

引文格式:胡卫萍,徐永根,倪利洋,应黄芳,张子龙,晋秀明.细菌性角膜炎951例病原学及药物敏感性分析[J].

眼科新进展,2019,39(10):976-979. doi:10.13389/j.cnki.rao.2019.0223

【应用研究】

## 细菌性角膜炎 951 例病原学及药物敏感性分析

胡卫萍 徐永根 倪利洋 应黄芳 张子龙 晋秀明

### Pathogenicity and drug sensitivity analysis of 951 patients of bacterial keratitis

HU Wei-Ping, XU Yong-Gen, NI Li-Yang, YING Huang-Fang, ZHANG Zi-Long, JIN Xiu-Ming

**[Abstract] Objective** To explore the pathogenic characteristics, drug sensitivity characteristics and its changes in bacterial keratitis. **Methods** Retrospective case study. Totally 951 samples diagnosed as infectious keratitis were collected from the Eye Center of the Second Affiliated Hospital of Zhejiang University from June 2011 to June 2018, following the summary analysis of patient general information, bacterial pathogens and drug susceptibility test results. **Results** A total of 951 corneal culture specimens were collected, of which 105 specimens were positive for bacterial culture, accounting for 11.0%, including 70 male patients and 35 female patients, the male to female ratio was 2:1, aged 13-82 ( $54.3 \pm 17.2$ ) years. Among the culture-positive bacteria, fifty-nine were Gram-positive cocci, accounting for 56.2%, and 32 were Gram-negative bacilli, accounting for 30.5%. *Streptococcus pneumoniae* (29.5%) was the most common, followed by *Pseudomonas aeruginosa* (19.0%). The *in vitro* drug susceptibility test of bacteria against 10 antibacterial drugs showed that vancomycin and levofloxacin had high sensitivity rate, and the sensitivity of ceftriaxone was lower than that of other drugs. Multi-drug resistant bacteria accounted for 13.3% of total bacteria, and multi-drug resistant bacteria (43.5%) in *Staphylococcus* were significantly higher than *Pseudomonas* (5.0%) ( $\chi^2 = 8.320, P = 0.004$ ) and *Streptococcus* (2.8%) ( $\chi^2 = 15.327, P = 0.000$ ). **Conclusion** In recent years, the types of bacteria that cause corneal infections are changing, and *Streptococcus pneumoniae* is the most common bacteria. Corneal bacteria have the highest sensitivity to levofloxacin, and multi-drug resistant bacteria are mainly found in *Staphylococcus*.

**[Key words]** bacterial keratitis; drug susceptibility test; retrospective study

**【摘要】 目的** 探讨并分析细菌性角膜炎病原学特征、药物敏感性特点及其变迁。**方法** 回顾性病例研究。收集2011年6月至2018年6月浙江大学附属第二医院眼科中心拟诊感染性角膜炎的培养标本951份,总结并分析患者的一般资料、细菌病原学及药物敏感性试验结果。**结果** 共收集送检角膜培养标本951份,细菌培养阳性标本105份,占11.0%,其中来自男性患者70份,女性患者35份,男女比例为2:1,年龄13~82( $54.3 \pm 17.2$ )岁。培养阳性的细菌中,革兰阳性球菌59株,占56.2%,革兰阴性杆菌32株,占30.5%。肺炎链球菌(29.5%)最常见,铜绿假单胞菌(19.0%)次之。细菌对10种抗菌药物体外药物敏感性试验结果显示,万古霉素、左旋氧氟沙星敏感率高,头孢曲松敏感率低于其他药物。多重耐药菌占总细菌的13.3%,其中葡萄球菌属(43.5%)中多重耐药菌显著高于假单胞菌属(5.0%)( $\chi^2 = 8.320, P = 0.004$ )及链球菌属(2.8%)( $\chi^2 = 15.327, P = 0.000$ )。**结论** 近年来,引起角膜感染的细菌种类在发生变化,肺炎链球菌为最常见细菌。角膜细菌对左旋氧氟沙星的敏感率最高,多重耐药菌主要发现于葡萄球菌属中。

**【关键词】** 细菌性角膜炎;药物敏感性试验;回顾性研究

**【中图分类号】** R772.21

细菌性角膜炎是眼科常见的感染性眼病,由细菌感染引起,不同种属的细菌其致病性、药物敏感性差异较大<sup>[1-2]</sup>,若不能得到及时有效的治疗,有发生角膜溃疡穿孔、甚至眼内感染的可能,给患者造成严

重伤害。由于广谱抗生素的普遍使用,眼表菌群分布、药物耐受特征均不断发生变化,而目前国内对于细菌性角膜炎病原学及药物敏感性的连续性回顾分析资料较少,本研究旨在对2011年6月至2018年6

月浙江地区细菌性角膜炎进行病原学、药物敏感性的回顾性分析,探讨其变迁规律,以期对细菌性角膜炎的诊断及治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 资料收集 收集浙江大学附属第二医院眼科中心门诊2011年6月至2018年6月拟诊感染性角膜炎,并进行实验室病原学检查的培养标本951份,所有标本均由专业人员采集。收集患者的一般资料、病原学及药物敏感性试验等的结果并予以分析。

1.2 细菌培养及鉴定 拟诊为细菌性角膜炎的患者,常规无菌环境下进行角膜刮片,接种于营养肉汤、巧克力平板、血琼脂平板培养基,置于35℃、50%湿度下恒温恒湿培养箱中培养1~2 d,分离出单个菌落,最后采用ATB半自动细菌鉴定仪行种属鉴定。

1.3 药物敏感性检测 采用Kirby-Bauer法进行药物敏感性检测,检测抗菌药物为:青霉素、氨曲南、妥布霉素、环丙沙星、莫西沙星、左旋氧氟沙星、呋喃妥因、复方新诺明、头孢曲松、苯唑西林及头孢西丁。采用低抑菌浓度法检测万古霉素。判别的标准参考美国临床实验室标准委员会建立的药物敏感试验判断标准<sup>[3]</sup>。

1.4 统计学分析 采用SPSS 18.0软件进行数据分析,计数资料组间差异采用卡方检验,构成比随年度变化的趋势采用Spearman相关性分析,检验水准: $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 一般资料分析 本研究共收集培养标本951份,来自951眼,细菌培养阳性标本105份,占11.0%,其中,2012年至2018年各年度细菌培养阳性率分别为13.4%、11.2%、11.8%、10.3%、9.8%、9.2%、9.5%,整体呈下降趋势。105份阳性标本来自男性患者70份,女性患者35份,男女比例为2:1;患者年龄为13~82(54.3±17.2)岁。不同年龄段的标本及细菌培养阳性情况见表1。

表1 不同年龄段拟诊感染性角膜炎的标本及细菌培养阳性分布

年龄	标本数	阳性数	百分率/%
≤14岁	10	1	10.0
>14~20岁	14	4	28.6
>20~60岁	541	49	9.1
>60岁	386	51	13.2
合计	951	105	11.0

2.2 细菌分布

2.2.1 角膜细菌种属分布 105份培养阳性的标本中,经过实验室分析鉴定,明确细菌种属者共101株,涵盖13个属19种,占总培养阳性株数的96.2%;未鉴定出种属的细菌共4株,占3.8%。

前6位常见菌种为肺炎链球菌(29.5%)、铜绿假单胞菌(19.0%)、表皮葡萄球菌(14.3%),黏质沙雷菌(5.7%)、金黄色葡萄球菌(4.8%)及草绿色链球菌(3.8%)。具体菌属分布见表2。

表2 105例培养阳性的标本菌属分布

细菌分类	标本数	百分率/%
革兰阳性球菌	59	56.2
链球菌属	36	34.3
葡萄球菌属	23	21.9
革兰阴性杆菌	32	30.5
假单胞菌属	20	19.0
沙雷菌属	6	5.7
不动杆菌属	1	1.0
莫拉菌属	1	1.0
变形杆菌属	1	1.0
气单胞菌属	1	1.0
其他	2	1.9
革兰阳性杆菌	6	5.7
棒杆菌属	5	4.8
诺卡菌属	1	1.0
革兰阴性球菌	4	3.8
卡他布兰汉菌	3	2.9
奈瑟菌属	1	1.0
未鉴定出种属	4	3.8
合计	105	100.0

2.2.2 细菌分布的年度变化 2012年至2018年各年度革兰阳性球菌年度占比分别为55.0%、75.0%、61.1%、38.5%、41.7%、41.7%、33.3%;革兰阴性杆菌年度占比分别为35.0%、12.5%、22.2%、61.5%、41.6%、50.0%、58.3%。革兰阳性球菌的比例随年度下降( $R_s=0.006, P=0.971$ )。3种常见菌种的年度占比分别为:肺炎链球菌30.0%、37.5%、38.9%、15.4%、25.0%、33.3%、25.0%;铜绿假单胞菌20.0%、6.3%、22.2%、23.1%、25.0%、16.7%、25.0%;表皮葡萄球菌20.0%、25.0%、11.1%、7.7%、16.7%、8.3%、8.3%。表皮葡萄球菌的比例逐年下降( $R_s=-0.794, P=0.000$ ),其余常见菌种的比例变化差异无统计学意义(均为 $P>0.05$ )。

2.3 药物敏感性试验结果分析

2.3.1 药物敏感性试验结果 角膜细菌总体的药物敏感性试验结果显示,所测菌种对万古霉素及左氧氟沙星、环丙沙星两种喹诺酮类药物敏感性高,大于80.0%。对青霉素类、头孢类、氨基糖甙类敏感性低,具体情况见表3。前三种常见细菌的药物敏感性分析情况见表4。

2.3.2 多重耐药性分析 多重耐药菌是指对3类或以上抗生素耐药的细菌,本研究中分离出多重耐药菌14株,占总株数的13.3%,其中71.4%为葡萄球菌属,7.1%为假单胞菌属。23株葡萄球菌属中,10株(43.5%)为多重耐药菌,显著高于假单胞菌属

5.0% ( $\chi^2 = 8.320, P = 0.004$ ), 以及链球菌属 2.8% ( $\chi^2 = 15.327, P = 0.000$ )。

表 3 105 例培养阳性标本分离的细菌对不同药物的敏感率和耐受率

药物名称	敏感率/%	耐药率/%
万古霉素*	93.3	6.7
左旋氧氟沙星	84.8	15.2
环丙沙星	83.8	16.2
呋喃妥因	73.3	26.7
氨曲南	68.6	24.8
莫西沙星	66.7	25.7
妥布霉素	59.0	31.4
青霉素	54.3	45.7
复方新诺明	50.5	42.9
头孢曲松	33.3	23.8

注: \* 示常规仅用于检测革兰阳性菌的敏感性

表 4 951 例感染性角膜炎标本中 3 种常见细菌的药物敏感率

菌种	药物敏感率/%		
	肺炎链球菌	铜绿假单胞菌	表皮葡萄球菌
万古霉素*	100.0		100.0
青霉素	100.0		0.0
氨曲南	75.2	80.0	75.2
妥布霉素		100.0	
环丙沙星		100.0	33.3
莫西沙星			44.8
左旋氧氟沙星	94.3	92.4	50.5
呋喃妥因		0.0	100.0
复方新诺明	50.5	7.6	54.3
头孢曲松	24.8	60.0	66.7

注: \* 示常规仅用于检测革兰阳性菌的敏感性; 表内空白项示无此项数据

3 讨论

细菌性角膜炎是眼科临床常见的疾病之一,也是引起严重致盲性的角膜病之一,其致病菌的菌谱具有一定的地域性<sup>[2]</sup>。不同的致病菌所引起的角膜炎的危险因素、起病缓急、临床表现、严重程度、用药选择、疾病预后等均存在着差异。所以,相关病原学分析和药物敏感性检测对于临床诊断、鉴别诊断及抗菌药的选择有实际的指导意义<sup>[4]</sup>。

本研究中细菌培养阳性数占比为 11.0%,与伍志琴等<sup>[5]</sup>报道的 196 例感染性角膜炎中细菌培养阳性数占比 10.7% 相近。临床上细菌培养阳性率会受许多因素的影响,包括临床取材指征的把握、标本送检的及时性以及标本获取的无菌性等,每一环节都会影响最终培养结果的准确性。本研究结果表明,随着时间推移,细菌培养阳性占比呈下降趋势,可能与广谱抗生素眼液的普及应用有关,而且前来就诊的绝大部分患者已在当地医院经过局部氧氟沙星滴眼液、左氧氟沙星滴眼液或者妥布霉素滴眼液等抗

菌治疗。

细菌性角膜炎最常见于成人,其次是老年患者,儿童和青少年患者相对较少;男性患者多于女性,与既往的研究结果相符<sup>[6]</sup>。我国为发展中国家,这种患者分布情况可能与其危险因素多为角膜外伤有关,而成年男性又是主要的劳动人群,机会性外伤的几率显著高于其他年龄组的人群<sup>[7]</sup>。

角膜分离的菌属分布中,以革兰阳性球菌与革兰阴性杆菌为主,革兰阳性球菌中又以链球菌属与葡萄球菌属为主,革兰阴性杆菌中以假单胞菌属为主,这与许多发展中国家报道的结果相近<sup>[8-10]</sup>。近年的革兰阳性球菌比例有下降趋势,与张阳等<sup>[11]</sup>报道的我国北方地区革兰阳性球菌呈上升趋势相反,这可能与沿海地区居民生活条件的改善、广谱抗生素的普及应用有关,另外一种原因可能是病原菌谱存在着地域性差异,所以需要我们去不断了解本地区致病菌谱的变迁,这对眼科医师的临床工作具有实际的指导意义。

导致感染性角膜炎的细菌中,肺炎链球菌(29.5%)、铜绿假单胞菌(19.0%)、表皮葡萄球菌(14.3%)最为常见,但其菌种分布存在着地域差异<sup>[2]</sup>。与 Lin 等<sup>[12]</sup>报道南印度地区常见的菌种为肺炎链球菌(35.1%)及铜绿假单胞菌(24.3%)相一致,而钟文贤等<sup>[8]</sup>发现,山东地区以铜绿假单胞菌(35.7%)及表皮葡萄球菌(22.5%)为常见菌种。近年,表皮葡萄球菌比例呈下降趋势,肺炎链球菌及铜绿假单胞菌比例无明显变化。

药物敏感性试验结果显示,以左旋氧氟沙星及环丙沙星为代表的氟喹诺酮类抗生素敏感性较高。张阳等<sup>[11]</sup>的研究显示,较十几年前,氧氟沙星、左氧氟沙星、妥布霉素的敏感率已显著下降<sup>[9,13]</sup>,提示随着左氧氟沙星、妥布霉素、氧氟沙星在眼科的广泛应用,细菌对这些药物的耐药性逐渐增强,需引起临床医师的高度注意。另外,本研究回顾时间年限较短,缺少年份相关组间的比较,有待进一步完善。

从角膜分离的细菌中,13.3% 为多重耐药菌,葡萄球菌属占 71.4%,其中 43.5% 为多重耐药菌,显著高于假单胞菌属 5.0% 及链球菌属 2.8%,给细菌性角膜炎的治疗带来了较大的困难。因此,Lichtinger 等<sup>[14]</sup>建议在临床上对于细菌性角膜炎的经验性治疗首选联合用药,从本文细菌培养及药物敏感性试验结果来看,联合用药是合理的。

本研究的角膜病患者多来自我国浙江省北部地区,本研究回顾性分析了近年细菌性角膜炎的病原学及药物敏感性的变化,揭示引起角膜感染的细菌菌谱在发生着变化。当然,也只能反映该区域细菌性角膜炎的相关变化趋势,仅供临床医师参考。而全国性的总体变化趋势,有待全国多中心的联合研究。

参考文献

[1] SHALCHI Z, GURBAXAFI A, BAKER M, NASH J. Antibiotic resistance in microbial keratitis; ten-year experience of corneal scrapes in the United Kingdom [J]. *Ophthalmology*, 2011, 118(11):2161-2165.

[2] RAUTARAYA B, SHARMA S, ALI M H, KAR S, DAS S, SAHU S K. A 3. 5-Year study of bacterial keratitis from Odisha, India [J]. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*, 2014, 3(3):146-150.

[3] MA Y, LI J Y, JIN S H. US Clinical Laboratory Standards Committee recommends susceptibility testing methods and criteria (2005 revision) [J]. *Natl Med J Chin*, 2005, 85(17):1183-1184.

马越, 李景云, 金少鸿. 美国临床实验室标准委员会推荐药敏试验操作方法和判断标准(2005年修订版) [J]. 中华医学杂志, 2005, 85(17):1183-1184.

[4] HALL R C, MCKELLAR M J. Bacterial keratitis in Christchurch, New Zealand, 1997-2001 [J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2004, 32(5):478-481.

[5] WU Z Q, LIU J P, NIE S W, WANG X Q. Clinical analysis of 196 infectious keratitis in Jingzhou Region [J]. *Chin J Pract Ophthalmol*, 2013, 31(10):1304-1307.

伍志琴, 刘剑平, 聂尚武, 王晓琴. 感染性角膜炎 196 例临床分析 [J]. 中国实用眼科杂志, 2013, 31(10):1304-1307.

[6] CARIELLO A J, PASSOS R M, YU M C Z, HOFLINGLIMA A L. Microbial keratitis at a referral center in Brazil [J]. *Int Ophthalmol*, 2011, 31(3):197-204.

[7] GOPINATHAN U, GARG P, FERNANDES M, SHARMA S, ATHMANATHA S, RAO G. The epidemiological features and laboratory results of fungal keratitis; a 10-year review at a referral eye care center in South India [J]. *Cornea*, 2002, 21(6):555-559.

[8] ZHONG W X, SUN S Y, ZHAO J, SHI W Y, XIE L X. Restrospective study of suppurative keratitis in 1054 patients [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2007, 43(3):245-250.

钟文贤, 孙士营, 赵靖, 史伟云, 谢立信. 1054 例化脓性角膜炎的回顾性分析 [J]. 中华眼科杂志, 2007, 43(3):245-250.

[9] SUN X G, WANG Z Q, LUO S Y, JIN X Y, ZHANG W H. Distribution and shifting trends of the pathogens for bacterial keratitis [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2002, 38(5):292-294.

孙旭光, 王智群, 罗时运, 金秀英, 张文华. 细菌性角膜炎病原学分析 [J]. 中华眼科杂志, 2002, 38(5):292-294.

[10] CHAWLA B, AGARWAL P, TANDON R, TITIYAL J S, SHARMA N, AGARWAL T, et al. *In vitro* susceptibility of bacterial keratitis isolates to fourth-eration fluoroquinolones [J]. *Eur J Ophthalmol*, 2010, 20(2):300-305.

[11] ZHANG Y, WANG Z Q, SUN X G. Etiological analysis and *in vitro* drug sensitivity of bacterial keratitis in northern China in the period of 2006 - 2015 [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2017, 53(9):662-667.

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.

[12] LIN C C, LALITHA P, SRINIVASAN M, PRAJNA N V, MCLEOD S D, ACHARYA N R, et al. Seasonal trends of microbial keratitis in South India [J]. *Cornea*, 2012, 31(10):1123-1127.

[13] LIANG Y C, WANG Z Q, LI R, LIANG Q F, LUO S Y, DENG S J, et al. The pathogens and its resistance to antibiotics in bacterial keratitis; a 4-year review [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2007, 25(4):306-309.

梁艳闯, 王智群, 李然, 梁庆丰, 罗时运, 邓世靖, 等. 细菌性角膜炎病原学及耐药性分析 [J]. 中华实验眼科杂志, 2007, 25(4):306-309.

[14] LICHTINGER A, YEUNG S N, KIM P, AMIRAN M D, LOVIE-NO A, ELBAZ U, et al. Shifting trends in bacterial keratitis in Toronto: an 11-year review [J]. *Ophthalmology*, 2012, 119(9):1785-1790.

.....

(上接第 975 页)

[2] WANG Q M, HUANG J H. Further understanding of the importance of quality of vision in corneal refractive surgery [J]. *Chin J Optom Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 16(1):1-4.

王勤美, 黄锦海. 深化对角膜屈光手术视觉质量重要性的认识 [J]. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2014, 16(1):1-4.

[3] ADIB-MOGHADDAM S, SOLEYMAN-JAHI S, ADILI-AGHDAM F, ARBA M S, HOORSHAD N, TOFIGHI S. Single-step transepithelial photorefractive keratectomy in high myopia: Qualitative and quantitative visual functions [J]. *Int J Ophthalmol*, 2017, 10(3):445-452.

[4] ANTONIOS R, ABDUL F M, ARBA M S, ABIAD B H, SLEIMAN K, AWWAD S T. Single-step transepithelial versus alcohol-assisted photorefractive keratectomy in the treatment of high myopia: A comparative evaluation over 12 months [J]. *Br J Ophthalmol*, 2017, 101(8):1106-1112.

[5] ASLANIDES I M, KYMIONIS G D. Trans advanced surface laser ablation (TransPRK) outcomes using smart pulse technology [J]. *Cont Lens Anterior Eye*, 2017, 40(1):42-46.

[6] KWON Y, BOTT S. Postsurgery corneal asphericity and spherical aberration due to ablation efficiency reduction and corneal remodeling in refractive surgeries [J]. *Eye*, 2009, 23(9):1845-1850.

[7] WANG Y, ZHAO K X. Wavefront aberration and clinical vision correction [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011:200.

王雁, 赵堪兴. 波前像差与临床视觉矫正 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011:200.

[8] MORENO-BARRIUSO E, LLOVES J M, MARCOS S, NAVARRO R, LLORENTE L, BARBERO S. Ocular aberrations before and after myopic corneal refractive surgery: LASIK-induced changes measured with laser ray tracing [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42(6):1396-1043.

[9] ZHANG R P, GU M S, SUN L X, LI J Y. The effect of femto-second laser-assisted LASIK and transepithelial photorefractive keratectomy on corneal higher order aberrations in myopia [J]. *Ophthalmol CNH*, 2015, 24(4):225-229.

张日平, 辜美山, 孙丽霞, 李瑾瑜. 飞秒激光制瓣 LASIK 及 TransPRK 手术治疗近视对角膜像差的影响 [J]. 眼科, 2015, 24(4):225-229.

[10] ZHAO J, ZENG L, LIU Z S, HAO G S. Effects of SMILE and Trans-PRK on corneal higher order aberrations after myopic correction [J]. *Int Eye Sci*, 2018, 18(3):438-441.

赵姣, 曾莉, 刘宗顺, 郝更生. SMILE 与 Trans-PRK 手术矫正近视对角膜前表面像差的影响 [J]. 国际眼科杂志, 2018, 18(3):438-441.