

• 论 著 •

真菌性角膜炎病原菌的分布及耐药性分析*

程 娟¹, 刘 骁^{2△}

(1. 武汉市爱尔眼科医院汉口医院眼科, 湖北武汉 430024; 2. 武汉市武昌医院内科, 湖北武汉 430063)

摘 要:目的 分析真菌性角膜炎病原菌的构成情况及耐药性变迁, 为临床治疗提供依据。方法 选取 2013 年 2 月至 2015 年 1 月真菌性角膜炎患者 138 例, 进行病原菌检测和药敏分析。按年统计真菌性角膜炎病原菌构成谱的变化, 分析真菌性角膜炎病原菌构成及耐药性发展趋势。结果 138 例真菌性角膜炎患者共培养分离出 168 株真菌, 其中 2013 年 49 株, 2014 年 51 株, 2015 年 64 株。3 年病原菌构成差异无统计学意义($P>0.05$)。真菌性角膜炎主要病原菌对常见抗菌药物的耐药率均呈上升趋势, 不同年份的耐药率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 真菌性角膜炎病原菌谱基本稳定, 但耐药性呈上升趋势。

关键词:真菌性角膜炎; 病原菌构成; 耐药性; 趋势

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.21.003

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)21-2950-03

Distribution and drug resistance analysis of pathogens from fungal keratitis*

CHENG Juan¹, LIU Xiao^{2△}

(1. Department of Ophthalmology, Wuhan Municipal Eyre Eye Hospital Hankou Hospital, Wuhan, Hubei 430024, China;

2. Department of Internal Medicine, Wuhan Municipal Wuchang Hospital, Wuhan, Hubei 430063, China)

Abstract: Objective To analyze the composition and drug resistance of pathogens from fungal keratitis, and to provide basis for clinical treatment. Methods From February 2013 to January 2015, 138 cases of fungal keratitis were selected, and the pathogens detection and drug sensitivity analysis were performed. The annual composition spectrum of pathogens from fungal keratitis were counted, and the constitution and the trend of drug resistance of pathogens from fungal keratitis were analyzed. Results 168 fungal isolates were isolated from 138 patients with fungal keratitis in which 49 strains, 51 strains and 64 strains were from 2013, 2014 and 2015. There were no significant differences in the composition of pathogens between 3 years ($P>0.05$). The resistance rates of the main pathogens of fungal keratitis to common antifungal drugs were on the rise, and there were significant differences in drug resistance rates in different years ($P<0.05$). Conclusion The pathogenic spectrum of fungal keratitis is basically stable, but its resistance is on the rise.

Key words: fungal keratitis; pathogens; drug resistance; trend

角膜炎是继白内障之后第二位致盲性眼病, 根据感染的病原菌可分为细菌性角膜炎和真菌性角膜炎。角膜炎主要以细菌感染为主^[1], 但近年来, 真菌性角膜炎的患者不断增加。与细菌性角膜炎比较, 真菌性角膜炎的治疗难度大, 主要原因是: 真菌繁殖能力顽强, 对眼球发生机械性刺激, 同时产生酶和酸的代谢产物, 导致炎性反应和细胞病变^[2]。真菌性角膜炎的致盲率远高于细菌性角膜炎。临床治疗真菌性角膜炎首选方案是抗菌药物, 但是真菌性角膜炎的病原菌培养检出率较低, 临床只有约三分之一的患者可以有明确的病原菌构成情况和药敏资料参照^[3]。因此, 定期发布真菌性角膜炎的病原菌构成及耐药性, 对于指导临床治疗非常重要。本文分析了 128 例真菌性角膜炎患者的病原菌构成情况及耐药性。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 2 月至 2015 年 1 月武汉市爱尔眼科医院汉口医院收治的真菌性角膜炎患者 128 例, 其中男 81 例, 女 47 例, 年龄 4~77 岁, 平均年龄 (47.53±7.52) 岁。纳入标准: 患者具有角膜炎的临床症状, 角膜浸润灶呈白色或灰色、致密, 外观干燥而表面欠光泽、呈牙膏样或苔垢样, 表面

由菌丝和坏死组织形成边界清楚的灰白色隆起病灶, 溃疡周围有胶原溶解形成的浅沟, 前房积脓呈灰白色、黏稠或呈糊状; 真菌培养均为阳性; 临床诊治资料保存完整。排除标准: 不符合上述纳入标准。

1.2 角膜炎真菌培养及药敏试验方法 采用无菌棉签于患者眼部轻拭取样, 无菌蒸馏水荡洗取样棉签, 取荡涤液接种于沙氏培养基上, 于 28℃ 培养箱中培养, 每天观察是否有菌生长, 连续培养 3 周时间; 挑取菌落常规制片后显微镜下观察形态, 判断菌属, 移种于合适的培养基上进行纯培养 (疑为镰刀菌属、交链孢菌属、弯孢菌属、蠕孢菌属和支孢菌属则移种于马铃薯葡萄糖琼脂培养基, 疑为曲霉属和青霉属则移种于察氏培养基); 采用自动微生物鉴定系统 (美国 GEN III OmniLog) 进行真菌鉴定, 并在该系统上进行药敏试验; 参照临床实验室标准化协会推荐的各菌种抗菌药物分组选择 A 类抗菌药进行药敏试验。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行统计学处理, 计数资料以频数或百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

* 基金项目: 湖北省卫生和计划生育委员会科研项目 (WJ2015hb035)。

作者简介: 程娟, 女, 主治医师, 主要从事眼科研究。△ 通信作者, E-mail: liuxiao_0410@sina.com。

2 结 果

2.1 病原菌构成情况 138 例真菌性角膜炎患者共培养分离出 168 株真菌,其中 2013 年 49 株,2014 年 51 株,2015 年 64 株。前后 3 年病原菌构成差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.2 主要真菌对常见抗菌药物的耐药性变迁 2013—2015 年主要病原菌对常见抗菌药物的耐药率均呈上升趋势,主要病原菌不同年份的耐药率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2、3。

表 1 病原菌构成情况[n(%)]

病原菌属	2013 年	2014 年	2015 年
镰刀菌属	12(24.45)	13(25.49)	15(23.44)
支孢菌属	2(4.08)	2(3.92)	3(4.69)
交链孢菌属	10(20.41)	10(19.61)	12(18.75)
弯孢菌属	3(6.12)	3(5.88)	4(6.25)
蠕孢菌属	3(6.12)	4(7.84)	5(7.81)
曲霉菌属	10(20.41)	11(21.57)	14(21.88)
青霉菌	9(18.37)	8(15.69)	11(17.19)

表 2 镰刀菌属对常见抗菌药物的耐药性变迁

抗菌药物	2013 年		2014 年		2015 年		χ^2	P
	耐药株数(n)	耐药率(%)	耐药株数(n)	耐药率(%)	耐药株数(n)	耐药率(%)		
氟康唑	2	16.67	3	23.08	5	33.33	5.603	<0.05
5-氟嘧啶	2	16.67	3	23.08	4	26.67	3.588	<0.05
沃尔康唑	0	0.00	2	15.38	5	33.33	6.492	<0.05
酮康唑	1	8.33	3	23.08	5	33.33	7.502	<0.05
克霉唑	0	0.00	2	15.38	4	26.67	4.395	<0.05
伏立康唑	1	8.33	3	23.08	5	33.33	5.485	<0.05
伊曲康唑	1	8.33	2	15.38	3	20.00	4.302	<0.05
两性霉素 B	0	0.00	3	23.08	4	26.67	3.953	<0.05
制霉菌素	0	0.00	2	15.38	5	33.33	4.392	<0.05

表 3 曲霉菌素对常见抗菌药物的耐药性变迁

抗菌药物	2013 年		2014 年		2015 年		χ^2	P
	耐药株数(n)	耐药率(%)	耐药株数(n)	耐药率(%)	耐药株数(n)	耐药率(%)		
氟康唑	1	10.00	2	18.18	3	21.43	5.492	<0.05
5-氟嘧啶	0	0.00	1	9.09	4	28.57	9.703	<0.05
沃尔康唑	0	0.00	2	18.18	3	21.43	5.421	<0.05
酮康唑	1	10.00	2	18.18	4	28.57	6.457	<0.05
克霉唑	1	10.00	2	18.18	3	21.43	5.402	<0.05
伏立康唑	1	10.00	1	9.09	5	35.71	11.329	<0.05
伊曲康唑	1	10.00	2	18.18	3	21.43	5.404	<0.05
两性霉素 B	0	0.00	2	18.18	3	21.43	6.459	<0.05
制霉菌素	1	10.00	2	18.18	3	21.43	5.422	<0.05

3 讨 论

与细菌性角膜炎相比,真菌性角膜炎在临床症状方面具有一定的差异性,但该差异并不足以作为确诊真菌性角膜炎的特异性指标。目前,真菌性角膜炎并无完美的诊断方法^[4]。有文献对临床较为常见的 3 种真菌性角膜炎诊断方法(角膜刮片法、真菌培养法、共焦显微镜检查法)进行研究,结果显示这些方法的阳性检出率均未超过 85.00%^[5],尤其是真菌培养法阳性率仅为 43.20%。临床大部分真菌性角膜炎病原菌构成情况不明,即使通过角膜刮片法和共焦显微镜法检查能对病原菌进行分型鉴别,也无法对病原菌进行纯培养和耐药性检测,这给临床治疗带来较大的困难^[6-7]。

近年来,随着抗菌药物的滥用和不合理应用,病原菌的耐

药性不断增加。本研究结果显示,2013—2015 年真菌性角膜炎病原菌构成差异无统计学意义($P>0.05$),基本保持了稳定,但每种病原菌对同一种抗菌药物的耐药率却随着时间的推移不断增加。我国抗菌药物临床使用规范要求医院定期发布本院医院感染患者或来院就诊感染患者的病原菌谱,并对每种病原菌的药敏结果进行定期发布,指导临床医师合理选择抗菌药物,避免抗菌药物的滥用和不合理应用^[8]。原则上,耐药率超过 50.00%的抗菌药物应参照药敏试验结果选用,耐药率超过 40.00%的抗菌药物应慎重经验用药,耐药率低于 30.00%的抗菌药物可用于该病原菌的治疗。对于真菌性角膜炎病原菌构成情况不明或者难以获得病原菌进行药敏试验的特殊情况,临床应尽量收集通过真菌培养得到的病(下转第 2954 页)

脑、心/骨骼肌、肠道和肝脏等器官的缺血再灌注损伤^[3,11-13]。为进一步研究此类患者体内血清微量 sCR1 蛋白表达水平,发掘其在疾病诊断、疗效观察和预后判断中的作用,本研究以鼠抗人 CD35 mAb 为包被抗体,以免抗人 sCR1 PcAb 为夹心抗体,以 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 为检测抗体,以纯化后的重组人 sCR1 蛋白为标准品,研制了人血清微量 sCR1 蛋白双抗体夹心 ELISA 试剂盒。

本研究采用不同浓度的标准品评价试剂盒的检测范围,采用批内、批间和日间重复性试验评价试剂盒的重复性和稳定性,其研究结果表明:本试剂盒线性范围广、重复性较高、稳定性较好,能够满足临床和科研检测工作的需要。同时,本研究利用试剂盒检测肝病组和正常对照组血清 sCR1 水平,其中肝病组血清 sCR1 表达水平显著高于正常对照组,这与文献报道情况一致^[14]。本课题组下一步将开展血清 sCR1 表达水平与肝功能受损情况相关性的研究,并在深入探究其中原理的基础上进行重组人 sCR1 蛋白在肝硬化患者治疗中的应用研究。

参考文献

[1] Ducruet AF, Zacharia BE, Hickman ZL, et al. The complement cascade as a therapeutic target in intracerebral hemorrhage[J]. *Exp Neurol*, 2009, 219(2):398-403.

[2] 汪晓艳, 刘高科, 汪正清, 等. 重组人补体受体 1 型 SCR15-18 对肠缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(10):1927-1930.

[3] 李琛琪, 王广兰, 周明武, 等. 重组人 sCR1 蛋白对大鼠肢体缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *中国矫形外科杂志*, 2014, 22(14):1304-1309.

[4] 王广兰, 宫瑾瑾, 王文丽, 等. 重组人 sCR1 在巴斯德毕赤酵母细胞中的表达、纯化及鉴定[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2007, 23(11):1066-1068.

[5] 王广兰, 宫瑾瑾, 王文丽, 等. 重组人 sCR1 真核表达载体

的构建、表达及其生物学活性[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2008, 24(5):453-456.

[6] 周明武, 李琛琪, 王广兰, 等. 人 sCR1 转化克隆菌的快速筛选和鉴定[J]. *生物医学工程与临床*, 2013, 17(5):487-492.

[7] 王广兰, 刘亚利, 初霞, 等. 兔抗人 sCR1 抗体制备及临床初步应用[J]. *临床检验杂志*, 2010, 28(2):131-132.

[8] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. *中华内科杂志*, 2001, 40(1):62-68.

[9] 徐志峰, 李惠, 王淑艳, 等. ELISA 检测影响因素分析[J]. *中国误诊学杂志*, 2001, 1(4):584-585.

[10] Weisman HF, Bartow T, Leppo MK, et al. Soluble human complement receptor type1: in vivo inhibitor of complement suppressing postschemic myocardial inflammation and necrosis[J]. *Science*, 1990, 249(4965):146-151.

[11] Luan NM, Iwata H. Inhibition of instant blood-mediated inflammatory responses by co-immobilization of sCR1 and heparin on islets[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(21):5019-5024.

[12] 何莉, 杨永涛, 汪正清, 等. sCR1-SCR15-18 蛋白减轻补体介导的大鼠脑缺血/再灌注损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2009, 25(12):2436-2440.

[13] 杨绍俊, 张璇, 汪正清, 等. 人 CR1-SCR1-3 蛋白对急性大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *第三军医大学学报*, 2013, 35(13):1323-1326.

[14] 李守勇, 张婷兰, 王海滨, 等. 慢性肝病患者 sCR1 与血清层粘连蛋白含量变化的关系研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 17(3):481-489.

(收稿日期:2017-02-14 修回日期:2017-05-05)

(上接第 2951 页)

原菌药敏试验结果指导临床医师治疗,避免抗菌药物盲目使用或不合理应用增加病原菌的耐药性^[9]。本研究表明,伏立康唑、氟康唑、沃尔康唑、酮康唑、制霉菌素对部分病原菌的耐药率均超过 30.00%,临床在选择此类抗菌药物时,应尽量结合患者的病原菌构成情况。对于其他抗菌药物应按照抗菌药物临床应用规范,采用足量、完整疗程治疗,避免抗菌药物不合理使用导致感染反复发作^[10]。

综上所述,真菌性角膜炎患者病原菌谱基本稳定,但耐药性呈上升趋势。加强抗菌药物的临床合理应用,延缓病原菌的耐药增长趋势是临床眼科医师的紧迫任务。

参考文献

[1] 陈金桃. 真菌性角膜炎病原学及药物性分析[J]. *国际眼科杂志*, 2013, 13(10):2028-2029.

[2] 李正平, 陈萍, 张露文, 等. 真菌性角膜炎致病菌分布、耐药性及预后不良因素分析[J]. *医学研究杂志*, 2016, 45(9):156-159.

[3] 高新宇. 角膜炎的病原菌及耐药性分析[J]. *医药前沿*, 2014, 35(24):59-60.

[4] 杨敏天, 姜启阳. 角膜炎的病原菌分布及耐药性研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2013, 23(2):356-358.

[5] 赵凌军. 化脓性角膜炎的病原学特征及感染危险因素分析[J]. *眼科新进展*, 2014, 34(9):878-881.

[6] 孙声桃, 吕奇学, 韩雷, 等. 我国中原地区 653 株真菌性角膜炎分离镰刀菌的基因型及药物敏感性[J]. *中华眼科杂志*, 2015, 51(9):660-667.

[7] 张凤梅, 尚彦霞, 冯琳, 等. 邢台地区感染性角膜炎 1 928 例病原学及耐药性分析[J]. *重庆医学*, 2014, 42(34):4646-4648.

[8] 李孝才, 洪浩, 赵培沛, 等. 某市化脓性角膜炎的致病菌分布和耐药性分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(10):1249-1250.

[9] 刘春林, 徐红云, 李红, 等. 茄病镰刀菌致急性真菌性角膜炎 1 例[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(11):1343-1344.

[10] 夏元, 薛春燕, 吴艳, 等. 常见致病真菌所致角膜炎的激光扫描共焦显微镜图像特点分析[J]. *中华实验眼科杂志*, 2016, 34(2):155-159.

(收稿日期:2017-03-24 修回日期:2017-06-30)