

接触镜储存盒不同处理方式对常见接触镜相关角膜炎病原菌生物被膜的清除作用

王帅¹ 王婧怡² 李玉璜² 邓娟² 苏明泽² 和凌媛² 王璐薇² 李彤²

¹北京大学公共卫生学院卫生检验学系 100191; ²北京大学基础医学院病原生物学系和感染病研究中心 100191

王帅现在首都医科大学附属北京朝阳医院感染和临床微生物科 100020

通信作者:李彤, Email: tongli08@vip. sina. com

【摘要】 目的 评价接触镜相关角膜炎不同病原菌形成生物被膜的能力,并比较角膜接触镜储存盒 (CLC) 不同处理方式对其生物被膜的清除作用。 方法 通过静态生物被膜形成实验,在聚丙烯材质的 CLC 中 37 °C 孵育金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌和白假丝酵母菌 24 h,建立生物被膜模型。根据处理方式分为对照组、室温干燥组、护理液浸泡组、加热干燥组和浸泡加热组,采用系列稀释微量计数法测定各组生物被膜生物量,并计算生物被膜杀灭率。 结果 4 个实验菌株均可在 CLC 内壁形成生物被膜。金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌和白假丝酵母菌形成生物被膜的生物量分别为 (10.78±2.12)、(9.19±0.57)、(8.03±0.30) 和 (7.50±0.07) lg CFU/ml;其中金黄色葡萄球菌形成生物被膜的生物量明显高于其他菌株,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。加热干燥组和浸泡加热组各菌株生物被膜生物量均低于相应对照组,护理液浸泡组金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌生物被膜生物量低于相应对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。加热干燥处理对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌和白假丝酵母菌的杀灭率分别为 (51.76±16.75)%、(68.63±4.43)%、(83.51±13.97)% 和 (97.13±5.19)%,总体比较差异有统计学意义 ($F = 31.806, P < 0.001$);各菌杀灭率两两比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。室温干燥处理对各病原菌生物被膜的杀灭率总体比较差异无统计学意义 ($F = 0.620, P = 0.606$)。浸泡加热处理对大肠埃希菌和白假丝酵母菌的杀灭率分别为 (100.00±0.00)% 和 (97.79±7.67)%,均明显高于其对金黄色葡萄球菌的 (81.13±14.86)% 和对铜绿假单胞菌的 (74.22±11.91)%,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。 结论 加热处理或者结合使用护理液浸泡处理 CLC 可显著提高对实验菌株生物被膜的杀灭作用,有效清除 CLC 中的细菌或真菌污染。

【关键词】 感染性角膜炎;角膜接触镜储存盒;生物被膜;加热

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2020.03.004

Different contact lens case treatment methods for the elimination of pathogen biofilms associated with contact lens related microbial keratitis

Wang Shuai¹, Wang Qiangyi², Li Yutang², Deng Juan², Su Mingze², He Lingyuan², Wang Luwei², Li Tong²

¹Department of Laboratorial Science and Technology, School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China; ²Department of Microbiology and Infectious Disease Center, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China

Wang Shuai is working at Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Beijing Chao-Yang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China

Corresponding author: Li Tong, Email: tongli08@vip. sina. com

【Abstract】 Objective To investigate the biofilm-forming abilities of pathogens associated with contact lens related microbial keratitis and to compare the efficacies of different treatments in eliminating biofilms in contact lens cases (CLCs). **Methods** *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* biofilm formation in polypropylene CLCs was examined by using a static biofilm formation model, which was incubated at 37 °C for 24 hours. According to the CLC treatment methods, the experimental groups were divided into a control group, a room temperature air-drying group, a contact lens care solution soaking group, a heat-drying group and a soaking-heating group. A pathogen colony counting-based serial dilution micro-counting method was applied to

evaluate the biofilm elimination efficacies and pathogen killing rates of treatments. **Results** All four tested strains formed biofilms on the inner walls of the CLC, and the biomasses of *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* and *C. albicans* biofilm were (10.78±2.12), (9.19±0.57), (8.03±0.30), and (7.50±0.07) lg CFU/ml, respectively. The *S. aureus* biofilm biomass was significantly higher than those of the other strains ($P<0.05$). The biofilm biomasses of all the tested strains in the heat-drying and the soaking-heating groups were significantly lower than those in the control group (all at $P<0.05$); and the biofilm biomasses of *S. aureus* and *E. coli* in the soaking group were significantly lower than that in the control group (all at $P<0.05$). The heat-drying treatment resulted in a killing rate of (51.76±16.75)% for *S. aureus*, (68.63±4.43)% for *P. aeruginosa*, (83.51±13.97)% for *E. coli*, and (97.13±5.19)% for *C. albicans*, respectively ($F = 31.806, P < 0.001$). Significant differences were observed between the killing rates for each bacterium (all at $P<0.05$). The *E. coli* and *C. albicans* killing rates of the soak-heating treatment were (100.00±0.00)% and (97.79±7.67)%, respectively, and were significantly higher than (81.13±14.86)% of *S. aureus* and (74.22±11.91)% of *P. aeruginosa* (all at $P<0.05$). **Conclusions** Heating alone or combined with the use of contact lens care solution treatment can improve the pathogen killing rates and effectively eliminate the bacterial and fungal contaminations in CLCs.

[Key words] Microbial keratitis; Contact lens cases; Biofilm; Heating

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2020.03.004

感染性角膜炎是临床眼科常见疾病,也是引起视力损伤的主要原因,严重时可导致角膜穿孔、眼内炎,甚至盲^[1]。随着角膜接触镜的广泛应用,其已成为感染性角膜炎的主要诱因,所致疾病被称为接触镜相关角膜炎(contact lens-related microbial keratitis, CLMK)^[2]。CLMK 主要是由镜片佩戴不当、镜片清洁护理不当和储存盒污染所致^[3]。常见 CLMK 的致病菌为革兰阳性球菌、革兰阴性杆菌等^[4-5]。角膜接触镜储存盒(contact lens case, CLC)是病原菌污染的潜在来源,但常常被使用者忽视^[6]。病原菌可黏附在 CLC 表面,分泌多糖基质、纤维蛋白、脂蛋白等,将自身包绕其中而形成生物被膜^[7-8]。生物被膜是大多数微生物在自然状态下的生长方式。当微生物处于生物被膜状态时,其生存能力和耐药性常比浮游生长状态更强,难以被彻底清除,从而造成严重感染^[8]。因此,研究 CLMK 相关病原菌体外生物被膜的清除措施对预防感染性角膜炎有重要的临床意义。本研究在建立 CLMK 常见病原菌生物被膜的基础上,比较不同病原菌在 CLC 表面形成生物被膜的能力,并评价不同处理措施对生物被膜的清除效果,为预防 CLMK 和研究病原菌生物被膜清除策略提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验菌株 实验菌株金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) ATCC 6538、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) ATCC 9027、大肠埃希菌(*Escherichia coli*) ATCC 8739 和白假丝酵母菌(*Candida albicans*) ATCC 10231 均购自中国普通微生物

菌种保藏管理中心,为中华人民共和国医药行业标准(ISO 14729:2001,MOD)《眼科光学 接触镜护理产品》第 3 部分《微生物要求和试验方法及接触镜护理系统》中要求检测的主要微生物菌种^[9]。

1.1.2 主要试剂及仪器 角膜接触镜护理液(美国爱尔康公司)。酶标仪(美国 Bio-Rad 公司);CLC、镜片温控养护器(北京科林视野科贸有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 菌种培养 配制 Luria-Bertani (LB) 培养基(含 10 g/L 胰蛋白胨、5 g/L 酵母提取物、10 g/L 氯化钠)用于金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和大肠埃希菌培养。配制 Yeast Extract Peptone Dextrose (YPD) 培养基(含 10 g/L 酵母提取物、20 g/L 蛋白胨、20 g/L 葡萄糖)用于白假丝酵母菌培养。所有菌株均在 37℃ 条件下振荡培养 12 h,连续传代 3 次后的菌液用于正式实验。

1.2.2 菌悬液的制备 取活化后的菌液 8 000×g 离心 20 min。用自行配制的磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)(含 8 g/L 氯化钠、0.2 g/L 氯化钾、1.15 g/L 磷酸氢二钠、0.2 g/L 磷酸二氢钾)漂洗 2 次,用 PBS 重悬菌体,使用酶标仪检测菌液浓度,菌液浓度调整至 1.0×10⁸ CFU/ml,备用。

1.2.3 生物被膜的建立 参考文献[10-13]方法建立生物被膜:将制备好的菌悬液接种至 2 倍稀释的 LB 或 YPD 液体培养基中,使菌液终浓度约 1.0×10⁷ CFU/ml;向 CLC 孔中加入 2 ml 上述菌液,置于 37℃ 恒温培养箱静置孵育 24 h;弃去孔内液体,用 PBS 轻柔清洗 2 次以去除浮游的菌体,黏附在 CLC 内壁的菌体即为生物被膜微生物。

1.2.4 实验分组处理 根据处理方式将建立的生物被膜分为 5 个组:对照组不做处理;室温干燥组于室温干燥环境下放置 200 min;护理液浸泡组加入角膜接触镜护理液浸泡 6 h;加热干燥组使用镜片温控养护器加热 60 °C 处理 200 min;浸泡加热组加入角膜接触镜护理液浸泡 6 h 后弃去护理液,再使用镜片温控养护器加热 60 °C 处理 200 min。

1.2.5 系列稀释微量计数法测定生物被膜生物量 各组处理完成后,向每个 CLC 孔内加入 1 ml PBS,用无菌刮勺将生物被膜刮下,吹打混匀;以 10 倍梯度稀释菌液,每个梯度取 10 μl 稀释菌液接种至 LB 或 YPD 平板,每个梯度的稀释菌液重复点种 3 次;37 °C 培养 24 h 后,选取菌落数为 3~30 的稀释菌液进行菌落计数(图 1)。每组设置 4 个重复孔。计算各组生物被膜的生物量:生物量(lg CFU/ml)=lg(平均菌落数×稀释倍数×100)。计算生物被膜的杀灭率:杀灭率(%)=(对照组生物量-实验组生物量)/对照组生物量×100%。

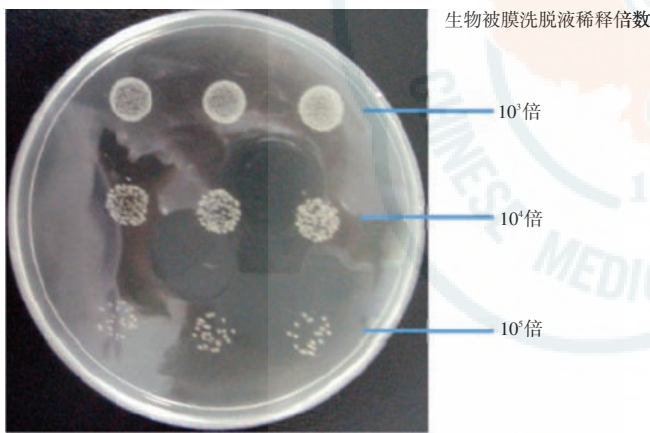


图 1 系列稀释微量计数法测定生物被膜生物量示意图 以大肠埃希菌为例,生物被膜洗脱液经 PBS 梯度稀释后,在 LB 琼脂培养基上微量点种,37 °C 培养 24 h,选取菌落数为 3~30 的稀释倍数用于计数
Figure 1 Schematic illustration of a serial dilution micro-counting method for biofilm biomass measurement Take *E. coli* as an example, the biofilm eluate was serially diluted with PBS, and then spot was inoculated on LB agar culture medium. After 24 hours incubation at 37 °C, the dilution multiples of 3-30 colonies were selected for colony counting

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。各处理组生物被膜的生物量呈正态分布,以 mean±SD 表示。各组生物被膜生物量总体比较以及不同处理条件下各菌株的杀灭率比较采用单因素方差分析,组间多重比较采用 SNK-q 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验菌株在 CLC 中形成生物被膜能力比较

所有实验菌株均可形成生物被膜。金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌和白假丝酵母菌形成生物被膜的生物量分别为(10.78±2.12)、(9.19±0.57)、(8.03±0.30)和(7.50±0.07)lg CFU/ml。不同菌株生物被膜生物量总体比较差异有统计学意义(F=19.088,P<0.001);其中金黄色葡萄球菌形成生物被膜的生物量明显高于其他菌株,差异均有统计学意义(均 P<0.05)。白假丝酵母菌形成生物被膜的生物量与大肠埃希菌比较,差异无统计学意义(P>0.05)(表 1)。

2.2 各处理组对生物被膜的清除作用

各处理组间金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌和白假丝酵母菌生物被膜生物量总体比较,差异均有统计学意义(F=48.214,P<0.001;F=96.908,P=0.002;F=416.620,P<0.001;F=1791.791,P<0.001)。其中加热干燥组和浸泡加热组各菌株生物被膜生物量均低于相应对照组,护理液浸泡组金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和大肠埃希菌生物被膜生物量低于相应对照组,差异均有统计学意义(均 P<0.05);室温干燥组对各实验菌株生物被膜生物量与相应对照组比较,差异均无统计学意义(均 P>0.05)。加热干燥组和浸泡加热组各菌株生物被膜生物量低于相应室温干燥组和护理液浸泡组,差异均有统计学意义(均 P<0.05);护理液浸泡组金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和大肠埃希菌生物被膜生物量低于相应室温干燥组,差异均有统计学意义(均 P<0.05);加热干燥组金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌生物被膜生物量明显高于相应浸泡加热组,差异均有统计学意义(均 P<0.05)(表 1)。

表 1 不同处理组各实验菌株生物被膜生物量比较 (mean±SD,lg CFU/ml)
Table 1 Comparison of the biofilm biomass of tested strains in different treatment groups (mean±SD,lg CFU/ml)

组别	样本量	不同菌株生物被膜生物量			
		金黄色葡萄球菌	铜绿假单胞菌	大肠埃希菌	白假丝酵母菌
对照组	4	10.78±2.12	9.19±0.57	8.03±0.30	7.50±0.07
室温干燥组	4	9.82±1.73	8.41±0.94	7.98±0.38	7.46±0.08
护理液浸泡组	4	6.85±1.88 ^{ab}	7.09±1.24 ^{ab}	5.07±0.68 ^{ab}	7.40±0.18
加热干燥组	4	4.97±1.00 ^{abc}	2.88±0.39 ^{abc}	1.33±1.14 ^{abc}	0.22±0.39 ^{abc}
浸泡加热组	4	2.18±1.85 ^{abcd}	2.38±1.11 ^{abc}	0.00±0.00 ^{abcd}	0.17±0.58 ^{abc}
F 值		48.214	96.908	416.620	1791.791
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^aP<0.05;与室温干燥组比较,^bP<0.01;与护理液浸泡组比较,^cP<0.05;与加热干燥组比较,^dP<0.001(单因素方差分析,SNK-q 检验)

Note: compared with control group,^aP<0.05; compared with room temperature air-drying group,^bP<0.01; compared with contact lens care solution soaking group,^cP<0.05; compared with heat-drying group,^dP<0.001(ANOVA,SNK-q test)

2.3 室温干燥处理对不同实验菌株生物被膜杀灭率的比较

室温干燥处理对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌和白假丝酵母菌生物被膜的杀灭率分别为 $(5.48 \pm 26.94)\%$ 、 $(8.35 \pm 11.93)\%$ 、 $(0.61 \pm 6.03)\%$ 和 $(0.57 \pm 1.13)\%$, 总体比较差异无统计学意义 ($F = 0.620, P = 0.606$) (图 2A)。

2.4 护理液浸泡处理对不同实验菌株生物被膜杀灭率的比较

护理液浸泡处理对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌和白假丝酵母菌生物被膜的杀灭率分别为 $(32.79 \pm 25.85)\%$ 、 $(22.68 \pm 14.77)\%$ 、 $(36.85 \pm 8.02)\%$ 和 $(1.44 \pm 2.48)\%$, 总体比较差异有统计学意义 ($F = 12.457, P < 0.001$); 其中护理液浸泡处理对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌生物被膜的杀灭率均明显高于其对白假丝酵母菌生物被膜的杀灭率, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) (图 2B)。

2.5 加热干燥处理对不同实验菌株生物被膜杀灭率的比较

加热干燥处理对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌和白假丝酵母菌生物被膜的杀灭率分别为 $(51.76 \pm 16.75)\%$ 、 $(68.63 \pm 4.43)\%$ 、 $(83.51 \pm 13.97)\%$ 和 $(97.13 \pm 5.19)\%$, 总体比较差异有统计学意义 ($F = 31.806, P < 0.001$); 加热干燥处理对白假丝酵母菌生物被膜的杀灭率最高, 对金黄色葡萄球菌生物被膜杀灭率最低, 各实验菌株生物被膜杀灭率两两比较, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) (图 2C)。

2.6 浸泡加热处理对不同实验菌株生物被膜杀灭率的比较

浸泡加热处理对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌和白假丝酵母菌生物被膜的杀灭率分别为 $(81.13 \pm 14.86)\%$ 、 $(74.22 \pm 11.91)\%$ 、 $(100.00 \pm 0.00)\%$ 和 $(97.79 \pm 7.67)\%$, 总体比较差异有统计学意义 ($F = 15.914, P < 0.001$); 其中浸泡加热处理对大肠埃希菌和白假丝酵母菌生物被膜的杀灭率均明显高于其对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌生物被膜的杀灭率, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) (图 2D)。

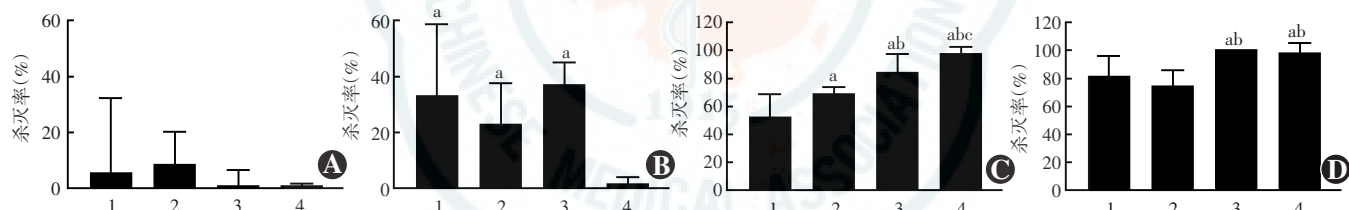


图 2 不同预处理条件下各菌株生物被膜的杀灭率比较 (单因素方差分析, SNK- q 检验, $n = 4$) A: 室温干燥处理对各菌株生物被膜杀灭率的比较 $F = 0.620, P = 0.606$ B: 护理液浸泡处理对各菌株生物被膜杀灭率的比较 $F = 12.457, P < 0.001$. 与白假丝酵母菌杀灭率比较, $^a P < 0.05$ C: 加热干燥处理对各菌株生物被膜杀灭率的比较 $F = 31.806, P < 0.001$. 与金黄色葡萄球菌杀灭率比较, $^a P < 0.01$; 与铜绿假单胞菌杀灭率比较, $^b P < 0.01$; 与大肠埃希菌杀灭率比较, $^c P < 0.01$ D: 浸泡加热处理对各菌株生物被膜杀灭率的比较 $F = 15.914, P < 0.001$. 与金黄色葡萄球菌杀灭率比较, $^a P < 0.01$; 与铜绿假单胞菌杀灭率比较, $^b P < 0.01$ 1: 金黄色葡萄球菌 2: 铜绿假单胞菌 3: 大肠埃希菌 4: 白假丝酵母菌

Figure 2 Comparison of the killing rates of different strains biofilm with different treatment methods (ANOVA, SNK- q test, $n = 4$) A: Comparison of the killing rate under room temperature drying treatment $F = 0.620, P = 0.606$ B: Comparison of the killing rate under with contact lens care solution soaking treatment $F = 12.457, P < 0.001$. Compared with killing rate of *Escherichia coli*, $^a P < 0.05$ C: Comparison of the killing rate under heat-drying treatment $F = 31.806, P < 0.001$. Compared with killing rate of *Staphylococcus aureus*, $^a P < 0.01$; compared with killing rate of *Pseudomonas aeruginosa*, $^b P < 0.01$; compared with killing rate of *Escherichia coli*, $^c P < 0.01$ D: Comparison of the killing rate under soaking and heating treatment $F = 15.914, P < 0.001$. Compared with killing rate of *Staphylococcus aureus*, $^a P < 0.01$; compared with killing rate of *Pseudomonas aeruginosa*, $^b P < 0.01$ 1: *Staphylococcus aureus* 2: *Pseudomonas aeruginosa* 3: *Escherichia coli* 4: *Candida albicans*

3 讨论

根据中国 2014 年多中心横断面调查研究结果显示, 感染性角膜炎的患病率为 0.192%, 是角膜病致盲的首要因素^[14]。随着角膜接触镜的广泛应用, CLMK 成为临床工作者和使用者关注的重要问题。据报道约有 46.2% 感染性角膜炎与细菌感染相关^[15]。细菌性角膜炎常见的病原体包括金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和大肠埃希菌。近年来, 真菌性角膜炎的发病率

呈明显上升趋势, 特别是在热带、亚热带的发展中国家或地区, 有 50% 以上的感染性角膜炎与真菌感染相关^[16-17]。与细菌性感染相比, 真菌性感染对角膜的损伤更为严重, 易发生穿孔, 严重威胁患者视力^[18]。临床上真菌性角膜炎常见的病原体为白假丝酵母菌^[19]。因此, 本研究中纳入这些常见的致病菌作为实验菌株。

日常佩戴角膜接触镜时不良的卫生行为习惯是引起 CLMK 的主要诱因, 包括使用过期的护理液、镜片清洁不当、CLC 污染等^[20]。美国疾病控制预防中心的

调查数据显示,超过 99%的佩戴角膜接触镜的人群存在不良的卫生习惯^[21]。病原体在 CLC 表面形成生物被膜后,比处于浮游生长状态时抗逆性增强,对抗生素、热、干燥、营养缺乏等有更强的抵抗力^[22]。本研究结果显示,常规采用护理液浸泡方式不能完全有效地消除已经形成的生物被膜;加热处理可显著提高对实验菌株生物被膜的杀灭作用,若结合使用护理液,可进一步提高杀灭率。

金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌和白假丝酵母菌是很好的生物被膜形成菌,均能在人体内、医疗器材表面、环境材料表面等形成生物被膜。研究生物被膜清除和杀灭技术是当前临床感染控制研究领域的热点之一^[23-26]。本研究中采用静态生物被膜培养法模拟角膜接触镜使用者日常存储镜片的习惯。本课题组既往研究过不同培养时间(24、48 和 72 h)对细菌生物被膜形成量的影响,发现某些菌株的生物被膜生物量在 24 h 形成高峰,某些菌株的生物量在 48 h 形成高峰^[27]。在本研究中,综合考虑到 CLC 使用者的使用习惯、实验周期、既往研究的经验和便利性等因素,最终采用培养 24 h 作为生物被膜模型建立的条件。参考 Kathwate 等^[10]生物被膜清除的相关研究,本研究采用较高的菌液接种浓度,可在 CLC 表面形成具有显著生物量的生物被膜,在该条件下所建立的生物被膜模型可用于评价不同方法的清除效果。

本研究结果显示,加热干预和护理液浸泡加热干预对较高浓度的不同菌种生物被膜均有较好清除效果,推测同样的干预措施针对实际生活中更低的微生物生物量应可达到理想清除效果。值得注意的是,虽然各种干预处理对铜绿假单胞菌均有一定的清除效果,但杀灭效果不佳,浸泡加热处理方式对铜绿假单胞菌也仅为 74.22%。铜绿假单胞菌不仅可造成严重的急性化脓性角膜溃疡,同时也是引起医院内感染的主要病原菌之一。铜绿假单胞菌可黏附在医用植入物,如血管内导管、导尿管、补片等表面,对多种抗生素耐药,导致植入部位的慢性迁延性感染;其具有较强的生物被膜形成能力及对物理和化学处理措施的较强抵抗力,应引起临床工作者的注意。

综上所述,在实际生活中,单独使用镜片温控养护器加热处理或者结合使用护理液清洁 CLC 可有效清除细菌或真菌污染。随着对病原菌生物被膜研究的深入,相关研究将为临床上控制反复发作的感染性疾病提供新的预防及治疗的理念和思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Austin A, Lietman T, Rose-Nussbaumer J. Update on the management of infectious keratitis[J]. *Ophthalmology*, 2017, 124(11): 1678-1689. DOI: 10.1016/j.ophtha.2017.05.012.
- [2] Cheung N, Nagra P, Hammersmith K. Emerging trends in contact lens-related infections[J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2016, 27(4): 327-332. DOI: 10.1097/ICU.0000000000000280.
- [3] Carnit N, Samarawickrama C, White A, et al. The diagnosis and management of contact lens-related microbial keratitis[J]. *Clin Exp Optom*, 2017, 100(5): 482-493. DOI: 10.1111/exo.12581.
- [4] 杨杰, 汪泽, 温积权, 等. 感染性角膜炎患者的病原菌分布与耐药性分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2016, 26(19): 4497-4499. DOI: 10.11816/en.ni.2016-160703.
Yang J, Wang Y, Wen JQ, et al. Pathogen distribution and drug resistance of infectious keratitis[J]. *Chin J Nosocomiol*, 2016, 26(19): 4497-4499. DOI: 10.11816/en.ni.2016-160703.
- [5] Lakhundi S, Siddiqui R, Khan N A. Pathogenesis of microbial keratitis[J]. *Microb Pathog*, 2017, 104: 97-109. DOI: 10.1016/j.micpath.2016.12.013.
- [6] Wu YT, Wilcox M, Zhu H, et al. Contact lens hygiene compliance and lens case contamination: A review[J]. *Cont Lens Anterior Eye*, 2015, 38(5): 307-316. DOI: 10.1016/j.clae.2015.04.007.
- [7] Hall B J, Jones L. Contact lens cases: the missing link in contact lens safety? [J]. *Eye Contact Lens*, 2010, 36(2): 101-105. DOI: 10.1097/ICL.0b013e3181d05555.
- [8] Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, et al. Biofilms: an emergent form of bacterial life[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(9): 563-575. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.94.
- [9] YY 0719.3-2009 眼科光学 接触镜护理产品 第 3 部分: 微生物要求和试验方法及接触镜护理系统[S].
- [10] Kathwate GH, Shinde RB, Karuppaiy SM. Antiepileptic drugs inhibit growth, dimorphism, and biofilm mode of growth in human pathogen *Candida albicans*[J]. *Assay Drug Dev Technol*, 2015, 13(6): 307-312. DOI: 10.1089/adt.2015.29007.gkhdr.
- [11] Luo J, Dong B, Wang K, et al. Baicalin inhibits biofilm formation, attenuates the quorum sensing-controlled virulence and enhances *Pseudomonas aeruginosa* clearance in a mouse peritoneal implant infection model[J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0176883 [2018-06-11]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28453568>. DOI: 10.1371/journal.pone.0176883.
- [12] Ahn KB, Baik JE, Yun CH, et al. Lipoteichoic acid inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation[J/OL]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 327 [2018-06-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29535693>. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00327.
- [13] Vijay AK, Willcox M, Zhu H, et al. Contact lens storage case hygiene practice and storage case contamination[J]. *Eye Contact Lens*, 2015, 41(2): 91-97. DOI: 10.1097/ICL.0000000000000070.
- [14] Song X, Xie L, Tan X, et al. A multi-center, cross-sectional study on the burden of infectious keratitis in China [J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e113843 [2018-05-24]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25438169>. DOI: 10.1371/journal.pone.0113843.
- [15] Cao J, Yang Y, Yang W, et al. Prevalence of infectious keratitis in Central China [J/OL]. *BMC Ophthalmol*, 2014, 14: 43 [2018-07-22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24690368>. DOI: 10.1186/1471-2415-14-43.
- [16] Lin L, Lan W, Lou B, et al. Genus distribution of bacteria and fungi associated with keratitis in a large eye center located in Southern China [J]. *Ophthalmic Epidemiol*, 2017, 24(2): 90-96. DOI: 10.1080/09286586.2016.1254250.
- [17] Prajna VN, Prajna L, Muthiah S. Fungal keratitis: The aravind experience[J]. *Indian J Ophthalmol*, 2017, 65(10): 912-919. DOI: 10.4103/ijo.IJO_821_17.
- [18] Ansari Z, Miller D, Galor A. Current thoughts in fungal keratitis:

diagnosis and treatment [J]. Curr Fungal Infect Rep, 2013, 7 (3) : 209-218. DOI: 10. 1007/s12281-013-0150-110. 1007/s12281-013-0150-1.

[19] Nielsen SE, Nielsen E, Julian HO, et al. Incidence and clinical characteristics of fungal keratitis in a Danish population from 2000 to 2013 [J]. Acta Ophthalmol, 2015, 93 (1) : 54-58. DOI: 10. 1111/aos. 12440.

[20] Sauer A, Meyer N, Bourcier T. Risk factors for contact lens-related microbial keratitis; a case-control multicenter study [J]. Eye Contact Lens, 2016, 42 (3) : 158-162. DOI: 10. 1097/ICL. 000000000000180.

[21] Cope JR, Collier SA, Rao MM, et al. Contact lens wearer demographics and risk behaviors for contact lens-related eye infections—United States, 2014 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2015, 64 (32) : 865-870.

[22] de la Fuente-Núñez C, Reffuveille F, Fernández L, et al. Bacterial biofilm development as a multicellular adaptation; antibiotic resistance and new therapeutic strategies [J]. Curr Opin Microbiol, 2013, 16 (5) : 580-589. DOI: 10. 1016/j. mib. 2013. 06. 013.

[23] Moormeier DE, Bayles KW. *Staphylococcus aureus* biofilm; a complex developmental organism [J]. Mol Microbiol, 2017, 104 (3) : 365-376.

DOI: 10. 1111/mmi. 13634.

[24] Valentini M, Gonzalez D, Mavridou DA, et al. Lifestyle transitions and adaptive pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Curr Opin Microbiol, 2018, 41 : 15-20. DOI: 10. 1016/j. mib. 2017. 11. 006.

[25] Sharma G, Sharma S, Sharma P, et al. *Escherichia coli* biofilm; development and therapeutic strategies [J]. J Appl Microbiol, 2016, 121 (2) : 309-319. DOI: 10. 1111/jam. 13078.

[26] Chandra J, Mukherjee PK. *Candida* biofilms; development, architecture, and resistance [J/OL]. Microbiol Spectr, 2015, 3 (4) [2019 - 03 - 11]. https://www. ncbi. nlm. nih. gov/pubmed/26350306. DOI: 10. 1128/microbiolspec. MB-0020-2015.

[27] Wang S, Wang Q, Xiao B, et al. Characterization of vaginal *Lactobacillus* strains and their potential antagonistic effects on *Candida albicans* [J]. Brit Microbiol Res J, 2015, 4 (6) : 185-195. DOI: 10. 9734/BMRJ/2015/15116.

(收稿日期: 2019-05-20 修回日期: 2020-01-30)

(本文编辑: 张宇)

读者 · 作者 · 编者

本刊对论文题目的要求

论文题目力求简洁、特异、明确、能准确反映文章主题和特定内容,具有可检索性。中文文题一般以 20 个汉字以内为宜,一般不设副标题,尽量不用标点符号,文题中避免使用不为同行熟知的符号、简称、缩略语和商品名。论著文章和综述须有与中文文题含意一致的英文文题。

书 讯

《学习网课时如何科学用眼防控近视》一书出版发行

由中华医学会眼科学分会视光学组组长吕帆教授和中华医学会眼科学分会副主任委员瞿佳教授共同主编的科普读本《学习网课时如何科学用眼防控近视》一书于 2020 年 2 月由人民卫生出版社正式出版发行。

为了尽量减少因新型冠状病毒肺炎疫情而推迟中小学开学带来的影响,各级教育部门采取互联网线上学习模式达到“停课不停学”的目标。这种学习模式给青少年的近视防控提出了更高的要求,为了引导广大青少年儿童科学用眼,以进一步增强近视的防控意识,温州医科大学附属眼视光医院作为教育部全国综合防控儿童青少年近视专家宣讲团团长单位和国家临床医学研究中心(眼部疾病),组织有关专家编撰了《学习网课时如何科学用眼防控近视》一书。该书以问题为导向,通过 22 个问题一一解答中小学生和最为关心的眼健康、近视防控及相关热点问题,以浅显易懂的语言讲解网课学习时科学用眼以防控近视的科普知识,为中小學生提供“一手抓抗击疫情,一手抓保护眼健康而有效防控近视”的有效方法。

该书采用大幅彩色插画、活泼多样的字体、适当加大字号等设计,适合小朋友们阅读,书中还附赠标准对数远视力表,方便家长在家里为小朋友进行实时视力测量。另外,扫描书中二维码可观看科普动漫短视频和预防近视护眼健身操视频。该书为小 16 开,全书共 13 千字,彩色印刷,定价 18.00 元。全国各大新华书店、医药书店、当当网、卓越亚马逊网均有售,也可登陆人民卫生出版社网站(<http://www.pmph.com>) 或人卫智网(<http://www.ipmph.com>) 在线购买,或联系人民卫生出版社销售部,电话: 010-597872265/010-59787074。

(胡亮)

