of the pancreatic cells were examined by TUNEL assay. The expression of Bcl-2 and Bax in the pancreatic tissue was detected by immunohistochemistry, and pancreatic pathological changes were also observed. **Results** The serum levels of TNF-α, IL-1β and amylase were significantly higher in SAP group than sham-operation group ($P<0.05$). PCD treatment resulted in significant decreases in the serum and ascitic levels of inflammatory cytokines and amylase ($P<0.05$). Histopathological results revealed that PCD treatment alleviated the pancreatic injury in the SAP rats. TUNEL staining indicated that the apoptosis index of pancreatic cells in the PCD rats were higher than that in the SAP model rats(24 h after operation:14.6±2.1 *vs* 2.7±1.5,$P<0.05$). Immunohistochemistry showed that the expression of Bcl-2 was decreased (24 h after operation:10.81±2.16 *vs* 28.45±5.41,$P<0.05$) and that of

[基金项目] 四川省青年科技创新团队基金(2011JTD0010)
[通信作者] 汤礼军,E-mail: whjtlj@yahoo.com.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20121106.1905.017.html(2012-11-06)

Bax was increased(24 h after operation:23.17 ± 4.39 *vs* 9.64 ± 1.85, $P < 0.05$) in the PCD rats compared with the SAP model rats. **Conclusion** PCD relieves SAP-induced pancreatic and systemic injury, probably by draining harmful ascites which contains inflammatory cytokine and trypsin, inhibiting inflammatory reaction and promoting apoptosis of the pancreatic cells.

[**Key words**] pancreatitis, acute necrotizing; percutaneous catheter drainage; pancreatic injury; apoptosis; rats

Supported by the Foundation of Youth Sci & Tech Innovation Team of Sichuan Province(2011JTD0010). Corresponding author: Tang Lijun, E-mail: whjtlj@yahoo.com.cn

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)以胰腺坏死性病变、胰周积液合并伴发多器官功能障碍为特点,临床治疗极为困难。目前针对SAP首选治疗手段为开腹坏死组织清除术以除去感染的坏死组织[1],但是外科手术干预对SAP患者创伤大,且麻醉意外及感染等并发症发生率高[2]。经皮导管引流(percutaneous catheter drainage, PCD)是一种微创干预措施,现已成为新的治疗SAP的方法而在临床迅速推广,其临床治疗有效性已被广泛认可[3]。目前PCD的临床研究很多,但其具体机制尚不完全清楚。本研究通过对诱导SAP后的大鼠行PCD,观察该治疗对SAP大鼠胰腺损伤的影响及意义。

1 材料与方法

1.1 实验动物与试剂

健康雄性SPF级Wistar大鼠60只,体质量200~220(211.3±5.9) g,由四川大学华西医学中心实验动物研究所提供。戊巴比妥钠及牛磺胆酸钠购于美国Sigma公司,TNF-α、IL-1β ELISA试剂盒购于美国RB公司,淀粉酶、蛋白酶测定试剂盒购于南京建成公司,Bcl-2、Bax免疫组化试剂盒购于武汉博士德公司,TUNEL试剂盒购于美国Roche公司。

1.2 动物分组及模型制备

大鼠按随机数字表法分为A组(假手术组)、B组(SAP组)和C组(PCD治疗组),每组20只。所有大鼠实验前禁食12 h,术后任意进食、水。①A组:仅行开腹手术,翻动胰腺数次后关腹。②B组:参照Aho等[4]的经典方法,先予3%戊巴比妥钠(0.1 mL/100 g)麻醉大鼠,上腹部剃毛常规消毒,铺无菌单,取正中切口,微创血管夹暂时阻断肝门部胆管,5号输液针经十二指肠壁无血管区穿刺进入胆胰管约0.7 cm,同时用血管夹在穿刺部胆管夹住输液针以防注射液体外溢,输液泵以2 mL/h匀速注入5%牛磺胆酸钠(0.1 mL/100 g),注射完毕用创面胶封闭穿刺孔,继续夹闭两端胆管10 min后取血管夹,并用无菌棉签小心蘸除大鼠腹腔内的渗出液及麻醉药物,逐层关腹。③C组:先按上述方法构建SAP大鼠模型,关腹前将剪有侧孔、外套套管的塑料导管经腹正中切口右侧皮肤戳孔置入胰腺下方,缝线缝合导管孔并将导管固定于皮下,把内径约0.4 cm的弹簧套在导管外以避免大鼠咬破导管,弹簧近大鼠皮肤端穿过一2 cm×2 cm的塑料片,最后用缝线把塑料片四角与大鼠皮肤缝合固定,导管外接50 mL输血袋引流腹水;大鼠在关腹后均皮下注射37 ℃的生理盐水(4 mL/100 g)以补液。

1.3 检测指标及方法

每组大鼠分别于术后6、24 h腹腔静脉采血处死,各时相点10只,留取血清、腹水待测,取胰腺组织置于10%多聚甲醛缓冲液中固定,石蜡包埋,4 μm切片。

1.3.1 HE染色与镜下病理评分 胰腺组织切片行HE染色,由同一病理医师在不知实验分组的情况下观察切片并依据Schmidt等[5]报道标准按空泡形成、感染、水肿、坏死、出血进行评分,10个视野的平均分数为每张切片的最后评分。

1.3.2 血清及腹水常规指标检测 血清及腹水TNF-α、IL-1β:ELISA法按试剂盒说明书步骤操作,全自动酶标仪(美国Thermo公司)检测;血清淀粉酶、腹水蛋白酶活性按试剂盒说明采用分光光度法检测。

1.3.3 DNA原位末端标记法(TUNEL法)检测胰腺组织细胞凋亡 按试剂盒说明书操作,腺泡细胞核中有棕黄色颗粒者为凋亡细胞,每张切片在400倍镜下随机选取5个视野,计算凋亡细胞数和总细胞数,凋亡指数(AI)=凋亡细胞数/总细胞数×100%。

1.3.4 免疫组化检测Bcl-2、Bax在胰腺组织中的表达 采用SABC免疫组化染色法检测。Bcl-2、Bax的阳性反应为腺泡细胞的细胞膜、细胞质中出现棕黄色颗粒。每张切片在光学显微镜下以相同倍数(×400)于胰腺组织内随机计数5个高倍视野,应用Image Pro Plus 6.0专业图像分析软件分析阳性面积和阳性区域平均灰度值,参考文献[6]的方法将阳性面积和平均灰度值换算成阳性单位(positive unit, PU),用PU值大小代表阳性产物表达的多少。

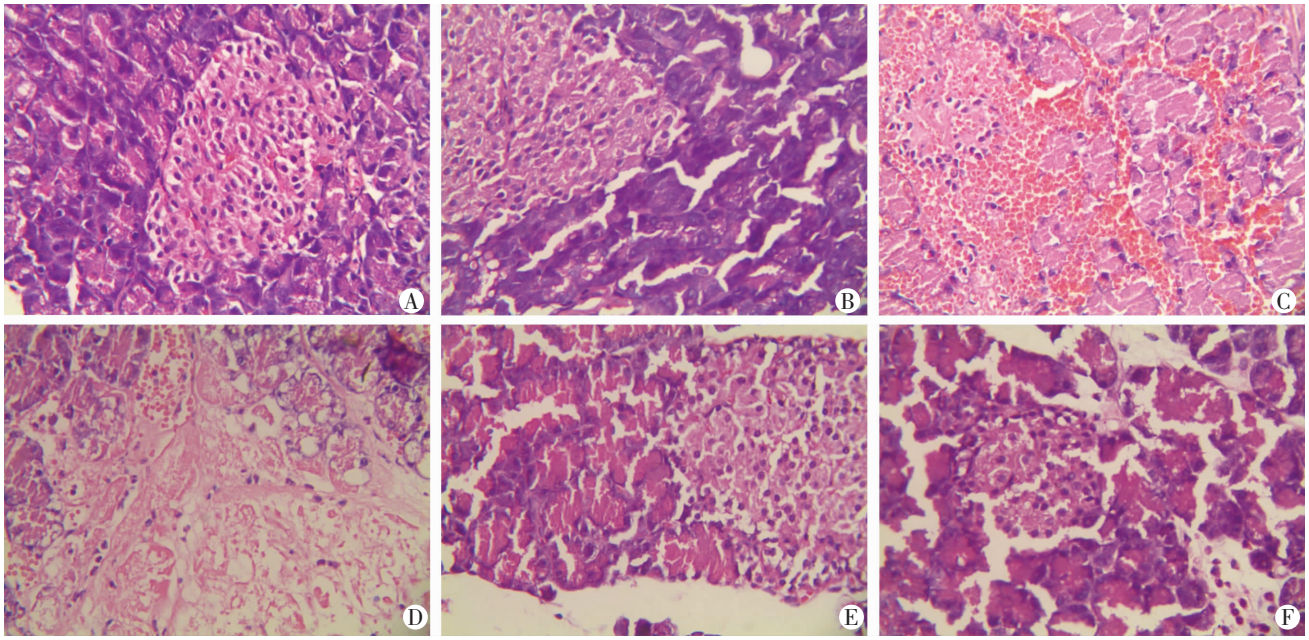
1.4 统计学分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 13.0统计软件,两组间均数比较行单因素方差分析。

2 结果

2.1 光镜下观察3组大鼠胰腺组织病理改变及其评分

光镜下各组大鼠胰腺病变特点见图1。假手术组大鼠病变无明显变化。SAP组术后6 h可见胰腺腺泡细胞、胰岛细胞和间质有不同程度充血水肿,伴大量炎症细胞浸润;术后24 h见腺体大小不一失去正常形态,部分扩张呈空泡状,凝固性坏死、核碎裂、核溶解等。PCD治疗组镜下病理改变较SAP组显著改善。3组术后6、24 h病理评分见表1。



A、B：假手术组术后6、24 h　极少量腺泡细胞水肿；C、D：SAP组术后6、24 h　腺泡细胞肿胀明显，呈片状坏死，伴有炎性细胞浸润，局部血管壁坏死、破溃，大量红细胞渗出，腺体部分扩张呈空泡状，24 h病理改变较6 h病变加重明显；E、F：PCD治疗组术后6、24 h　病变较SAP组明显好转，局部有少许坏死灶

图1　3组大鼠术后6、24 h胰腺组织光镜下病理改变　（HE　×400）

表1　3组大鼠术后6、24 h光镜下胰腺组织病损程度评分（$n=10, \bar{x}\pm s$）

组别	空泡形成	感染	水肿	坏死	出血
术后6 h					
假手术组	0	0.15±0.19	0.23±0.12	0	0
SAP组	2.02±0.18	1.51±0.27	2.57±0.24	1.76±0.19	1.62±0.15
PCD治疗组	0.55±0.17[a]	0.83±0.23[a]	1.13±0.21[a]	0.36±0.14[a]	0.23±0.10[a]
术后24 h					
假手术组	0	0.29±0.11	0.41±0.17	0	0
SAP组	2.85±0.21[b]	1.97±0.17[b]	3.29±0.24[b]	2.20±0.21[b]	2.11±0.16[b]
PCD治疗组	0.97±0.26[a]	1.13±0.16[a]	1.54±0.15[a]	0.56±0.14[a]	0.38±0.13[a]

a：$P<0.05$，与SAP组同时相点比较；b：$P<0.05$，与术后6 h SAP组比较

表2　3组大鼠术后6、24 h血清中TNF-α、IL-1β含量及淀粉酶活性（$n=10, \bar{x}\pm s$）

组别	TNF-α（pg/mL）	IL-1β（pg/mL）	淀粉酶（U/L）
术后6 h			
假手术组	41.3±5.6	52.4±11.2	1 530±116
SAP组	319.2±42.8[a]	223.7±31.5[a]	6 261±262[a]
PCD治疗组	87.7±25.4b[a]	83.6±17.1[ab]	2 137±128[ab]
术后24 h			
假手术组	49.1±6.2	59.3±12.5	1 650±121
SAP组	396.4±43.5[a]	307.8±33.9[a]	8 139±325[a]
PCD治疗组	95.2±28.6[ab]	98.5±19.4[ab]	2 403±166[ab]

a：$P<0.05$，与假手术组同时相点比较；b：$P<0.05$，与SAP组同时相点比较

2.2　3组大鼠血清中TNF-α、IL-1β含量及淀粉酶活性检测

SAP组、PCD治疗组2个时相点TNF-α、IL-1β含量及淀粉酶活性与假手术组比较明显升高，差异有统计学意义（$P<0.05$），说明SAP模型建模成功，而PCD治疗组6、24 h各项指标与SAP组相比有显著下降（$P<0.05$），见表2。

2.3　SAP组、PCD治疗组大鼠腹水中TNF-α、IL-1β含量及蛋白酶活性检测

假手术组大鼠无腹水产生，PCD治疗组腹水中TNF-α、IL-1β含量及蛋白酶活性较SAP组明显降低，差异有统计学意义（$P<0.05$，表3）。

表3　SAP组和PCD治疗组大鼠术后6、24 h腹水中TNF-α、IL-1β含量及蛋白酶活性（$n=10, \bar{x}\pm s$）

光镜病理参数	术后6 h			术后24 h		
	TNF-α（pg/mL）	IL-1β（pg/mL）	蛋白酶（U/L）	TNF-α（pg/mL）	IL-1β（pg/mL）	蛋白酶（U/L）
SAP大鼠组	372.8±44.7	298.2±34.2	365.9±17.4	426.6±46.2	354.6±36.2	731.4±21.6
PCD治疗组	97.1±27.8[a]	93.2±17.6[a]	182.7±11.3[a]	115.2±28.4[a]	113.4±18.7[a]	357.0±18.5[a]

a：$P<0.05$，与SAP组同时相点比较

2.4　3组大鼠胰腺腺泡细胞凋亡情况

TUNEL染色结果显示假手术组见极少量凋亡细胞，PCD治疗组较SAP组各时相点凋亡细胞明显增多（$P<0.05$，图2、表4）。

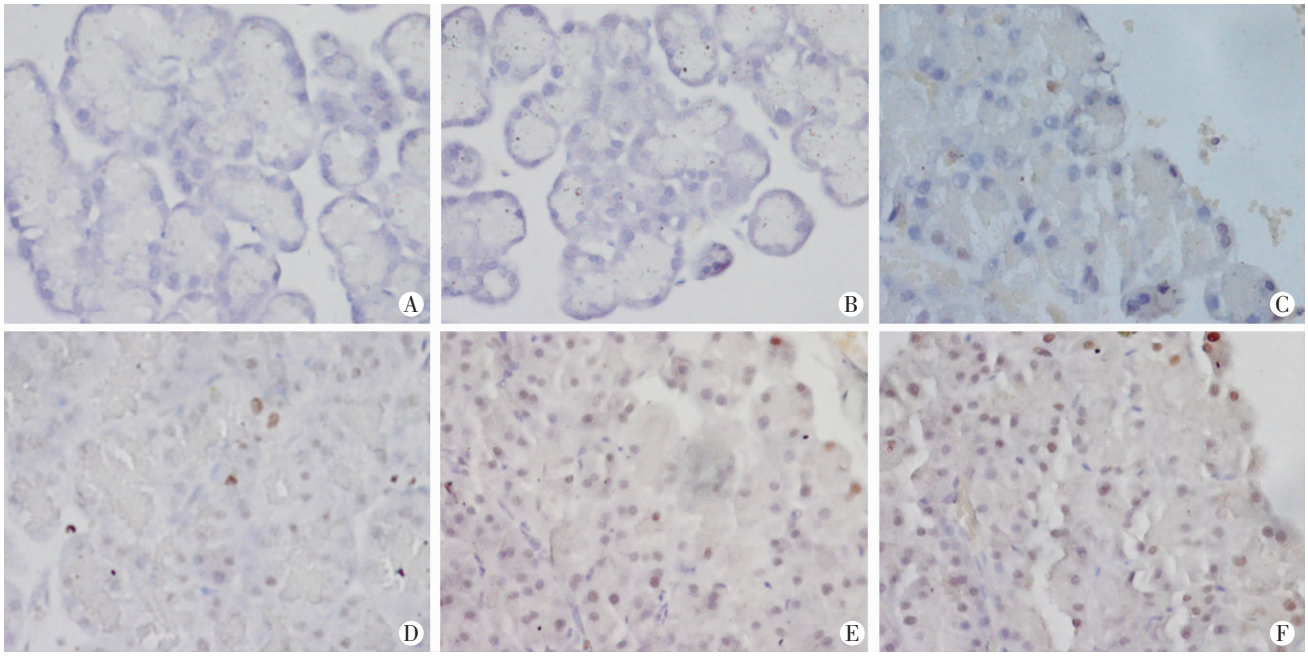
表 4　3 组大鼠术后 6、24 h 胰腺组织细胞凋亡指数　（%，$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

组别	术后 6 h	术后 24 h
假手术组	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2
SAP 组	5.4 ± 1.8[a]	2.7 ± 1.5[a]
PCD 治疗组	18.3 ± 2.4[ab]	14.6 ± 2.1[ab]

a：$P<0.05$，与假手术组同时相点比较；b：$P<0.05$，与 SAP 组同时相点比较

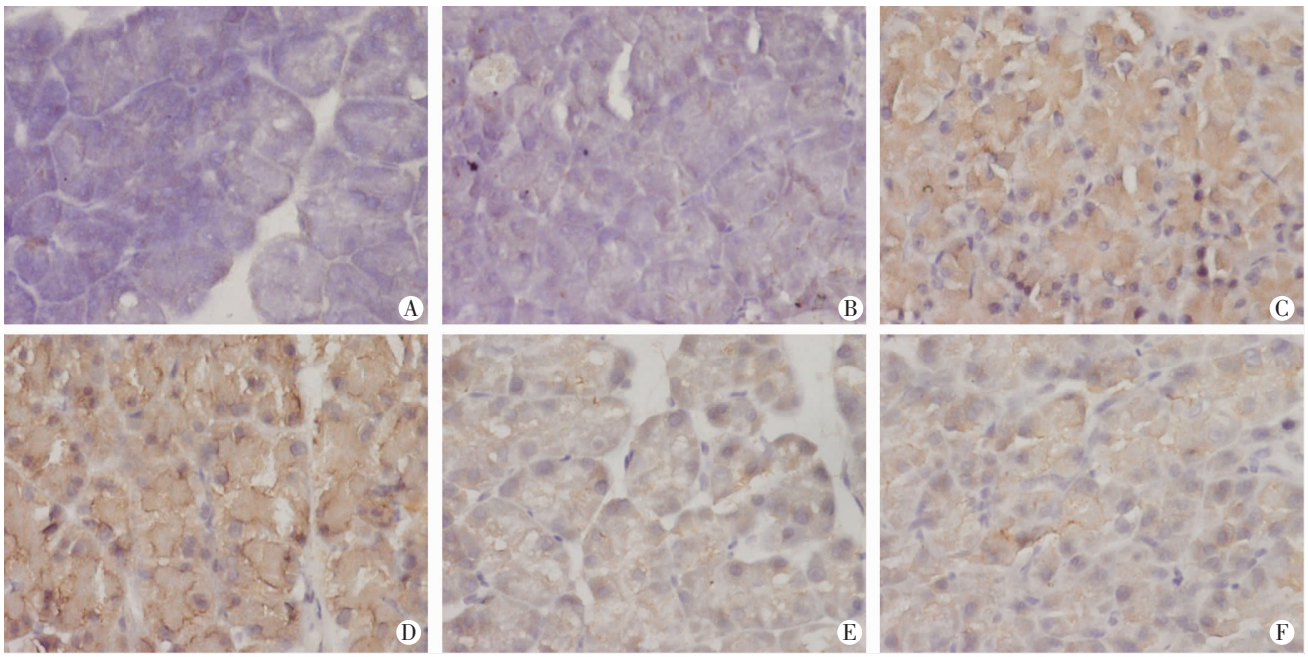
2.5　胰腺腺泡细胞 Bcl-2、Bax 表达

免疫组化结果显示假手术组大鼠 Bcl-2、Bax 表达极弱，SAP 组大鼠二者表达在 6、24 h 较假手术组均有所增强（$P<0.05$），而 PCD 治疗组 2 个时相点 Bcl-2 表达弱于 SAP 组（$P<0.05$）、Bax 表达均强于 SAP 组（$P<0.05$），见图 3、4，表 5。



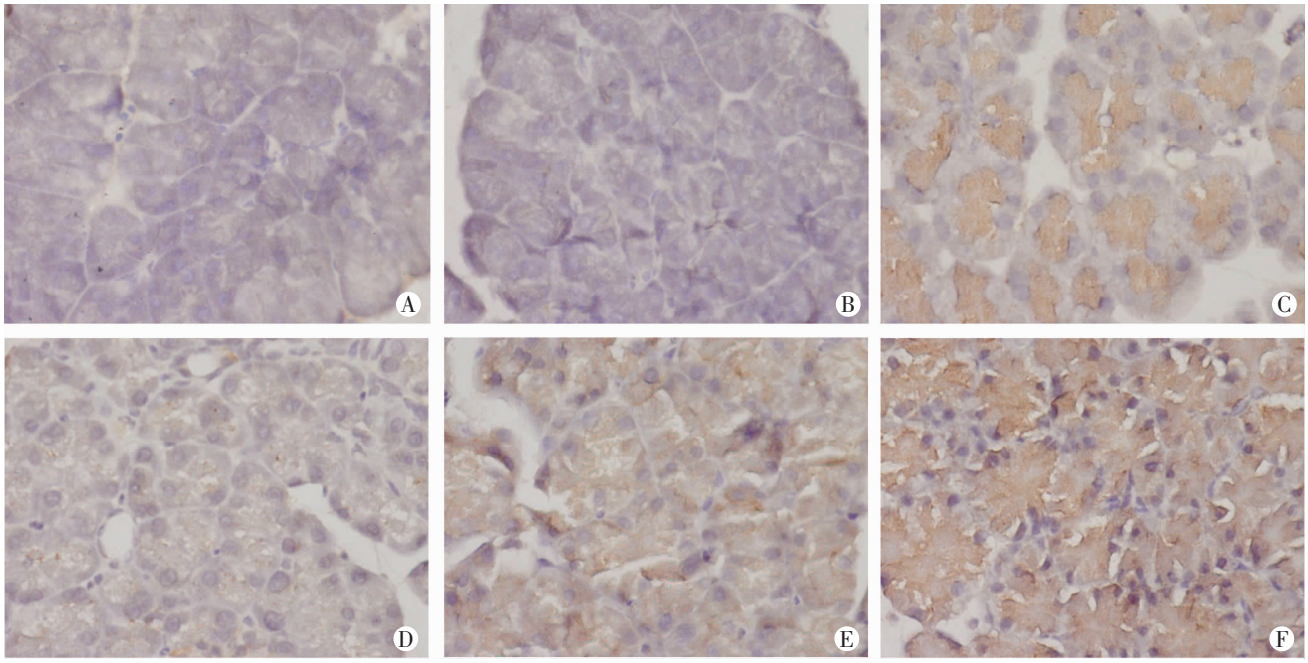
A、B：假手术组术后 6、24 h；C、D：SAP 组术后 6、24 h；E、F：PCD 治疗组术后 6、24 h

图 2　3 组大鼠术后 6、24 h 胰腺组织切片 TUNEL 染色观察　（×400）



A、B：假手术组术后 6、24 h；C、D：SAP 组术后 6、24 h；E、F：PCD 治疗组术后 6、24 h

图 3　3 组大鼠术后 6、24 h 胰腺腺泡细胞 Bcl-2 表达　（SABC ×400）



A、B:假手术组术后6、24 h;C、D:SAP组术后6、24 h;E、F:PCD治疗组术后6、24 h

图4 3组大鼠术后6、24 h胰腺腺泡细胞Bax的表达 (SABC ×400)

表5 各组大鼠术后6、24 h胰腺腺泡细胞Bcl-2、Bax的表达

(PU, $n=10, \bar{x}\pm s$)

组别	术后6 h		术后24 h	
	Bcl-2	Bax	Bcl-2	Bax
假手术组	2.55±1.32	2.63±1.46	2.75±1.51	2.84±1.57
SAP组	20.73±4.16[a]	12.82±3.59[a]	28.45±5.41[a]	9.64±1.85[a]
PCD治疗组	11.34±2.31[ab]	18.68±4.02[ab]	10.81±2.16[ab]	23.17±4.39[ab]

a: $P<0.05$,与假手术组同时相点比较;b: $P<0.05$,与SAP组同时相点比较

3 讨论

胰腺是SAP发病的初始部位,减轻胰腺的损伤对缓解SAP病情发展起着至关重要的作用。胰腺损伤的严重性很大程度上取决于胰酶的激活程度、腺泡细胞死亡的类型(凋亡或者坏死)和由TNF-α、IL-1β等炎症细胞因子介导的系统性炎症反应的发展情况。TNF-α、IL-1β在SAP发病早期即可明显升高[7],体内炎症细胞因子的水平越高SAP患者病情越严重[8],它们与SAP的病程进展密切相关,降低炎症细胞因子的水平或者拮抗其效应可改善SAP患者的病情。炎症细胞因子的产生与胰腺腺泡细胞的损伤也有密切关系,这些细胞因子促成了炎症细胞在胰腺组织甚至全身的迁移并诱导炎症细胞产生更多的促炎细胞因子[9]。同时,剧烈炎症反应也会抑制胰腺组织细胞凋亡加剧细胞坏死的发生[10]。凋亡的腺泡细胞细胞膜完整,故无细胞内容物的释放。而坏死细胞细胞膜破裂,可释放出细胞内的胰酶及溶酶体成分,从而引起周围组织消化及炎症反应,诱导更多细胞坏死,加剧胰腺组织的损伤、加重SAP患者的病情。SAP发病后患者腹腔内可产生大量富含胰酶及炎症细胞因子等有害物质的腹水,腹水中的胰酶可对包括胰腺在内的腹腔内器官产生直接消化作用,胰酶和炎症细胞因子也可经过腹膜吸收或者直接通过受损的微血管进入循环系统对局部和全身系统造成损伤[11-12],有效引流出腹水即可减少这些毒性物质的产生、减轻对胰腺的损伤,本实验研究已证实。

本实验中注射牛磺胆酸钠后大鼠血清淀粉酶水平均较假手术组升高,证明SAP大鼠模型诱导成功;SAP大鼠血清中TNF-α、IL-1β在造模后6 h与假手术组相比有显著升高,24 h仍维持在高水平,相同时相点的大鼠经PCD治疗后血清及腹水中炎症因子及腹水中蛋白酶含量即有明显下降,表明PCD治疗可把腹水中的炎症因子及胰酶成分有效地引流出机体腹腔并降低循环血液中的炎症因子水平,与临床研究[3]报道一致。本实验中光镜下病理检查提示PCD组大鼠胰腺病理损伤较未治疗的SAP大鼠明显减轻,经TUNEL染色可见PCD组大鼠胰腺组织细胞AI较未治疗的SAP大鼠组高,结合炎症因子的相关结果不难发现清除含有胰酶和炎症细胞因子的腹水后,胰腺损伤有了明显改善,胰腺组织凋亡细胞的增多也提示引流出腹

水减轻炎症反应,促进了对机体有利的细胞凋亡的发生,减少了对机体不利的细胞坏死的发生。本研究免疫组化结果也揭示炎症的减轻下调了抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达、上调了促凋亡蛋白 Bax 表达,从侧面印证 PCD 治疗对 SAP 大鼠胰腺自我修复机制产生了有利影响。

目前 PCD 作为一种新颖的微创治疗 SAP 的方法在临床上已得到广泛的应用,但是已有的临床研究尚未展示出 PCD 治疗的有效性。本实验结果表明,PCD 治疗可降低 SAP 大鼠的炎症反应并通过促进胰腺组织细胞凋亡减轻胰腺组织的损伤,但是其具体机制尚待进一步研究。

参考文献:

[1] Werner J, Feuerbach S, Uhl W, *et al*. Management of acute pancreatitis: from surgery to interventional intensive care[J]. Gut, 2005, 54(3): 426-436.

[2] Rau B, Bothe A, Beger H G. Surgical treatment of necrotizing pancreatitis by necrosectomy and closed lavage: changing patient characteristics and outcome in a 19-year, single-center series[J]. Surgery, 2005, 138(1): 28-39.

[3] Mortele K J, Girshman J, Szejnfeld D, *et al*. CT-guided percutaneous catheter drainage of acute necrotizing pancreatitis: clinical experience and observations in patients with sterile and infected necrosis[J]. AJR Am J Roentgenol, 2009, 192(1): 110-116.

[4] Aho H J, Nevalainen T J, Aho A J. Experimental pancreatitis in the rat. Development of pancreatic necrosis, ischemia and edema after intraductal sodium taurocholate injection[J]. Eur Surg Res, 1983, 15(1): 28-36.

[5] Schmidt J, Rattner D W, Lewandrowski K, *et al*. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy[J]. Ann Surg, 1992, 215(1): 44-56.

[6] Ferrandina G, Martinelli E, Petrillo M, *et al*. CD133 antigen expression in ovarian cancer[J]. BMC Cancer, 2009(9): 221.

[7] Ho Y P, Chiu C T, Sheen I S, *et al*. Tumor necrosis factor-α and interleukin-10 contribute to immunoparalysis in patients with acute pancreatitis[J]. Hum Immunol, 2011, 72(1): 18-23.

[8] Malmstrom M L, Hansen M B, Andersen A M, *et al*. Cytokines and organ failure in acute pancreatitis: inflammatory response in acute pancreatitis[J]. Pancreas, 2012, 41(2): 271-277.

[9] Machado M C, Coelho A M, Pontieri V, *et al*. Local and systemic effects of hypertonic solution (NaCl 7.5%) in experimental acute pancreatitis[J]. Pancreas, 2006, 32(1): 80-86.

[10] Mahajan U M, Gupta C, Wagh P R, *et al*. Alteration in inflammatory/apoptotic pathway and histone modifications by nordihydroguaiaretic acid prevents acute pancreatitis in swiss albino mice[J]. Apoptosis, 2011, 16(11): 1138-1149.

[11] Sah R P, Garg P, Saluja A K. Pathogenic mechanisms of acute pancreatitis[J]. Curr Opin Gastroenterol, 2012, 28(5): 507-515.

[12] Li Y Y, Li X J, Lv S, *et al*. Ascitic fluid and serum from rats with acute pancreatitis injure rat pancreatic tissues and alter the expression of heat shock protein 60[J]. Cell Stress Chaperones, 2010, 15(5): 583-591.

(收稿:2012-09-10;修回:2012-10-30)

(编辑 龙 亮)

(上接131页)

致病真菌为黑曲霉菌[2]。其临床特点为肉眼下即可见角膜病灶呈棕褐色,裂隙灯显微镜下检查,角膜病灶表面为均匀的棕色或黑色,角膜基质中也有棕或和黑色的色素沉着。同时,着色真菌性角膜炎具有真菌性角膜炎的其他特征,包括菌丝苔背、表面干燥、卫星灶、伪足、内皮斑、黏稠的前房积脓等。着色真菌性角膜炎的色素是在着色真菌的孢子形成时产生的[2],真菌性角膜炎患者中,真菌培养的阳性率仅为27.3%~34.5%[4]。真菌性角膜炎诊断标准包括:①植物外伤病史;②病程进展缓慢;③眼部刺激症状与体征不符;④角膜溃疡边缘不规则或呈羽毛状、表面高起、外观粗糙,呈"舌苔或牙膏"样;⑤伴有伪足、卫星灶、免疫环、内皮斑、前房积脓;⑥实验室检查涂片或培养真菌为阳性。由于真菌的实验室检出率较低,故临床上满足①~⑤中4点,可诊断为真菌性角膜炎[5]。本例患者除了角膜病灶呈典型的棕褐色以外,有植物外伤史,起病较缓慢,角膜病灶的表面稍隆起、干燥,浸润灶上方的边缘可见伪足,前房有积脓等,角膜共聚焦显微镜检查在角膜基质层有大量真菌菌丝。共聚焦显微镜为真菌性角膜炎的诊断提供了一种简便、快捷、有效、无创的活体检查手段,其敏感性高,诊断阳性率达到90%~95%[6]。一般来说,共聚焦显微镜检出真菌菌丝和(或)孢子均可确诊为真菌性角膜炎[6]。结合病史、起病、眼部体征和角膜共聚焦显微镜检查结果,本例患者符合着色真菌性角膜炎的诊断。本例诊断结果提示在临床上,结合患者的病史、症状和体征,角膜浸润灶的棕色或黑色可作为着色真菌性角膜炎的一个特征,为临床诊断提供帮助。

参考文献:

[1] 李明远. 主要的病原性真菌//贾文祥. 医学微生物学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 461.

[2] Kumar M, Arora R, Sanga L, *et al*. Black corneal ulcer[J]. Cornea, 1997, 16(5): 590-591.

[3] Sengupta S, Rajan S, Reddy P R, *et al*. Comparative study on the incidence and outcomes of pigmented versus non pigmented keratomycosis[J]. Indian J Ophthalmol, 2011, 59(4): 291-296.

[4] 谢立信, 史伟云. 角膜病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 272.

[5] 施殿雄. 实用眼科诊断[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005: 318-319.

[6] 徐建江, 乐琦骅. 眼表活体共聚焦显微镜[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2009: 62-63.

(收稿:2012-12-04;修回:2012-12-12)

(编辑 王 红)