

## 睑缘炎分离细菌和体外药物敏感性的研究

王颖 卢弘

**【摘要】** **背景** 睑缘炎是诱发其他眼表疾病的重要因素,研究认为细菌感染在慢性睑缘炎的发生过程中起着重要作用,明确引起感染的细菌类型和有效抗菌药物对于睑缘炎的防治有重要的临床意义。 **目的** 对睑缘炎患者的睑板腺分泌物和结膜囊分泌物进行细菌培养,探讨睑缘炎的细菌类型及药物敏感性。 **方法** 采用前瞻性研究设计。纳入 2006 年 12 月至 2012 年 12 月在北京朝阳医院眼科门诊确诊的前睑缘炎和后睑缘炎患者各 45 例,并纳入同期拟行准分子激光角膜原位磨镶术的首诊近视患者 45 例作为对照,用棉拭子收集患者双眼结膜囊分泌物和睑板腺按摩后排出的分泌物,采用肉汤培养基进行细菌培养,分别计算睑板腺分泌物和结膜囊分泌物中不同细菌的眼数分布;然后将细菌转种于血琼脂平板培养基,采用 M-H 培养基纸片扩散法进行药物敏感性试验,分别检查对红霉素、庆大霉素、妥布霉素、利福平、左氧氟沙星敏感的菌株及其敏感率。 **结果** 前睑缘炎组、后睑缘炎组和对照组间标本中的细菌总阳性率分别为 81.1%、76.1% 和 65.0%,总体比较差异有统计学意义( $\chi^2=12.80, P=0.00$ );前睑缘炎组和后睑缘炎组睑板腺分泌物细菌阳性率分别为 84.4% 和 78.8%,均明显高于对照组的 67.8%,3 个组间差异有统计学意义( $\chi^2=7.30, P=0.03$ );前睑缘炎组、后睑缘炎组和对照组结膜囊分泌物的细菌阳性率分别为 77.8%、73.3% 和 62.2%,3 个组间差异无统计学意义( $\chi^2=5.60, P=0.06$ )。3 个组标本中的细菌谱相似,以表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、棒状杆菌多见,但对照组未检出前睑缘炎组和后睑缘炎组标本中均存在的肺炎链球菌和革兰阴性杆菌。检出的表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌对庆大霉素、妥布霉素、利福平敏感,敏感率>70%,但对左氧氟沙星和红霉素不敏感。棒状杆菌对上述药物的敏感率较高。肺炎链球菌对红霉素和妥布霉素较为敏感,而革兰阴性杆菌对上述 5 种药物敏感率较低。 **结论** 细菌参与睑缘炎的发病,睑缘炎患者眼部分泌物中的细菌阳性率、细菌种类及其药物敏感性均不同于正常人,治疗时应合理应用抗菌药物。

**【关键词】** 睑缘炎; 细菌培养; 药物敏感性试验

**Bacterial isolates and *in vitro* antimicrobial susceptibility in blepharitis** Wang Ying, Lu Hong. Department of Ophthalmology, Beijing Chaoyang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China  
Corresponding author: Lu Hong, Email: honglu111@gmail.com

**【Abstract】** **Background** Blepharitis is an induce factor for multiple ocular surface diseases. Research showed that bacteria play an important role in the pathogenesis of blepharitis. To make sure the pathogenic bacteria and effective antimicrobial agents are of clinical significance for the prevention and treatment of blepharitis.

**Objective** The purpose of this study was to investigate the bacterial isolates of conjunctival sac secretion and meibomian secretion in the patients with blepharitis and study their *in vitro* antimicrobial susceptibility. **Methods** Forty-five patients with anterior blepharitis and 45 cases with posterior blepharitis were included in Beijing Chaoyang Hospital from December 2006 to December 2012, and 45 patients for laser in situ keratomileusis were enrolled in the same period as control group. The secretions of the conjunctival sac and meibomian were collected with sterile cotton swab, and bacterial isolates were cultured in bouillon culture-medium. The number of eyes with different bacteria was examined and calculated. Then the bacteria were switched to blood agar plates, and antimicrobial susceptibility test to erythromycin, gentamicin, tobramycin, rifampin, levofloxacin were performed by Mueller Hinton (M-H) medium paper method. **Results** The total germiculture positive rates were 81.1%, 76.1% and 65.0% in the anterior blepharitis group, posterior blepharitis group and the control group, showing a significant difference among them ( $\chi^2=12.80$ ,

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.07.015

作者单位:100020 首都医科大学附属北京朝阳医院眼科

通讯作者:卢弘, Email: honglu111@gmail.com

$P=0.00$ ). The germiculture positive rates in meibomian secretion were 84.4% and 78.8% in the anterior blepharitis group and the posterior blepharitis group, which were significantly higher than 67.8% in the control group ( $\chi^2=7.30$ ,  $P=0.03$ ). There was no statistically significant difference in the germiculture positive rate of conjunctival sac section among the three groups (77.8%, 73.3% and 62.2%) ( $\chi^2=5.60$ ,  $P=0.06$ ). The main bacteria in conjunctival sac secretion and meibomian secretion were *staphylococcus epidermidis*, *staphylococcus aureus* and *corynebacterium* in all the subjects, but *streptococcus pneumoniae* and gram-negative bacillus were not detected in the control group. *Staphylococcus* showed the highest susceptibility to gentamicin, tobramycin and rifampicin, with the sensitive rate >70%. *Corynebacterium* was susceptible to various drugs. *Streptococcus pneumoniae* had susceptibility to erythromycin and tobramycin. However, Gram-negative bacillus was not susceptible to all the drugs above. **Conclusions** Bacteria participate in the pathogenesis of blepharitis, but the germiculture positive rate, bacterial species and drug susceptibility of bacteria are obviously different between patients with blepharitis and normal population. Reasonable application of antimicrobial agents is important to blepharitis.

[Key words] Blepharitis; Germiculture; Antimicrobial susceptibility test

睑缘炎是常见的外眼疾病,其临床表现复杂多样,近年逐步受到重视。目前,按睑缘炎的形态可将其分为 3 种类型,包括鳞屑性睑缘炎、溃疡性睑缘炎和眦部睑缘炎<sup>[1]</sup>;按睑缘炎发生的解剖位置分为前睑缘炎和后睑缘炎;按睑缘炎的发生机制分为葡萄球菌性、脂溢性、脂溢性混合葡萄球菌性、脂溢性继发睑板腺性和睑板腺角膜结膜炎等<sup>[2]</sup>。Kelly 等<sup>[3]</sup>研究发现前睑缘炎以睑缘毛囊感染为主要表现,后睑缘炎与睑板腺功能障碍密切相关。研究表明细菌感染是睑缘炎的主要病因之一<sup>[4]</sup>。睑缘炎与睑板腺功能障碍和干眼等在病因、发病机制及临床表现上互为因果、相互影响,严重者可继发角膜结膜病变,极易误诊,对其治疗过程中长期存在滥用抗生素等问题。根据 2011 年《睑板腺功能障碍诊断和治疗》标准,按照睑缘炎的感染部位,分为前睑缘炎和后睑缘炎。前睑缘炎主要以睑缘前唇感染为主,即毛囊及腺体感染为主;后睑缘炎主要是以睑缘后唇感染为主,即睑板腺感染为主,均与细菌感染相关。本研究中对前睑缘炎、后睑缘炎患者双眼结膜囊分泌物及睑板腺按摩排出的脂类分泌物进行细菌培养和药物敏感性试验,观察睑缘炎的细菌谱分布及药物的敏感性,为睑缘炎的临床治疗提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 一般资料

采取前瞻性研究设计,纳入 2006 年 12 月至 2012 年 12 月在北京朝阳医院眼科门诊确诊的前睑缘炎患者 45 例和后睑缘炎患者 45 例,并纳入同期行准分子激光角膜原位磨镶术首诊近视患者 45 例作为对照。排除标准:合并角膜炎、青光眼、视网膜脱离等眼部疾病者;应用抗生素类滴眼液者。前睑缘炎组男 23 例,女 22 例,年龄 20~65 岁,平均(38.6±8.7)岁;后睑缘炎组男 25

例,女 20 例,年龄 28~64 岁,平均(35.6±7.9)岁;对照组男 22 例,女 23 例,年龄 19~55 岁,平均(28.6±6.5)岁。患者对本研究的目的和方法均知情同意。

### 1.2 方法

用棉拭子取患者双眼结膜囊分泌物后,采用盐酸奥布卡因滴眼液点眼行表面麻醉,3 min 后进行睑板腺按摩。采用棉拭子取睑板腺排出的脂类分泌物。前睑缘炎组、后睑缘炎组和对照组各取 90 份,分别将标本送至北京朝阳医院检验科进行常规细菌培养,细菌首先接种在肉汤培养基中,培养 24 h 后转种于血琼脂平板培养基。转种后 24 h 采用 M-H 培养基纸片扩散法进行药物敏感性试验,即选取红霉素、庆大霉素、妥布霉素、利福平、左氧氟沙星药敏纸片(北京天坛生物药品公司)平铺于细菌培养基表面,24 h 后观察抑菌圈直径。判断标准参照美国国家临床实验室标准化委员会标准读取结果,分析细菌对红霉素、庆大霉素、妥布霉素、利福平、左氧氟沙星的敏感性。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计分析。本研究测量指标的数据资料以频数和百分数表示,前睑缘炎组、后睑缘炎组和对照组间总细菌阳性率的眼数分布、睑板腺分泌物细菌阳性率和结膜囊分泌物细菌阳性率的眼数分布的差异比较均应用  $\chi^2$  检验。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组患者结膜囊和睑板腺分泌物细菌培养阳性率

前睑缘炎组与后睑缘炎组患者比较,标本中细菌培养阳性率的差异无统计学意义( $\chi^2=1.34$ ,  $P=0.25$ ),而前睑缘炎组、后睑缘炎组标本中细菌培养阳性率均明显高于对照组,差异均有统计学意义

( $\chi^2 = 11.87, P = 0.00; \chi^2 = 5.35, P = 0.02$ ); 前睑缘炎组患者结膜囊分泌物中细菌阳性率明显高于对照组, 差异均有统计学意义 ( $\chi^2 = 5.19, P = 0.02$ ), 前睑缘炎组患者睑板腺分泌物的细菌阳性率明显高于对照组, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 6.88, P = 0.01$ ) (表 1)。

表 1 3 个组患者不同标本中细菌阳性率的比较 [% (n/N)]

组别	不同菌种的眼数分布		
	表皮葡萄球菌	金黄色葡萄球菌	棒状杆菌
前睑缘炎组	36	18/50.00	10/27.80
后睑缘炎组	30	16/53.30	8/26.70
对照组	28	15/53.60	5/17.90
$\chi^2$	0.106	0.954	5.036
P	0.948	0.621	0.081

( $\chi^2$  检验)

### 2.2 各组患者结膜囊分泌物和睑板腺分泌物中的细菌谱

3 个组睑板腺分泌物中均以表皮葡萄球菌最多, 组间差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 0.144, P = 0.931$ ); 前睑缘炎组以革兰阴性菌为最少, 后睑缘炎组以肺链球菌为最少, 而在对照组均未检出革兰阴性菌和肺链球菌。3 个组革兰阴性菌培养阳性率、肺链球菌培养阳性率比较差异均无统计学意义 ( $\chi^2 = 3.808, P = 0.149; \chi^2 = 3.419, P = 0.181$ ); 金黄色葡萄球菌在 3 个组中均可检出, 其中前睑缘炎组最高, 对照组最低, 3 个组不同细菌眼数比较差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 1.300, P = 0.522$ ); 棒状杆菌培养阳性率在对照组最高, 前睑缘炎组最低, 3 个组不同细菌眼数比较差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 6.569, P = 0.037$ ) (表 2)。

表 2 3 个组患者睑板腺分泌物中不同菌种的眼数分布 (n/%)

组别	标本数	不同菌种的菌株分布				
		表皮葡萄球菌	金黄色葡萄球菌	棒状杆菌	肺链球菌	革兰阴性菌
前睑缘炎组	32	14/43.80	9/28.10	3/9.40	4/12.50	2/6.25
后睑缘炎组	30	13/43.30	6/20.00	5/16.70	2/6.70	4/13.30
对照组	25	12/48.00	4/16.00	9/36.00	-	-
$\chi^2$		0.144	1.300	6.569	3.419	3.808
P		0.931	0.522	0.037	0.181	0.149

注:“-”表示无该菌生长 ( $\chi^2$  检验)

3 个组结膜囊分泌物中均以表皮葡萄球菌最多, 以肺链球菌最少, 仅在前睑缘炎组检出; 革兰阴性菌对照组未检出。金黄色葡萄球菌在 3 个组中均可检出, 其中前睑缘炎组最高, 对照组最低; 棒状杆菌培养阳性率在对照组最高, 前睑缘炎组最低。3 个组表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、棒状杆菌、肺链球菌和革兰阴

性菌检出率比较, 差异均无统计学意义 ( $\chi^2 = 0.106, P = 0.948; \chi^2 = 0.954, P = 0.621; \chi^2 = 5.036, P = 0.081; \chi^2 = 3.292, P = 0.193; \chi^2 = 2.331, P = 0.312$ ) (表 3)。

表 3 3 个组患者结膜囊分泌物中不同菌种的眼数分布 (n/%)

组别	标本数	不同菌种的菌株分布				
		表皮葡萄球菌	金黄色葡萄球菌	棒状杆菌	肺链球菌	革兰阴性菌
前睑缘炎组	36	18/50.00	10/27.80	3/8.03	2/5.60	3/8.30
后睑缘炎组	30	16/53.30	8/26.70	4/13.30	-	2/6.70
对照组	28	15/53.60	5/17.90	8/28.60	-	-
$\chi^2$		0.106	0.954	5.036	3.292	2.331
P		0.948	0.621	0.081	0.193	0.312

注:“-”表示无该菌生长 ( $\chi^2$  检验)

### 2.3 睑缘炎患者标本培养菌株对不同药物的敏感率

对睑缘炎患者标本中检出的菌株进行药物敏感性试验, 表皮葡萄球菌对庆大霉素、妥布霉素、利福平敏感, 其敏感率约为 70.0%, 左氧氟沙星为 42.6%, 而红霉素仅为 37.7%。金黄色葡萄球菌对利福平的敏感率为 70.0%, 对红霉素最不敏感, 为 30.3%。棒状杆菌对上述药物的敏感性高于其他菌株, 对左氧氟沙星的敏感率为 60.0%, 对庆大霉素、红霉素、利福平和妥布霉素的敏感率均超过 70.0%。肺链球菌对红霉素和妥布霉素的敏感率均高于庆大霉素、左氧氟沙星和利福平。革兰阴性杆菌对上述药物的敏感性均较差 (表 4)。

表 4 睑缘炎患者标本培养菌对不同药物敏感的菌株分布 (n/%)

菌种	菌株数	不同敏感药物的菌株分布				
		庆大霉素	红霉素	利福平	妥布霉素	左氧氟沙星
表皮葡萄球菌	61	44/72.1	23/37.7	43/70.5	43/70.5	26/42.6
金黄色葡萄球菌	33	23/70.0	10/30.3	23/70.0	23/70.0	14/42.4
棒状杆菌	15	12/80.0	11/73.3	11/73.3	11/73.3	9/60.0
肺链球菌	8	4/50.0	5/62.5	5/62.5	5/62.5	4/50.0
革兰阴性杆菌	11	6/54.5	5/45.6	5/45.6	5/45.6	6/54.4

### 3 讨论

睑缘炎可引起多种眼表疾病, 如慢性结膜炎、角膜炎、蒸发干眼等。正常睑板腺分泌的脂类中腊脂占 32.3%, 胆固醇脂占 27.3%, 极性脂肪占 15%, 甘油二酯占 7.7%, 三酰甘油占 3.7%, 游离脂肪酸占 2.0%, 游离胆固醇占 1.6%<sup>[5]</sup>, 睑板腺分泌物中存在的细菌有表皮葡萄球菌、痤疮丙酸杆菌、棒状杆菌、金黄色葡萄球菌等。睑缘炎患者睑板腺分泌的游离脂肪酸偏高, 蜡脂比例下降, 胆固醇脂比例升高。与睑板腺分泌物中存在的细菌产生的腊脂酶、胆固醇脂活性增高有

关,而水解的产物胆固醇为细菌的进一步繁殖提供了有利条件,进而引起睑缘炎<sup>[6]</sup>。

本研究中未采用鳞屑性睑缘炎、溃疡性睑缘炎和眦部睑缘炎进行分类,是由于睑缘炎患者进行裂隙灯显微镜检查时,上述分型并不明显。部分睑缘炎患者多种睑缘炎分型同时存在,而部分睑板腺炎的患者未包含于以上 3 种分型中。本研究中按解剖部位进行分类,简单易行,避免了分类混乱和漏诊。

本研究中发现,前睑缘炎组、后睑缘炎组患者的细菌总阳性率、睑板腺分泌物中的细菌阳性率均高于对照组,而 3 个组间结膜囊分泌物中细菌阳性率无明显差别,其原因可能与收集标本前患者长期应用抗生素有关。本研究中还发现患者睑板腺分泌物中的细菌阳性率均高于结膜囊分泌物,与 Olson 等<sup>[7]</sup>的研究一致。前睑缘炎组和后睑缘炎组间患者的细菌总阳性率、睑板腺分泌物的细菌阳性率和结膜囊细菌阳性率的差异均无统计学意义,说明细菌感染是睑缘炎发病的重要原因。前睑缘炎组睑板腺分泌物中和结膜囊分泌物中细菌阳性率均明显高于对照组,与 Yactayo-Miranda 等<sup>[8]</sup>的研究结果类似。Yactayo-Miranda 等<sup>[8]</sup>的研究中对照组结膜囊细菌阳性率为 58%,但睑缘炎组细菌阳性检出率高达 95%,与本研究结果有较大差异,可能是因为纳入患者的年龄不同所致,其平均年龄为(58.2±3.5)岁,而本研究中纳入患者的平均年龄为(36.2±4.8)岁。此外,本研究中发现后睑缘炎组标本中细菌阳性率与对照组比较无明显差异。

在本研究中,从患者标本中检出的细菌主要为表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、棒状杆菌、肺炎链球菌和革兰阴性杆菌,未发现国外研究中常见的痤疮杆菌,可能与本研究采用的细菌培养方法与国外不同有关。Yactayo-Miranda 等<sup>[8]</sup>的研究表明,睑缘炎组患者表皮葡萄球菌的比例为 70.5%,对照组患者表皮葡萄球菌的比例为 82.6%,而本研究发现,睑缘炎组和对照组患者睑板腺分泌物和结膜囊分泌物中表皮葡萄球菌的检出率差异无统计学意义,前睑缘炎组和后睑缘炎组患者金黄色葡萄球菌的检出率均高于对照组。棒状杆菌的检出率与金黄色葡萄球菌则相反,前睑缘炎组和后睑缘炎组患者的检出率均明显低于对照组。

本研究中还对睑缘炎患者眼部分离菌株进行药物敏感性分析,发现分离菌株对妥布霉素的敏感性最高,尤其是表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌,而革兰阴性杆菌对妥布霉素敏感性较差。本研究还发现革兰阳性杆菌和革兰阴性杆菌对于左氧氟沙星的敏感性高于革兰阳性球菌,与孙声桃等<sup>[9]</sup>的研究结果一致。

关于睑缘炎取材与研究目的的关系问题,前睑缘炎多数患者以细菌感染为主,本研究中也显示结膜囊和睑板腺分泌物细菌阳性率均与对照组差异有统计学意义,而后睑缘炎组仅细菌总阳性率与对照组差异有统计学意义,说明后睑缘炎发病中感染只是原因之一。本研究中对不同类型睑缘炎病因进行分析,对标本中菌种进行分类,研究其药物敏感性,以便指导临床合理应用抗菌药物,提高治疗效果。

目前对睑缘及睑板腺功能障碍的认识尚不充分,对睑板腺分泌功能、分泌物成分及睑缘微生物的研究尚不够深入,对睑缘炎的治疗尚无根治的方法。睑缘细菌的存在和菌种对于睑缘炎的发生起着重要作用<sup>[10]</sup>,前睑缘炎的病因以感染为主,而后睑缘炎的发病并非完全由感染所致。前睑缘炎的治疗首选有效的抗菌药物,如妥布霉素等,并且在治疗过程中需进行药物敏感性试验,以便及时调整抗菌药物,而治疗后睑缘炎时,在应用抗菌药物的同时需辅以睑缘清洁及行睑板腺按摩等,同时对相关的眼前节病变进行对症治疗。

## 参考文献

- [1] 刘家琦. 睑缘炎[M]//刘家琦,李凤鸣. 实用眼科学. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 271-272.
- [2] McCulley JP, Dougherty JM, Deneau DG. Classification of chronic blepharitis[J]. *Ophthalmology*, 1982, 89(10): 1173-1180.
- [3] Kelly KN, Gary NF, Anthony JB, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: executive summary[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(10): 1922-1929.
- [4] 王颖, 张文华, 潘志强. 慢性睑缘炎和蒸发过强型干眼症的临床观察[J]. *中华眼科杂志*, 2006, 42(2): 162-165.
- [5] Yakoi N, Takehisa Y, Kinoshita S. Correlation of tear lipid layer interference patterns with the diagnosis and severity of dry eye[J]. *Am J Ophthalmol*, 1996, 122(6): 818-824.
- [6] Arciniega JC, Nadji EJ, Butovich IA. Effects of free fatty acids on meibomian lipid films[J]. *Exp Eye Res*, 2011, 93(4): 452-459. doi: 10.1016/j.exer.2011.06.007.
- [7] Olson R, Donnenfeld E, Bucci FA Jr, et al. Methicillin resistance of *Staphylococcus* species among health care and nonhealth care workers undergoing cataract surgery[J]. *Clin Ophthalmol*, 2010, 4: 1505-1514. doi: 10.2147/OPHT. S14333.
- [8] Yactayo-Miranda Y, Ta CN, He L, et al. A prospective study determining the efficacy of topical 0.5% levofloxacin on bacterial flora of patients with chronic blepharconjunctivitis[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2009, 247(7): 993-998. doi: 10.1007/s00417-009-1039-0.
- [9] 孙声桃, 王丽娅, 张月琴, 等. 近六年眼部分离细菌及体外药物敏感性的变迁[J]. *中华眼科杂志*, 2012, 48(6): 542-547. doi: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2012.06.013.
- [10] Chuang PK, Wang SM, Lin HC, et al. The trend of macrolide resistance and emm types of group A streptococci from children at a medical center in southern Taiwan[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2015, 48(2): 160-167. doi: 10.1016/j.jmii.2013.08.015.

(收稿日期: 2015-03-19)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)