

## 真菌生物膜及其在眼部疾病中的研究进展

王海楠 综述 张弘 审校

哈尔滨医科大学第一医院附属眼科医院 150001

通信作者:张弘,Email:13804505456@163.com

**【摘要】** 难治性真菌感染的临床研究发现,感染病灶的真菌病原体常以生物膜的形式存在。生物膜是一种由菌体产生的细胞外基质包裹着有特定功能和复杂结构的菌细胞群体所形成的结构。生物膜的形成可帮助真菌躲避宿主细胞免疫系统清除和药物的攻击,从而造成持续性感染,威胁人类健康。近年来,已发现生物膜可以在人工晶状体、角膜接触镜、巩膜扣带等眼内植入物表面形成。同时,越来越多的证据表明真菌生物膜在眼内炎、角膜炎等眼部感染性疾病中起重要作用。因此,对真菌生物膜及其与眼部疾病相关性的研究具有重要的临床意义。本文对真菌生物膜的形成及结构、生物膜形成的影响因素、生物膜的耐药机制、治疗策略及其在眼科疾病中的研究进行综述。

**【关键词】** 生物膜; 真菌; 眼部感染; 角膜炎; 植入物相关眼内感染

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (81671844)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2020.03.013

### Research advances regarding fungal biofilms and related ocular diseases

Wang Hainan, Zhang Hong

Eye Hospital, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China.

Corresponding author: Zhang Hong, Email: 13804505456@163.com

**[Abstract]** Clinical studies on refractory fungal infections have revealed that fungal pathogens in infected lesions often existed in the form of biofilms. A biofilm is a complex of microbial communities enclosed in an extracellular matrix. Biofilm formation helps the fungus evade host cellular immune system clearance and the attacks of drugs, causing persistent infections and then threatening human health. In recent years, research has shown that biofilms can form on the surfaces of intraocular lenses, corneal contact lenses, scleral buckles and other intraocular implants. Moreover, growing evidence shows that fungal biofilms play an important role in ocular infectious diseases, such as endophthalmitis and keratitis. Therefore, the study of fungal biofilms and their correlations with ocular diseases is of considerable clinical significance. In this study, we focused on the formation and structure of fungal biofilms, the factors influencing biofilms formation, resistance mechanism, treatment strategies and the association of biofilms in ocular disease.

**[Key words]** Biofilm; Fungi; Ocular infections; Keratitis; Implant-related ocular infections

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81671844)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2020.03.013

近年来,由于免疫抑制剂的广泛使用以及抗生素的滥用,真菌造成的感染性疾病正在不断增多,许多感染反复发作且难以治愈,给人们的生活及健康带来了极大的危害<sup>[1]</sup>。有研究表明,一些迁延难愈的眼部真菌感染可能是由生物膜的形成所导致的<sup>[2]</sup>。生物膜是指微生物附着于有活性或无活性的物质表面,由其自身产生的胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)包裹而形成的有结构的菌细胞群体,是微生物在生长过程中为适应生存环境而形成的一种独特形式<sup>[3]</sup>。本文从真菌生物膜的形成及其结构特点、影响因素、耐药机制、治疗进展及其在眼科疾病中的研究 5 个方面进行综述,以期

为床眼部真菌生物膜感染的研究提供新思路。

### 1 真菌生物膜的形成及其结构特点

真菌生物膜的形成过程主要包括真菌细胞到达适当位置、进行黏附、分泌基质进而形成微菌落、最终形成成熟的生物膜并扩散。以白念珠菌为例,其生物膜形成的具体过程可分为 3 阶段:(1)早期 最初的 2 h,白念珠菌以芽生孢子的形态附着于支撑物表面,4 h 后开始形成芽管,出现分散的微菌落并逐渐融合;(2)中期 主要特点是 EPS 的出现,膜状物覆盖在真菌微菌落表面,随着时间不断增多,直到将真菌细胞完全包裹;

(3)成熟期 形成在 EPS 包裹下的由孢子、菌丝和假菌丝共同组成的致密三维网状系统<sup>[4]</sup>。

EPS 结构复杂,其主要组成成分是胞外多糖,包括  $\alpha$ -甘露聚糖、 $\beta$ -1,6-葡聚糖和  $\beta$ -1,3-葡聚糖,而这些多糖影响生物膜的形成过程、成熟生物膜的结构以及耐药性<sup>[5-6]</sup>。了解生物膜在感染中的形成过程及结构特点将有助于对临床眼部真菌感染的治疗。

## 2 真菌生物膜形成的影响因素

真菌生物膜的形成受多种因素的影响,探索这些影响因素可以帮助我们更好地了解和解析真菌产生耐药性的机制及其影响因素,为更好地控制真菌感染和减少其耐药性的发生提供充分的研究依据。

### 2.1 周围环境

不同的附着物对真菌生物膜的结构、形态和厚度有很大的影响。Estivill 等<sup>[7]</sup>评估了 5 种念珠菌在 3 种临床材料上形成生物膜的能力,发现所有测试菌株均能形成生物膜,且在聚四氟乙烯上形成生物膜的能力最强。Andes 等<sup>[8]</sup>使用相同的生物材料分别在体内和体外培养白念珠菌生物膜,发现体内培养形成生物膜所需时间比体外明显缩短。真菌侵入人体后,在宿主细胞、组织或有糖蛋白附着的生物材料表面更易黏附、增生并形成生物膜。

### 2.2 营养成分

真菌生物膜的生长需要多种营养物质的参与,其中糖类、脂类和血清是决定生物膜形成的关键因素。Pereira 等<sup>[9]</sup>发现葡萄糖在白念珠菌生物膜的形成过程中具有重要作用,它可以促进生物膜的形成,但其机制尚不明确。Swindell 等<sup>[10]</sup>在硅树脂材料上培养白念珠菌生物膜,并用扫描电子显微镜和激光扫描共聚焦显微镜进行观察,发现在培养基中加入脂肪乳剂后可增加生物膜的产量并导致生物膜的形态和结构发生改变。

### 2.3 群体感应

群体感应是取决于细胞密度的微生物通信机制,是指微生物间利用胞外信号分子进行相互交流,并实现其调节行为和基因表达的现象,在生物膜形成过程中起着至关重要的作用<sup>[3]</sup>。目前已发现的群体感应信号分子有白念珠菌中的法尼醇、酪醇以及酿酒酵母中的芳香醇苯乙醇和色氨酸。已有研究表明,法尼醇可以影响生物膜形成过程中的多个阶段,包括真菌细胞的黏附过程、成熟生物膜的构建以及生物膜中细胞的分散,并且其抑制生物膜形成的能力与生物膜的时相相关<sup>[11]</sup>。目前,法尼醇抑制生物膜形成的机制尚未完全清楚,仍需进一步研究探讨。酪醇是真菌的另一种群体感应信号分子,可缩短生长滞后期,刺激白念珠菌从酵母相向菌丝体的转化,从而促进生物膜的形成<sup>[12]</sup>,与法尼醇的作用相反。

## 3 真菌生物膜的耐药机制

真菌生物膜的耐药机制复杂,由多种机制共同参与,是一个受多方面调控的动态平衡过程。

### 3.1 生物膜的屏障作用

$\beta$ -1,3-葡聚糖是生物膜三维结构中的主要组成部分,并且在生物膜的耐药机制中起到关键的作用<sup>[13]</sup>。 $\beta$ -1,3-葡聚糖可以整合抗真菌类药物,并形成“药物海绵”,阻止药物到达靶点,同时这种基质葡聚糖可能是念珠菌生物膜感染一个潜在的诊断标志物<sup>[14]</sup>。

### 3.2 生物膜外排泵基因

药物的外排作用导致药物产生耐药性,与白念珠菌相关的 2 类外排泵基因主要是 ATP 结合区转运子 (*CDRI/CDR2*) 基因和易化载体超家族 (*MDR1*) 基因。Baugh 等<sup>[15]</sup>研究发现外排泵基因在生物膜的形成以及 EPS 的合成过程中起到了一定的作用。刘东妹等<sup>[16]</sup>研究发现,在白念珠菌生物膜形成的早中期转录活化因子 TAC1 和外排泵基因可能对氟康唑的耐药起到一定作用。

## 4 真菌生物膜与眼科疾病

### 4.1 生物膜与眼内炎

眼内炎是一种少见的严重眼内感染,它通常由病原体进入眼后段引起,是内眼手术中最具破坏性的并发症之一<sup>[17]</sup>。眼内炎是白内障术后严重的并发症<sup>[18]</sup>。导致术后眼内炎主要的病原体是定植在眼表和眼周的共生微生物<sup>[19]</sup>,病原体在手术过程中进入眼内,附着于人工晶状体表面并形成生物膜。同时,有证据表明这些病原体可以在后囊膜上形成生物膜<sup>[20]</sup>。但由于生物膜发展过程缓慢同时有机体免疫的参与,术后眼内炎的发病率相对较低<sup>[21]</sup>。Mazoteras 等<sup>[22-23]</sup>研究发现,尽管缺少临床或亚临床症状,在白内障术后长期无并发症眼中取出的人工晶状体上仍可发现生物膜;在体外对 5 种不同材料人工晶状体进行研究,最初 3 h 内,亲水性丙烯酸酯和聚甲基丙烯酸甲酯材料人工晶状体表面微生物数量较其他材质人工晶状体低,但 72 h 后各人工晶状体表面微生物数量无明显差异,生物膜的形成和细胞外基质的聚集主要局限于人工晶状体光学表面的边缘。

### 4.2 生物膜与角膜炎

真菌性角膜炎是发展中国家眼部并发症和视力丧失的重要原因之一<sup>[24]</sup>。常见的病原菌是镰刀菌和曲霉菌,其发生的危险因素包括热带或亚热带气候和角膜农作物损伤<sup>[25]</sup>。

**4.2.1 角膜接触镜所致角膜炎** 随着角膜接触镜的广泛应用,其已经成为导致感染性角膜炎的重要危险因素<sup>[26]</sup>。角膜接触镜相关性感染性角膜炎的发生与接触镜的材质和佩戴周期相关,其发生机制主要是病原体黏附并聚集在接触镜表面,形成生物膜,逃避免疫清除机制,释放毒素损伤角膜上皮,同时释放病原体到眼表,引起角膜感染<sup>[27]</sup>。从眼部分离的丝状真菌均能在体外形成生物膜<sup>[28-29]</sup>。Imamura 等<sup>[30]</sup>通过建立了体外与角膜接触镜相关的镰刀菌和白念珠菌生物膜模型发现,临床分离的镰刀菌和白念珠菌在各种类型的角膜接触镜上均可形成生物膜,生物膜对护理液的敏感性明显降低。Retuerto 等<sup>[31]</sup>研究发现,含有过氧化氢的接触镜护理液对镰刀菌生物膜有相对明显的抑制性。因此,角膜接触镜护理液的选择对抑制真菌生物膜的形成具有重要意义。

**4.2.2 感染结晶性角膜病变** 结晶性角膜病变是一种与角膜上皮层和基质层结晶沉积有关的眼部疾病,是由多种原因导致代谢产物积聚而造成角膜组织损伤的疾病<sup>[32]</sup>。感染结晶性角膜病变是一种慢性难治性角膜感染性疾病,可以发生在正常或患病的角膜、角膜植片以及缝线周围,通常与角膜手术,尤其是穿透性角膜移植术和局部应用类固醇药物相关<sup>[33]</sup>。研究表明感染结晶性角膜病变与生物膜的形成过程密切相关<sup>[34]</sup>。Eider 等<sup>[35]</sup>和 Fulcher 等<sup>[36]</sup>分别在感染结晶性角膜病变的标本中发现了白念珠菌生物膜和细菌生物膜。透射电子显微镜观察用钉红固定的角膜样本发现,白念珠菌和细菌周围形成细胞外基质<sup>[37]</sup>。

#### 4.3 生物膜与其他眼内植入物

目前,在青光眼植入管、泪小管栓子、角膜缝线、巩膜扣带和其他眼内植入物中均已发现有生物膜的存在<sup>[38-39]</sup>。Holland 等<sup>[40]</sup>用扫描电子显微镜观察引起感染的巩膜扣带发现,65%的巩膜扣带中存在生物膜。在疾病过程中,生物膜释放的病原体及抗原会引起慢性炎症反应和周围组织的损伤。泪道引流支架是泪囊鼻腔吻合术中的常见植入物,它可为生物膜的生长提供一个良好的环境<sup>[41]</sup>。Yokoi 等<sup>[42]</sup>研究证实了一种急性结膜炎的发生与泪小点栓子上生物膜形成相关。

目前,生物膜与眼部感染性疾病的相关性受到越来越多的重视,生物膜在眼内植入物上的形成给临床治疗带来一定的困难,但与之相关的研究较少见,有效抑制生物膜的方法还有待进一步研究。

### 5 真菌生物膜的治疗进展

形成生物膜后,真菌对常用抗真菌药的敏感性大大降低,临床上采用多种抗真菌药物联合治疗的策略,如两性霉素 B 与氟胞嘧啶、氟胞嘧啶与氟康唑、两性霉素 B 与氟胞嘧啶的联合用药能发挥一定的作用,但其效果仍不显著。因此研究者开始寻找治疗真菌生物膜感染的新策略。Schinabeck 等<sup>[43]</sup>发现两性霉素 B 脂质体对白念珠菌生物膜感染的动物模型具有抗菌作用。Martins 等<sup>[44]</sup>研究表明,生物膜胞外基质中的 DNA 参与维持生物膜结构的稳定,将 DNA 酶与传统抗真菌药联合应用可破坏生物膜的结构。Sengupta 等<sup>[45]</sup>研究发现乳铁蛋白 B 与抗真菌药物联合应用能增强角膜接触镜上形成的常见角膜炎病原真菌生物膜对抗真菌药物的敏感性。抗真菌生物膜新型药物的研发给眼部真菌生物膜感染性疾病带来了新的治疗思路,但其研究仍在初级阶段,需结合眼部感染的特征进行深入地探索。

### 6 总结

目前,我们对生物膜的认识已经越来越深入,生物膜所引起的感染越来越受重视,由于其形成过程相对复杂且耐药机制尚未完全清楚,因此,临床上与生物膜相关疾病的治疗存在很大的困难。现已有实验研究证实真菌生物膜与眼科感染性疾病相关,接触眼表和植入眼内的生物材料表面均可形成真菌生物膜并引起眼部感染,导致病程迁延不愈。因此,对真菌生物

膜的研究显得尤为重要,但目前其研究还相对较少,有效抑制真菌生物膜的方法较少,还有待进一步研究。深入开展眼科真菌生物膜的研究将为临床治疗真菌感染性眼病提供新的思路和方法。

**利益冲突** 所有作者声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Williams C, Ramage G. Fungal biofilms in human disease [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2015, 831: 11-27. DOI: 10.1007/978-3-319-09782-4\_2.
- [2] Harding MW, Marques LL, Howard RJ, et al. Can filamentous fungi form biofilms? [J]. *Trends Microbiol*, 2009, 17(11): 475-480. DOI: 10.1016/j.tim.2009.08.007.
- [3] Del Pozo JL, Cantón E. Candida biofilm-related infections [J]. *Rev Iberoam Micol*, 2016, 33(3): 176-183. DOI: 10.1016/j.riam.2015.06.004.
- [4] Chandra J, Mukherjee PK. Candida biofilms: development, architecture, and resistance [J/OL]. *Microbiol Spectr*, 2015, 3(4): e1 [2019-03-22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26350306>. DOI: 10.1128/microbiolspec.MB-0020-2015.
- [5] Mitchell KF, Zarnowski R, Sanchez H, et al. Community participation in biofilm matrix assembly and function [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(13): 4092-4097. DOI: 10.1073/pnas.1421437112.
- [6] Sheppard DC, Howell PL. Biofilm exopolysaccharides of pathogenic fungi: lessons from bacteria [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(24): 12529-12537. DOI: 10.1074/jbc.R116.720995.
- [7] Estivill D, Arias A, Torres-Lana A, et al. Biofilm formation by five species of *Candida* on three clinical materials [J]. *J Microbiol Methods*, 2011, 86(2): 238-242. DOI: 10.1016/j.mimet.2011.05.019.
- [8] Andes D, Nett J, Oschel P, et al. Development and characterization of an *in vivo* central venous catheter *Candida albicans* biofilm model [J]. *Infect Immun*, 2004, 72(10): 6023-6031. DOI: 10.1128/IAI.72.10.6023-6031.2004.
- [9] Pereira L, Silva S, Ribeiro B, et al. Influence of glucose concentration on the structure and quantity of biofilms formed by *Candida parapsilosis* [J/OL]. *FEMS Yeast Res*, 2015, 15(5): f0v043 [2019-02-19]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26071437>. DOI: 10.1093/femsyr/f0v043.
- [10] Swindell K, Lattif AA, Chandra J, et al. Parenteral lipid emulsion induces germination of *Candida albicans* and increases biofilm formation on medical catheter surfaces [J]. *J Infect Dis*, 2009, 200(3): 473-480. DOI: 10.1086/600106.
- [11] Deveau A, Hogan DA. Linking quorum sensing regulation and biofilm formation by *Candida albicans* [J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 692: 219-233. DOI: 10.1007/978-1-60761-971-0\_16.
- [12] Cordeiro Rde A, Teixeira CE, Brillhante RS, et al. Exogenous tyrosol inhibits planktonic cells and biofilms of *Candida* species and enhances their susceptibility to antifungals [J/OL]. *FEMS Yeast Res*, 2015, 15(4): f0v012 [2019-02-21]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25795651>. DOI: 10.1093/femsyr/f0v012.
- [13] Nett J, Lincoln L, Marchillo K, et al. Putative role of beta-1,3 glucans in *Candida albicans* biofilm resistance [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(2): 510-520. DOI: 10.1128/AAC.01056-06.
- [14] Nett JE, Sanchez H, Cain MT, et al. Genetic basis of *Candida* biofilm resistance due to drug-sequestering matrix glucan [J]. *J Infect Dis*, 2010, 202(1): 171-175. DOI: 10.1086/651200.
- [15] Baugh S, Ekanayaka AS, Piddock LJ, et al. Loss of or inhibition of all multidrug resistance efflux pumps of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium results in impaired ability to form a biofilm [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2012, 67(10): 2409-2417. DOI: 10.1093/jac/dks228.
- [16] 刘东妹, 满旭, 李春莉, 等. TAC1 与外排泵基因对白念珠菌生物膜形成的影响 [J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2014, 28(5): 467-471. DOI: 10.13735/j. ejdv. 1001-7089. 2014. 0467.

Liu DM, Man X, Li CL, et al. The Influence of TAC1 and efflux pump



- genes on candida albicans biofilm formation [J]. Chin J Dermatovenereol, 2014, 28 (5) : 467-471. DOI: 10. 13735/j. cjdv. 1001-7089. 2014. 0467.
- [17] Hashemian H, Mirshahi R, Khodaparast M, et al. Post-cataract surgery endophthalmitis; brief literature review [J]. J Curr Ophthalmol, 2016, 28(3) : 101-105. DOI: 10. 1016/j. joco. 2016. 05. 002.
- [18] Hashemian H, Mirshahi R, Khodaparast M, et al. Post-cataract surgery endophthalmitis; Brief literature review [J]. J Curr Ophthalmol, 2016, 28(3) : 101-105. DOI: 10. 1016/j. joco. 2016. 05. 002.
- [19] Bannerman TL, Rhoden DL, McAllister SK, et al. The source of coagulase-negative staphylococci in the endophthalmitis vitrectomy study. A comparison of eyelid and intraocular isolates using pulsed-field gel electrophoresis [J]. Arch Ophthalmol, 1997, 115 (3) : 357-361. DOI: 10. 1001/archophth. 1997. 01100150359008.
- [20] Adán A, Casaroli-Marano RP, Gris O, et al. Pathological findings in the lens capsules and intraocular lens in chronic pseudophakic endophthalmitis: an electron microscopy study [J]. Eye (Lond), 2008, 22(1) : 113-119. DOI: 10. 1038/sj. eye. 6702615.
- [21] Olson JC, Flynn HW Jr, Forster RK, et al. Results in the treatment of postoperative Endophthalmitis [J]. Ophthalmology, 1983, 90(6) : 692-699. DOI: 10. 1016/S0161-6420(83)34511-5.
- [22] Mazoteras P, Casaroli-Marano RP. *In vitro* biofilm distribution on the intraocular lens surface of different biomaterials [J]. J Cataract Refract Surg, 2015, 41(9) : 1980-1988. DOI: 10. 1016/j. jcrs. 2015. 05. 029.
- [23] Mazoteras P, Quiles MG, Martins Bispo PJ, et al. Analysis of intraocular lens biofilms and fluids after long-term uncomplicated cataract surgery [J]. Am J Ophthalmol, 2016, 169 : 46-57. DOI: 10. 1016/j. ajo. 2016. 06. 012.
- [24] Kredics L, Narendran V, Shobana CS, et al. Filamentous fungal infections of the cornea: a global overview of epidemiology and drug sensitivity [J]. Mycoses, 2015, 58(4) : 243-260. DOI: 10. 1111/myc. 12306.
- [25] Garg P, Roy A, Roy S. Update on fungal keratitis [J]. Curr Opin Ophthalmol, 2016, 27(4) : 333-339. DOI: 10. 1097/ICU. 000000000000272.
- [26] 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. 000000000000280.
- [27] Willcox MD, Carnt N, Diec J, et al. Contact lens case contamination during daily wear of silicone hydrogels [J]. Optom Vis Sci, 2010, 87(7) : 456-464. DOI: 10. 1097/OPX. 0b013e3181e19eda.
- [28] Zhang X, Sun X, Wang Z, et al. Keratitis-associated fungi form biofilms with reduced antifungal drug susceptibility [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(12) : 7774-7778. DOI: 10. 1167/iovs. 12-10810.
- [29] Bispo PJ, Haas W, Gilmore MS. Biofilms in infections of the eye [J]. Pathogens, 2015, 4(1) : 111-136. DOI: 10. 3390/pathogens4010111.
- [30] Imamura Y, Chandra J, Mukherjee PK, et al. Fusarium and Candida albicans biofilms on softcontact lenses: Model development, influence of lens type, and susceptibility to lens care solutions [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(1) : 171-182.
- [31] Retuerto MA, Szczotka Flynn L, He D, et al. Efficacy of care solutions against contact lens-associated Fusarium biofilms [J]. Optom Vis Sci, 2012, 89(4) : 382-391.
- [32] Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen [J]. Nature, 2000, 406(6799) : 959-964.
- [33] Osakabe Y, Yaguchi C, Miyai T, et al. Detection of *Streptococcus* species by polymerase chain reaction in infectious crystalline keratopathy [J]. Cornea, 2006, 25(10) : 1227-1230. DOI: 10. 1097/01. ico. 0000240083. 31432. 70.
- [34] Reiss GR, Campbell RJ, Bourne WM. Infectious crystalline keratopathy [J]. Surv Ophthalmol, 1986, 31(1) : 69-72. DOI: 10. 1016/0039-6257(86)90053-6.
- [35] Eider MJ, Matheson M, Stapleton F, et al. Biofilm formation in infectious crystalline keratopathy due to *Candida albicans* [J]. Cornea, 1996, 15(3) : 301-304.
- [36] Fulcher TP, Dart JK, McLaughlin-Borlace L, et al. Demonstration of biofilm in irrefractive crystalline keratopathy using ruthenium red and electron microscopy [J]. Ophthalmology, 2001, 108(6) : 1088-1092.
- [37] Fulcher TP, Dart JK, McLaughlin-Borlace L, et al. Demonstration of biofilm in infectious crystalline keratopathy using ruthenium red and electron microscopy [J]. Ophthalmology, 2001, 108(6) : 1088-1092. DOI: 10. 1016/s0161-6420(01)00561-9.
- [38] Taban M, Behrens A, Newcomb RL, et al. Acute endophthalmitis following cataract surgery: a systematic review of the literature [J]. Arch Ophthalmol, 2005, 123(5) : 613-620.
- [39] West ES, Behrens A, McDonnell PJ, et al. The incidence of endophthalmitis after cataract surgery among the U. S. Medicare population increased between 1994 and 2001 [J]. Ophthalmol, 2005, 112(8) : 1388-1394. DOI: 10. 1016/j. ophtha. 2005. 02. 028.
- [40] Holland SP, Pulido JS, Miller D, et al. Biofilm and scleral buckle-associated infections. A mechanism for persistence [J]. Ophthalmology, 1991, 98(6) : 933-938.
- [41] Samimi DB, Bielory BP, Miller D, et al. Microbiologic trends and biofilm growth on explanted periorbital biomaterials: a 30-year review [J]. Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 2013, 29(5) : 376-381. DOI: 10. 1097/IOP. 0b013e31829a7313.
- [42] Yokoi N, Okada K, Sugita J, et al. Acute conjunctivitis associated with biofilm formation on a punctal plug [J]. Jpn J Ophthalmol, 2000, 44(5) : 559-560. DOI: 10. 1016/S0021-5155(00)00214-8.
- [43] Schinabeck MK, Long LA, Hossain MA, et al. Rabbit model of *Candida albicans* biofilm infection: liposomal amphotericin B antifungal lock therapy [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(5) : 1727-1732. DOI: 10. 1128/aac. 48. 5. 1727-1732. 2004.
- [44] Martins M, Uppuluri P, Thomas DP, et al. Presence of extracellular DNA in the *Candida albicans* biofilm matrix and its contribution to biofilms [J]. Mycopathologia, 2010, 169(5) : 323-331. DOI: 10. 1007/s11046-009-9264-y.
- [45] Sengupta J, Saha S, Khetan A, et al. Effects of lactoferricin B against keratitis-associated fungal biofilms [J]. J Infect Chemother, 2012, 18(5) : 698-703. DOI: 10. 1007/s10156-012-0398-3.

(收稿日期: 2019-04-01 修回日期: 2020-02-08)

(本文编辑: 张宇)

读者 · 作者 · 编者

## 本刊对实验研究中动物使用方面的要求

为了提高实验研究论文中实验动物这个基础环节在国际上的认可度,本刊要求作者投稿时提供以下相应信息:(1)实验动物的种属、来源、一般信息及饲养条件;(2)实验动物的等级;(3)实验所遵循的相关实验动物保护条例或法规的具体名称以及颁布的机构名称。

(本刊编辑部)