

中国华南地区真菌性角膜炎致病菌谱变化

龚桦 谭奕炜 龚向明 梁嘉晖 蔡志伟

510170 广州医学院荔湾医院眼科(龚桦);510060 广州,中山医科大学中山眼科中心(谭奕炜、龚向明、梁嘉晖、蔡志伟)

通信作者:龚桦,Email:hngz.02059@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.02.014

【摘要】 **背景** 真菌性角膜炎发病率高,临床治疗比较困难,其病原学诊断和鉴定是改善疾病预后的前提。近年来随着地区环境和气候的不断变化,真菌性致病菌的菌属分布是否发生改变值得关注。**目的** 分析近年来华南地区真菌性角膜炎致病菌的分布状况。**方法** 对 2009 年 1 月至 2014 年 12 月在中山大学中山眼科中心收集和培养的化脓性角膜溃疡刮取标本 3 350 份进行回顾性分析,对真菌培养阳性率及致病真菌株的种属分布进行鉴定,并评估不同年段和不同季节的变化。**结果** 培养的 3 350 份标本中真菌培养阳性者 1 050 株(1 050 例),每年平均 175 株,阳性率为 31.34%,其中镰刀菌属 337 株,占 32.10%;曲霉菌属 270 株,占 25.71%;禾草蠕孢霉菌属 150 株,占 14.29%;毛霉菌属 96 株,占 9.14%;弯孢霉属与青霉菌属各 65 株,各占 6.19%。2009—2010 年培养的阳性菌株 367 株,占 36.05%;2011—2012 年阳性菌株 329 株,占 32.45%;2013—2014 年阳性菌株 354 株,占 26.86%。各年段真菌检出阳性率的差异有统计学意义($\chi^2 = 22.37, P < 0.01$)。1~3 月培养的阳性菌株 261 株,占 31.15%;4~6 月阳性菌株 182 株,占 25.53%;7~9 月阳性菌株 237 株,占 30.00%;10~12 月阳性菌株 370 株,占 36.67%;各季度间阳性菌株检出率的差异有统计学意义($\chi^2 = 25.19, P < 0.01$),各种致病真菌的检出率以 10~12 月最高,4~6 月最低。**结论** 中国华南地区真菌性角膜溃疡的致病菌以镰刀菌属居首位,其次依次为曲霉菌属、禾草蠕孢霉菌属、毛霉菌属、膝曲弯孢霉属和青霉菌属。真菌感染率最高的季节是 10~12 月。2009—2014 年真菌性角膜溃疡仍处于高发期,但在华南地区发病率呈下降趋势。

【关键词】 角膜/微生物;角膜溃疡/微生物;真菌感染性眼病/微生物;真菌病/微生物;人;华南地区

Spectrum of fungal keratitis change in South China Gong Hua, Tan Yiwei, Gong Xiangming, Liang Jiahui, Cai Zhiwei

Department of Ophthalmology, Liwan Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510170, China (Gong H); Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China (Tan YW, Gong XM, Liang JH, Cai ZW)

Corresponding author: Gong Hua, Email: hngz.02059@163.com

【Abstract】 **Background** Fungal keratitis has a high incidence in China and its clinical treatment is very difficult, and its etiology diagnosis and appraisal is the premise to improve the prognosis of disease. With the changes of regional environment and climate in recent years, whether the spectrum of fungal keratitis change in South China is remarkable. **Objective** The purpose of this study was to investigate recent pathogenic distribution of fungal keratitis in South China area. **Methods** The consecutive fungal culture results of 3 350 purulent keratitis at Zhongshan Ophthalmic Center from January 2009 to December 2014 were retrospectively reviewed. The positive rate of fungal culture, genus or species distribution, seasonal distribution and different term distribution were analyzed.

Results The culture-positive rate was 31.34% in this study (1 050/3 350), and the average culture-positive number was 175 strains per year. In the positive fungus, the highest positive rate was *Fusarium SP* (32.10%, 337/1 050), and followed by *Aspergillus SP* (25.71%, 270/1 050), *Hemithosporium SP* (14.29%, 150/1 050) and *Mucor SP* (9.14%, 96/1 050). The fungal culture-positive rate was 36.05% (367/1 018) in 2009 to 2010, 32.45% (324/1 014) in 2011 to 2012, and 26.86% (354/1 318) in 2013 to 2014, respectively, with a significant difference

among the three periods ($\chi^2 = 22.37, P < 0.01$), showing a decreasing tendency of incidence. Two hundreds and sixty-one strains were isolated from January to March (31.15%, 261/838), 182 strains from April to June (25.53%, 182/713), 237 strains from July to September (30.00%, 237/790), 370 strains from October to December (36.67%, 370/1009), showing a statistically significant difference among them ($\chi^2 = 25.19, P < 0.01$). The number of infectious strains was most during October to December and fewest during April to June. **Conclusions** The leading pathogenic fungi of fungal keratitis is *Fusarium SP* and followed by *Aspergillus SP*, *Helminthosporium SP*, *Mucor SP* in turn. Fungal keratitis is usually prevalent from October to December, and its incidence is still rising in Chinese mainland recently. However, the increasing tendency in South China has been prevented in recent six years.

[Key words] Cornea/microbiology; Corneal ulcer/microbiology; Eye infections, fungal/microbiology; Mycoses/microbiology; Humans; South China

真菌性角膜炎在治疗上较困难,致盲率高。20 世纪 80 年代以来,中国的调查研究报道显示南北各地的真菌性角膜炎发生率呈逐年上升的趋势^[1-3],而病原菌的确定和诊断是获得较好疗效的前提。近年来随着地区环境和气候的不断变化,真菌性角膜炎的发病趋势与致病真菌的菌属分布是否发生改变值得关注。本研究对广东地区化脓性角膜溃疡患者的主要致病菌进行鉴定,为该地区真菌性角膜炎的临床治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

对 2009 年 1 月至 2014 年 12 月在中山大学中山眼科中心就诊并进行致病菌培养和鉴定的临床资料进行回顾性分析,包括广东省内外其他医院转诊的化脓性角膜溃疡病例,经角膜病灶刮取标本共 3 350 份,均由中山大学中山眼科中心的中心检验室进行真菌培养。

1.2 真菌培养与鉴定

采用马铃薯葡萄糖培养基和/或沙保罗培养基对病灶刮取标本进行培养,培养温度为 28℃,相对湿度为 40%,培养 7~10 d。由经验丰富的专业技术人员根据真菌菌落的外观、菌丝、孢子及菌细胞形态等进行菌种鉴定,并登记入册,分别按照年段和季节对培养的真菌株数及鉴定菌种进行统计和分析。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 10.0 统计学软件进行统计分析。本研究中测定指标的数据

表 1 各年段真菌培养阳性率

时间	标本数	阳性数	百分比 (%)
2009—2010 年	1 018	367	36.05
2011—2012 年	1 014	329	32.45
2013—2014 年	1 318	354	26.86
合计	3 350	1 050	31.34

注: $\chi^2 = 22.37, P < 0.01$ (χ^2 检验)

表 2 1 050 株真菌种属及构成比

真菌类别	株数	百分比 (%)
镰刀菌属	337	32.10
茄病镰孢菌	231	22.00
串珠镰孢菌	48	4.57
腹孢镰孢菌	29	2.76
尖孢镰孢菌	15	1.43
梨孢镰孢菌	9	0.86
弯孢镰孢菌	2	0.19
木贼镰孢菌	2	0.19
半裸镰孢菌	1	0.10
曲霉菌属	270	25.71
黑曲霉	85	8.10
烟曲霉	79	7.52
黄曲霉	74	7.05
土曲霉	25	2.38
构巢曲霉	5	0.48
杂色曲霉	2	0.19
禾草蠕孢霉菌属	150	14.29
毛霉菌属	96	9.14
青霉菌属	65	6.19
弯孢霉属	65	6.19
酵母与酵母样菌属	22	2.10
不产孢子群	17	1.62
帚霉属	5	0.48
枝顶孢霉属	5	0.48
茎点霉	2	0.19
互隔交链孢霉	1	0.10
头孢霉属	1	0.10
尖端赛多孢霉	1	0.10
毛癣菌属	1	0.10
皮炎芽生菌	1	0.10
待鉴定菌属	11	1.05
合计	1 050	100.00

资料为计数资料,以频数和率进行表达。采用多个分组单因素分析的研究方法,不同年段和不同季节真菌培养阳性菌株和阳性率的总体差异比较采用 χ^2 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 真菌培养

3 350 份标本中共培养出真菌菌株 1 050 株,每年平均 175 株,阳性率为 31.34%。按每 2 年分组后发现 2009—2010 年真菌阳性率最高,2013—2014 年真菌阳性率最低,3 个年段培养的阳性株数比例依次为 1:0.90:0.96,组间总体比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 22.37, P < 0.01$) (表 1)。

2.2 培养阳性真菌株的分类

培养的 1 050 株阳性菌株中 11 株未确定种属,其他 1 039 株共分为 16 个菌属 (表 2)。

2.3 培养阳性真菌株的季节分布

按季度进行分期后发现,10~12 月真菌培养阳性率最高,4~6 月真菌培养阳性率最低,各季度间总体比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 25.19, P < 0.01$) (表 3)。

表 3 真菌培养阳性株与阳性率的季节分布

季节	标本数	阳性株	阳性率 (%)
1—3 月	838	261	31.15
4—6 月	713	182	25.53
7—9 月	790	237	30.00
10—12 月	1 009	370	36.67
合计	3 350	1 050	31.34

注: $\chi^2 = 25.19, P < 0.01$ (χ^2 检验)

表 4 各角膜致病真菌菌属的季节分布 [n(%)]

菌属	1—3 月	4—6 月	7—9 月	10—12 月	合计
镰刀菌属	82 (24.33)	59 (17.51)	64 (18.99)	132 (39.17)	337
曲霉菌属	67 (24.81)	41 (15.19)	77 (28.52)	85 (31.48)	270
禾草蠕孢霉菌属	38 (25.33)	30 (20.00)	34 (22.67)	48 (32.00)	150
毛霉菌属	27 (28.13)	15 (15.63)	21 (21.88)	33 (34.38)	96
青霉菌属	11 (16.92)	7 (10.77)	17 (26.15)	30 (46.15)	65
弯孢霉属	20 (30.77)	14 (21.54)	11 (16.92)	20 (30.77)	65
酵母与酵母样菌属	5 (22.73)	7 (31.82)	2 (9.09)	8 (36.36)	22
其他	11 (24.44)	9 (20.00)	11 (24.44)	14 (31.11)	45

2.4 真菌性角膜溃疡致病菌的季节分布

各角膜致病真菌菌属的季节分布见表 4, 各种致病真菌检出率以 10~12 月最高, 4~6 月最低。

3 讨论

中国近 30 年来真菌性角膜炎的发病率逐年上升。本研究中真菌培养结果显示, 近 6 年间平均每年的阳性致病菌株为 175 株 (175 例), 高于文献报道的结果^[1-4], 仅低于邓先明等^[5]报道的 1 年内角膜真菌感染达 324 例的结果, 说明真菌性角膜炎仍处于高发期, 其原因可能有: (1) 中国处于热带、亚热带和温带地域, 气候温热, 湿度较大或适中, 有利于各种真菌的生长繁殖; (2) 中国是人口大国, 角膜外伤, 特别是与农业劳作有关的植物性外伤仍然是真菌性角膜感染的主要诱因^[2]; (3) 近年来医务人员对真菌性角膜感染更加重视, 且诊断技术不断提高; (4) 一些角膜病患者或受国情与民情的影响, 多到大型医疗机构接受诊治。中山大学中山眼科中心的角膜病患者除主要来源于广东省及华南各省外, 还有来自江西省、贵州省、湖南省、湖北省等地的患者, 故病例的地区分布相对集中。上述因素在不同程度上与近几年来真菌性角膜炎的高发状态有关。本研究结果还显示, 致病真菌培养的阳性率逐年下降, 培养的阳性株数在统计的 3 个年段基本持平且有微弱减少的趋势, 提示目前华南地区真菌性角膜炎逐年增加的趋势开始得到遏制, 可能与中国国民文化素质的普遍提高、经济的快速增长、环境卫生和空气质量的不断优化、农业人口比例因城镇化而逐渐下降、农业生产转型及机械化程度的不断提高、植物性外伤有所减少等因素有关。

本研究结果显示, 真菌培养阳性株数与阳性率以及致病菌属的阳性株百分比均于 10~12 月最高, 1~3 月次之 (仅曲霉菌属、青霉菌属例外), 说明华南地区 10~12 月是真菌性角膜炎的高发季节, 与北方地区相同, 其次是 1~3 月, 而北方是 7~9 月, 二者不同^[3,6], 这与我国南北地区 10~12 月处于农忙季节、植

物性外伤较多有关。另一方面, 由于南方的秋季与秋收时令比北方持续时间长, 广东省、广西壮族自治区与海南省的 1~3 月气候保持温湿适中, 有利于各种真菌的生长繁殖; 此外, 由于华南地区秋收秋种时间较长而患者延迟就诊等原因, 故华南地区的 1~3 月依然是角膜真菌感染较多的季节。

角膜致病真菌的菌属与地域、气候和国情有关^[7-8]。迄今已发现角膜炎的致病真菌达 70 种之多^[9]。本研究结果显示, 华南地区致病真菌有 16 属 30 种, 其中丝状真菌占 97.9%, 而酵母菌及类酵母菌属占 2.1%, 与孙旭光等^[3]的报道吻合。1998 年, 卢嘉彪等^[1]研究显示, 广州地区以曲霉菌和镰刀菌为主要的致病丝状真菌, 此后 20 年来, 南北各地的文献报道均显示镰刀菌属为首位的致病真菌, 其中茄病镰刀菌占大多数, 其次为曲霉菌属。北方地区镰刀菌属感染率为 51.1%~73.3%, 曲霉菌属为 12.1%~20.5%^[3,6,10-13]; 华南地区镰刀菌属占 27.6%~45.3%, 曲霉菌属占 20.3%~30.6%^[4,14-17], 而本研究结果显示镰刀菌属占 32.10%, 曲霉菌属占 25.71%, 可见中国北方地区镰刀菌属感染率明显高于南方, 而曲霉菌属感染率则南方稍高于北方。此外, 最近有报道显示链格孢菌的角膜感染率上升至第 2 位^[5], 而原居于第 2 位的曲霉菌则有下降趋势。20 世纪 90 年代以来, 曾报道在华北和华中地区居于角膜感染率第 3 位、第 4 位的致病真菌是青霉菌和弯孢霉属^[5,7], 而最近报道的则是交链孢霉、不产孢子群、念珠菌或枝顶孢霉属等^[3,6,13]。20 世纪 90 年代以来, 曾报道南方地区居于第 3 位、第 4 位的感染菌是弯孢霉属、青霉菌属或毛霉菌^[4,7,17], 而本研究中发现近 6 年居于第 3 位、第 4 位的感染菌是禾草蠕孢霉菌属和毛霉菌属, 弯孢霉属和青霉菌属已退居为第 5 位。由此可见, 我国华北、华中及华南地区新进入的第 3 位、第 4 位致病菌属有多种, 各文献报道的差异较明显, 可能与中国南北地域、气候环境因素不同等存在一定差异有关。但由于目前的文献报道及报道中的病例数较少, 因此相关的结果有待进一步探讨。

综上所述, 本研究结果显示近年来华南地区经真菌培养诊断的真菌性角膜炎仍处于高发期, 但发病率并非逐年上升, 而是基本持平, 且检出的阳性菌株率呈下降趋势, 说明真菌性角膜炎的发病未出现继续上升的趋势。华南地区人群中真菌性角膜炎的发病高峰季节是 10~12 月, 其次是 1~3 月。各种致病真菌检出

率的高峰季节也是 10~12 月,主要致病真菌是镰刀菌属和曲霉属,其次是禾草蠕孢霉菌属和毛霉菌属,弯孢霉属和青霉菌属则居于第 5 位。各研究报道的中国南北地区第 3 位、第 4 位的致病菌不甚一致,凸显多种真菌种属的致病率呈上升趋势。镰刀菌和曲霉性角膜炎的治疗预后较差^[18],而致病真菌种类更加复杂多样的状况将为真菌性角膜炎的临床诊治带来更严峻的挑战,需要临床医师进一步关注或进行深入研究。

参考文献

- [1] 卢嘉彪,陈家祺,王丽娅. 广州地区真菌性角膜炎的病原体及发病情况的变迁[J]. 眼科研究,1998,16(4):289-291.
- [2] 王丽娅,杨子建,张月琴,等. 河南地区真菌性角膜炎病因学及流行病学分析[J]. 中国实用眼科杂志,2006,24(3):331-333.
Wang LY, Yang ZJ, Zhang YQ, et al. Epidemiology and aetiological diagnosis of fungal keratitis[J]. Chin J Pract Ophthalmol, 2006, 24(3): 331-333.
- [3] 孙旭光,王智群,罗时运,等. 眼部真菌感染的病原学分析[J]. 中华眼科杂志,2002,38(7):405-407.
Sun XG, Wang ZC, Luo SY, et al. Etiological analysis on the ocular fungal infection[J]. Chin J Ophthalmol, 2002, 38(7): 405-407.
- [4] 宋书华,林跃生,黎明,等. 真菌性角膜炎的病原学分析[J]. 中国实用眼科杂志,2005,23(5):506-508.
Song SH, Lin YS, Li M, et al. The study on etiology of fungal keratitis[J]. Chin J Pract Ophthalmol, 2005, 23(5): 506-508.
- [5] 邓先明,王丽娅,孙声桃,等. 真菌性角膜炎致病菌属与疾病预后的关系[J]. 中国实用眼科杂志,2014,32(7):824-828. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1006-4443. 2014. 07. 005.
Deng XM, Wang LY, Sun ST, et al. The correlation analysis between genera and the prognosis in fungal keratitis[J]. Chin J Pract Ophthalmol, 2014, 32(7): 824-828. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1006-4443. 2014. 07. 005.
- [6] Xie L, Zhong W, Shi W, et al. Spectrum of fungal keratitis in north China[J]. Ophthalmology, 2006, 113(11): 1943-1948. DOI: 10.1016/j.ophtha.2006.05.035.
- [7] 王丽娅,张月琴,王印其. 中国三地区真菌性角膜病致病菌种的调查[J]. 中华眼科杂志,2000,36(2):138-140.
- [8] 马琳,谢立信. 角膜致病真菌的流行病学[J]. 中国实用眼科杂志,2006,24(4):352-356.
- [9] Tanure MA, Cohen EJ, Sudesh S, et al. Spectrum of fungal keratitis at Wills Eye Hospital, Philadelphia, Pennsylvania[J]. Cornea, 2000, 19(3): 307-312.
- [10] 陈薇婴. 真菌性角膜炎实验室诊断方法的对比分析[J]. 中国实用眼科杂志,2015,33(6):617-620. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1006-4443. 2015. 06. 011.
Chen WY. Contrast analysis of laboratory diagnosis of fungal keratitis[J]. Chin J Pract Ophthalmol, 2015, 33(6): 617-620. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1006-4443. 2015. 06. 011.
- [11] 鹿秀海,高彦,张莉,等. 真菌性角膜炎 334 例的病原学分析[J]. 中华眼科杂志,2013,49(1):12-15. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2013. 01. 005.
Lu XH, Gao Y, Zhang L, et al. Aetiology analyses of 334 cases fungal keratitis[J]. Chin J Ophthalmol, 2013, 49(1): 12-15. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2013. 01. 005.
- [12] 王雪,赵桂秋,姜楠,等. 真菌性角膜炎角膜穿孔患者的临床特征及预后分析[J]. 中国实用眼科杂志,2015,33(6):621-624. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1006-4443. 2015. 06. 012.
Wang X, Zhao GQ, Jiang N, et al. Clinical characteristics and prognosis of ocular perforation caused by fungal keratitis[J]. Chin J Pract Ophthalmol, 2015, 33(6): 621-624. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1006-4443. 2015. 06. 012.
- [13] 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.
Wang ZX, Wang ZQ, Luo SY, et al. Etiological analysis of ocular fungal isolates and susceptibility *in vitro*[J]. Chin Ophthal Res, 2007, 25(2): 145-148.
- [14] Gong H, Gong X. Combined application of 5% natamycin and 0.2% fluconazole for the treatment of fungal keratitis[J]. Eye Sci, 2013, 28(2): 84-87.
- [15] 陈玮,钟兴武,陈晓莲,等. 真菌性角膜溃疡致病菌种类及其药物敏感性分析[J]. 中国医师杂志,2006,8(4):565-566.
- [16] 陈王灵,赵普宁,欧波,等. 海南地区真菌性角膜溃疡病原菌及其鉴定分析[J]. 海南医学,2007,18(11):159-160,181.
- [17] 刘昭升,谢素贞,闫蕾,等. 福建地区真菌性角膜炎的调查[J]. 中国眼耳鼻喉科杂志,2009,9(4):238-240.
Liu ZS, Xie SZ, Yan L, et al. Clinical characteristics of fungal keratitis in Fujian province[J]. Chin J Ophthalmol Otorhinol, 2009, 9(4): 238-240.
- [18] 王璐璐,韩雷,张月琴,等. 真菌性角膜炎的临床转归及影响因素分析[J]. 中华实验眼科杂志,2016,34(8):734-738. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 08. 015.
Wang LL, Han L, Zhang YQ, et al. Prognosis of clinical treatment for fungal keratitis and its influence factors[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2016, 34(8): 734-738. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 08. 015.

(收稿日期:2016-06-08)

(本文编辑:尹卫靖 张宇)

读者·作者·编者

本刊对一稿两投的处理

作者投稿请勿一稿两投或一稿多投。本刊编辑部发现一稿两投并经证实后,稿件将不予审理并对作者进行告知。如果发现一稿两用,本刊将做出如下处理:(1)在本刊杂志及网站上刊登撤销该论文及该文系重复发表的声明,并在中华医学会系列杂志上通报。(2)向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。(3)2年内拒绝发表其作为第一作者或通信作者的任何来稿。

文章未在公开发表物上发表者、以不同文字分别投往国外期刊和国内期刊以供不同受众者阅读者不属于一稿两投的行为,但本刊严格遵照国际医学期刊编辑委员会《国际生物医学期刊投稿统一要求》(http://www.icmje.org/urm_main.html),属于以不同语言文字二次发表者,请作者在首次接受稿件的期刊发表后1周再另行投稿,并请提供首次发表期刊同意以不同语言发表的同意函。

(本刊编辑部)