

# 眼部蠕形螨感染影响睑酯菌群组成的相关分析

朱佩燕<sup>1</sup>, 林少钦<sup>1</sup>, 林婉莹<sup>1</sup>, 李牧玲<sup>1</sup>, 范宏英<sup>2</sup>, 林琮希<sup>2</sup>, 冯裕涵<sup>1</sup>, 徐静<sup>1</sup>, 杨娟<sup>1</sup>, 刘琼<sup>1</sup>

**引用:**朱佩燕, 林少钦, 林婉莹, 等. 眼部蠕形螨感染影响睑酯菌群组成的相关分析. 国际眼科杂志 2023;23(1):126-131

**基金项目:**广东省医学科学技术研究基金项目(No. B2022078); 南方医科大学南方医院临床研究专项(No.2019CR009)

**作者单位:**<sup>1</sup>(510515)中国广东省广州市, 南方医科大学南方医院眼科;<sup>2</sup>(510515)中国广东省广州市, 南方医科大学公共卫生学院微生物学系

**作者简介:**朱佩燕, 毕业于南方医科大学, 本科, 主管护师, 研究方向: 眼表疾病、眼科护理。

**通讯作者:**杨娟, 毕业于澳洲弗林德斯大学, 硕士研究生, 主管护师, 科护士长, 研究方向: 眼表疾病、护理管理、眼科护理. 1208919792@qq.com; 刘琼, 毕业于中山大学, 医学博士, 副主任医师, 研究方向: 眼底病和近视防控. gzlq74@163.com

收稿日期: 2022-07-22 修回日期: 2022-12-13

## 摘要

**目的:**探讨眼部蠕形螨感染影响睑酯菌群组成的相关分析。

**方法:**采用非干预性、观察性研究的方法, 选取 2020-07/2021-02 我院 39 例受试者, 根据有无蠕形螨感染或有无睑板腺功能障碍(MGD)将受试者分为三组, 对照组(14例)、睑板腺功能障碍组(MGD组, 14组)、蠕形螨感染组(FM组, 11组)。对三组受试者睑板腺睑酯样本进行 16S rRNA 基因 V3~V4 片段的高通量测序, 测序数据进行生物信息学分析, 以研究眼部蠕形螨受试者睑酯菌群的构成及差异。

**结果:**蠕形螨感染组的假单胞菌属和丛毛单胞菌属丰度均显著高于健康对照组和 MGD 组( $P < 0.05$ ), 罗尔斯通氏菌属丰度显著低于对照组和 MGD 组( $P < 0.05$ )。MGD 组和 FM 组睑酯菌群微生物丰富度、微生物群落多样性显著高于健康对照组( $P < 0.05$ )。

**结论:**蠕形螨感染改变了睑酯菌群的构成, 并提高了睑酯菌群的微生物丰富度和群落多样性。

**关键词:**蠕形螨; 睑酯菌群; 睑板腺功能障碍; 干眼; 相关性分析

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2023.1.25

## Correlation analysis of ocular demodex infection and the composition of meibum lipid flora

Pei-Yan Zhu<sup>1</sup>, Shao-Qin Lin<sup>1</sup>, Wan-Ying Lin<sup>1</sup>, Mu-Ling Li<sup>1</sup>, Hong-Ying Fan<sup>2</sup>, Qiong-Xi Lin<sup>2</sup>, Yu-Han Feng<sup>1</sup>, Jing Xu<sup>1</sup>, Juan Yang<sup>1</sup>, Qiong Liu<sup>1</sup>

**Foundation items:** Medical Science and Technology Research Foundation of Guangdong Province (No. B2022078); Clinical

Research Program of Nanfang Hospital, Southern Medical University (No.2019CR009)

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China;

<sup>2</sup>Department of Microbiology, School of Public Health, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China

**Correspondence to:** Juan Yang. Department of Ophthalmology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. 1208919792@qq.com; Qiong Liu. Department of Ophthalmology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. gzlq74@163.com

Received:2022-07-22 Accepted:2022-12-13

## Abstract

• **AIM:** To investigate the correlation between the ocular demodex infection and the composition of meibum lipid flora.

• **METHODS:** A non-interventional and observational study was performed on recruited 39 patients in our hospital between July 2020 and February 2021. They were divided into control group ( $n = 14$ ), meibomian gland dysfunction (MGD) group ( $n = 14$ ), and demodex group (FM,  $n = 11$ ) according to the presence or absence of demodex infection or MGD. High-throughput sequencing of V3-V4 fragment of 16S rRNA gene was performed on the meibomian ester samples of the three groups of subjects, and bioinformatics analysis was performed on the sequencing data to study the composition and difference of meibum lipid flora in the subjects of ocular demodex.

• **RESULTS:** Pseudomonas and Comamonas in FM group were significantly higher than those in control group and MGD group ( $P < 0.05$ ), while Ralstonia in Demodex infection group was significantly lower than that in control group and MGD group ( $P < 0.05$ ). The microbial richness and community diversity of meibum lipid flora of the MGD group and the FM group were significantly higher than those of the control group ( $P < 0.05$ ).

• **CONCLUSION:** Ocular demodex infection changed the composition of meibum lipid flora and increased the microbial richness and community diversity of meibum lipid flora.

• **KEYWORDS:** demodex; meibum lipid flora; meibomian gland dysfunction; dry eye; correlation analysis

**Citation:** Zhu PY, Lin SQ, Lin WY, et al. Correlation analysis of ocular demodex infection and the composition of meibum lipid flora. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023;23(1):126-131

## 0 引言

眼表共生菌具有与皮肤和肠道菌群相似的功能,可通过竞争性生长维持眼表的稳态,抑制其他致病菌的增殖<sup>[1]</sup>。眼表微环境的细微改变可能使患者易受到条件致病菌的侵袭,增加患者眼表疾病的风险。蠕形螨俗称毛囊虫,是一类广泛寄生于多种宿主的小型寄生虫,存在于人体的蠕形螨为皮脂蠕形螨和毛囊蠕形螨2种<sup>[2]</sup>。其中,毛囊蠕形螨主要寄居于睫毛毛囊,皮脂蠕形螨主要寄居于眼睑相关的皮脂腺和睑板腺<sup>[3]</sup>,是细菌和真菌病原体的载体,其寄生于眼部并引起眼表不适,造成眼表损害,从而诱发眼表疾病<sup>[4]</sup>。目前尚未见蠕形螨感染影响眼表菌群分布相关研究的报道。为了进一步研究眼部蠕形螨感染对眼表菌群的影响,我们对受试者睑板腺睑酯样本进行16S rRNA测序,分析蠕形螨和眼表微生物菌落之间的相互作用。

## 1 对象和方法

**1.1 对象** 选取2020-07/2021-02在南方医科大学南方医院眼科门诊就诊的316例632眼患者作为研究对象。通过询问受试者的基本信息,填写眼表疾病指数(OSDI)问卷调查,完成筛查检查指标包括裂隙灯检查、泪液分泌试验(SIt)、泪膜破裂时间(BUT)、泪河高度及角膜荧光素染色(FL)、睑缘蠕虫检查情况,并利用眼表检查系统观察睑板腺数量及形态进行评分。选取39例受试者睑板腺睑酯样本进行16S rRNA测序。根据有无蠕形螨感染或有无睑板腺功能障碍(MGD)将受试者分为三组,对照组(Con组,从316例632眼中根据以下纳入标准和排除标准选取无眼表蠕形螨感染及睑板腺功能障碍的健康人,14例)、睑板腺功能障碍组(MGD组,有睑板腺功能障碍但无眼表蠕形螨感染的患者,14例)、蠕形螨感染组(FM组,有眼表蠕形螨感染但无睑板腺功能障碍的患者,11例)。本研究已获得南方医科大学南方医院医学伦理委员会批准(伦理号:NFE-2020-089)。

**1.1.1 纳入标准** (1)自愿签署知情同意书;(2)年龄 $\geq 18$ 岁;(3)符合中国干眼专家共识(2020)<sup>[5]</sup>,经生物显微镜检查、裂隙灯检查、SIt、BUT测定及FL检查有/无蠕形螨感染或有/无睑板腺功能障碍者;(4)就诊之前的3mo内,眼部没有发生角膜、结膜、眼睑急性炎症及内眼疾病等主动性炎症反应;(5)就诊之前的3mo内,未曾使用任何滴眼液;(6)没有角膜接触镜配戴史;(7)没有眼部外伤史。

**1.1.2 排除标准** (1)患有甲状腺功能亢进等影响泪液分泌的疾病;(2)有控制不良的糖尿病病史;(3)妊娠期、哺乳期妇女;(4)有精神疾病;(5)有干燥综合征;(6)有出血倾向的慢性疾病。

**1.1.3 MGD的诊断** 参照文献的标准<sup>[6]</sup>,由两名眼科医生基于临床表现对MGD进行独立诊断:(1)超过3mo的眼表症状(眼部干燥、疲劳、灼烧感和/或异物感、沙砾感);(2)裂隙灯检查见睑板腺孔堵塞;(3)睑板腺分泌物的质(睑脂混浊、伴或不伴分泌物中的条絮或颗粒、睑酯黏稠如膏状)和/或量异常。

**1.2 方法** 所有受试者需要在入组前完成相关检查,按照纳入标准进行筛选入组。询问所有受试者的基本信息,包括年龄、性别、体质量、身高和其他疾病史,结果指标为OSDI问卷调查、毛囊蠕形螨检出率、睑缘体征、睑板腺分泌性状、分泌难易程度及睑板腺缺失评分、生物显微镜检查、裂隙灯检查、SIt、BUT测定及FL检查等。

**1.2.1 样本收集** 为了进行菌群分析,每个受试者在样本采集前进行眼部表面麻醉(0.5%盐酸丙美卡因滴眼液)。采集下眼睑前嘱患者眼球向上固视,操作者左手用无菌干棉签轻轻拉开患者下眼睑,右手将无菌棉签伸入下眼睑睑结膜处,作为受力点。用棉签沿睑板腺导管走向从导管开口远端向近端轻轻挤压,将滞留于睑板腺导管内的睑酯挤出,采集睑板腺睑酯标本。采集上眼睑前嘱患者眼球向下固视,操作者左手用无菌干棉签轻轻按压上眼睑,右手将无菌棉签伸入上结膜囊,翻转患者上眼睑,并用棉签固定翻转的睑缘,着力于眶缘,用棉签沿睑板腺导管走向从导管开口远端向近端轻轻挤压,将睑板腺导管内的睑酯挤出,采集睑板腺睑酯标本。收集的样本储存在 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。

**1.2.2 眼表蠕形螨检查** 在裂隙灯显微镜下用倒睫镊分别在上睑和下睑的鼻侧、颞侧、中央各拔取1根睫毛,每个眼睑取3根睫毛(主要选取根部带有脂袖套状分泌物的睫毛或倒睫、乱睫),双眼上下睑共取12根;将拔下的睫毛平行置于载玻片上,加盖盖玻片,在光学显微镜下观察蠕形螨,分别统计每个眼睑3根睫毛上检出蠕形螨的数量及形态<sup>[7]</sup>。若拔出的睫毛根部鳞屑较多,可于载玻片上滴加香柏油进行观察<sup>[4]</sup>,有利于对虫体进行分辨。根据我国蠕形螨睑缘炎诊断和治疗专家共识(2018年)<sup>[8]</sup>,蠕形螨检查阳性诊断标准:(1)各期的蠕形螨均计数在内;(2)成人患者在4个眼睑中的任意1个眼睑蠕形螨计数达到3条/3根睫毛;(3)小于上述标准为可疑阳性。因此,将眼表蠕形螨感染的严重程度分为阴性、可疑阳性和阳性3个级别。

**1.2.3 DNA的提取和测序** 根据DNA提取试剂盒的说明书提取睑板腺睑酯样本基因组DNA,经质检后对样本16S rRNA基因V3~V4可变区进行PCR扩增<sup>[9]</sup>,采用的测序引物为338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。利用Gene Tools Analysis Software(Version4.03.05.0, SynGene)对PCR产物进行浓度对比后,按照等质量原则计算各样品所需体积,将各PCR产物进行混合。

使用E.Z.N.A.<sup>®</sup> GelExtractionKit凝胶回收试剂盒回收PCR混合产物,TE缓冲液洗脱回收目标DNA片段。后续建库按照NEBNext<sup>®</sup> Ultra<sup>™</sup> NA Library Prep Kit for Illumina<sup>®</sup>标准流程进行建库,完成后采用高通量测序平台Miseq对其进行测序。测序数据使用FLASH软件进行拼接,fastp软件进行质控<sup>[10]</sup>,并使用UPARSE<sup>[11]</sup>软件根据97%的相似度对序列进行操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)聚类,获得OTU丰度表。

**1.2.4 数据分析** 采用R语言(version 3.3.1)软件绘制样本群落柱形图(Bar图),利用 $\alpha$ 多样性分析组内菌群的物种多样性,其中richness指数和Chao指数反映群落丰富度,Richness和Chao指数越大,表示该组肠道微生物丰富度越高。Shannon指数反映群落多样性,Shannon指数越大说明群落多样性越高。Simpson指数反映样本的均匀度。采用 $\beta$ 多样性分析比较组间的菌群结构差异,以主坐标分析(principal coordinate analysis biplots, PCoA)结果展示。采用Kruskal-Wallis H检验分析物种组间差异。采用LEfSe(linear discriminant analysis effect size)分析方法对样本组间差异细菌进行线性判别分析(LDA),找出组间产生显著性差异影响的物种。

统计学分析:使用 IBM SPSS Statistics 22.0 和 GraphPad Prism 8.0 进行统计分析和绘图。将得到的数据进行描述性统计时,连续变量使用 Shapiro-Wilk 检验进行正态性检验,符合正态分布采用  $\bar{x} \pm s$  表达,非正态分布采用  $M(P_{25}, P_{75})$  表达,而分类变量以绝对数字和百分比报告。符合正态分布的计量资料,三组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。非正态分布的计量资料三组间比较采用 Kruskal-Wallis *H* 检验;计数资料采用 Fisher 精确检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 受试者基线资料分析** 本研究收集了 39 例受试者的睑酯样本进行检测,其中女性 33 例、男性 6 例,并且均无高血压史、糖尿病史及甲状腺功能亢进史,其余具体信息见表 1。

**2.2 眼表蠕形螨感染患者与对照组睑酯菌群相对丰度的差异** 收集了 39 例受试者的睑酯样本菌群进行 16S rRNA 基因 V3~V4 片段的高通量测序。为了探究蠕形螨感染对睑酯菌群的影响,分别在门和属水平分析了受试者睑酯菌群的相对丰度。菌群相对丰度是指某些细菌的丰度与整体菌群丰度的比率。在常见菌门中,厚壁菌门、变形菌门、放线菌门和拟杆菌门均为对照组、MGD 组和 FM 组的主要细菌(图 1A)。通过门水平上的相对丰度比较发现,三组样本在厚壁菌门( $F = 6.036, P = 0.007$ )和变形菌门( $F = 7.749, P = 0.002$ )丰度的差异具有统计学意义。进一步两两比较显示 FM 组的厚壁菌门丰度显著低于对照组( $P = 0.002$ )和 MGD 组( $P = 0.041$ ),变形菌门丰度显著高于对照组( $P = 0.001$ )和 MGD 组( $P = 0.007$ ),见表 2。

在属的水平上,三组样本的优势菌群存在差异。对照组的前 4 种优势菌属分别为芽孢杆菌属(38%)、棒杆菌属\_1(14%)、葡萄球菌属(13%)和不动杆菌属(11%),MGD 组分别为芽孢杆菌属(22%)、葡萄球菌属(15%)、丙酸菌属(11%)和棒杆菌属\_1(7%),FM 组分别是假单胞菌属(14%)、葡萄球菌属(11%)、不动杆菌属(8%)和棒杆菌属\_1(5%)(图 1B)。通过属水平上的相对丰度比较发现,三组间的假单胞菌属( $F = 13.704, P < 0.001$ )、罗尔斯通氏菌属( $F = 6.140, P = 0.006$ )和丛毛单胞菌属( $F = 10.077, P =$

$0.001$ )的丰度差异具有统计学意义,进一步两两比较显示 FM 组的假单胞菌属丰度显著高于对照组和 MGD 组(均  $P < 0.001$ ),丛毛单胞菌属丰度显著高于对照组( $P < 0.001$ )和 MGD 组( $P = 0.001$ ),罗尔斯通氏菌属丰度显著低于对照组( $P = 0.048$ )和 MGD 组( $P = 0.002$ ),见表 3。

通过 LEfSe 分析科-属水平上的三组样本菌群差异,进一步筛选出组间具有显著差异的标志性微生物。我们检测到健康对照组主要富集芽孢杆菌科、厌氧芽孢杆菌属和莫拉氏菌科,MGD 组主要富集丙酸杆菌属、丙酸杆菌属和棒状杆菌属等 10 个菌群,FM 组主要富集奈瑟氏菌科、假单胞菌科和假单胞菌属等 17 个菌群(LDA>4),见图 2。

## 2.3 眼表蠕形螨感染患者与对照组睑酯菌群多样性分析

对三组睑酯样本进行微生物群落 OTU 数量分析,经优化后三组睑板腺分泌物 DNA 共获得 3 715 104 条有效序列,OTU 聚类分析得到对照组共产生 820 个 OTU,MGD 组的 OTU 数目为 867 个,与对照组接近,而 FM 组相比其余两组具有更丰富的 OTU,总计 1 561 个(图 3)。采用 4 个指标(Richness、Chao、Simpson 和 Shannon)进行三组间睑酯菌群的多样性分析。

三组间的 Richness( $F = 4.929, P = 0.015$ )和 Chao( $F = 4.997, P = 0.014$ )指数差异存在统计学意义,两两比较显示 FM 组样品的 Richness( $P = 0.004$ )和 Chao( $P = 0.004$ )指数均显著高于对照组,提示 FM 组样品的微生物丰富度显著高于对照组(图 4A、B)。三组样品的 Simpson 指数无明显差异,提示三组均匀度没有显著差异( $F = 1.755, P = 0.192$ ,图 4C)。三组间的 Shannon 指数差异存在统计学意义( $F = 3.730, P = 0.037$ ),两两比较显示 FM 组样品的 Shannon 指数显著高于对照组( $P = 0.013$ ),提示 FM 组样品的微生物群落多样性显著高于对照组(图 4D)。

利用 unweighted UniFrac distances 计算  $\beta$  多样性分析指数。PCoA 分析发现三组样本微生物群落组成存在明显差异(Adonis, $P = 0.003$ ),第一主成分和第二主成分的贡献率分别为 10.5%和 6.4%。组间差异性分析显示,FM 组的群落组成与对照组( $P = 0.001$ )和 MGD 组( $P = 0.015$ )均存在显著差异(图 5)。

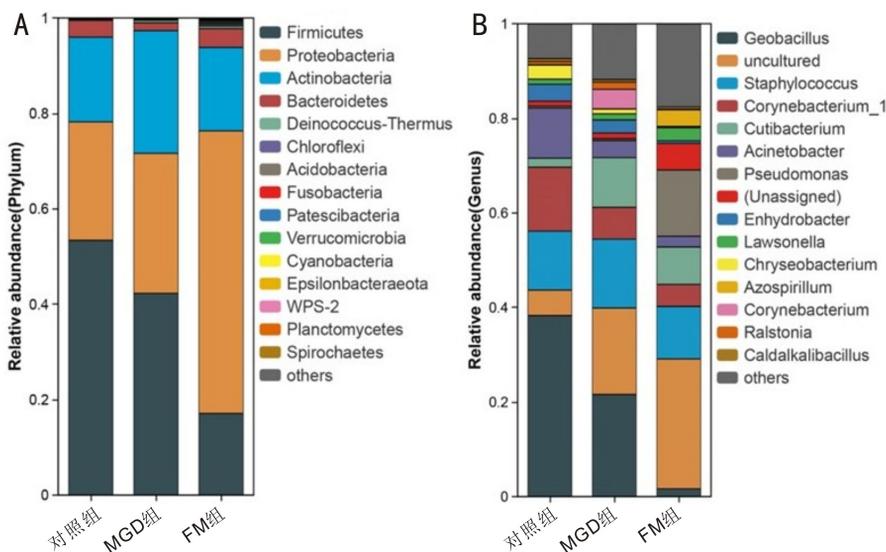


图 1 睑酯菌群分布比较 A:门水平的菌群分布比较;B:属水平的菌群分布比较。

表1 受试者基线资料

组间	例数	年龄 [ $M(P_{25}, P_{75})$ , 岁]	性别 (男/女, 例)	BMI [ $M(P_{25}, P_{75})$ , kg/m <sup>2</sup> ]	吸烟史 (例)	饮酒史 (例)	眼部手术史 (例)
对照组	14	38(31.5, 45.3)	3/11	21.3(20.7, 23.4)	1	3	1
MGD组	14	31.5(28.5, 40.5)	1/13	19.9(19, 21.1)	0	1	1
FM组	11	27(26, 38)	2/9	20(18.6, 22.3)	1	2	0
统计值		4.339	-	3.756	-	-	-
P		0.114	0.637	0.153	0.735	0.637	1

注:对照组:无眼表蠕形螨感染及睑板腺功能障碍的健康人;MGD组:有睑板腺功能障碍但无眼表蠕形螨感染的患者;FM组:有眼表蠕形螨感染但无睑板腺功能障碍的患者。-:采用 Fisher 确切概率法。

表2 门水平上的菌群丰度比较

组别	厚壁菌门	变形菌门	放线菌门	拟杆菌门
对照组	0.534±0.278 <sup>a</sup>	0.248±0.134 <sup>a</sup>	0.177±0.224	0.034±0.086
MGD组	0.422±0.249 <sup>a</sup>	0.293±0.206 <sup>a</sup>	0.257±0.157	0.016±0.014
FM组	0.171±0.145	0.592±0.263	0.174±0.153	0.039±0.052

注:对照组:无眼表蠕形螨感染及睑板腺功能障碍的健康人;MGD组:有睑板腺功能障碍但无眼表蠕形螨感染的患者;FM组:有眼表蠕形螨感染但无睑板腺功能障碍的患者。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs FM组。

表3 属水平上的菌群丰度比较

组别	丙酸杆菌属	假单胞菌属	金黄杆菌属	罗尔斯通氏菌属	丛毛单胞菌属
对照组	0.019±0.017	0.004±0.005 <sup>a</sup>	0.029±0.086	0.006±0.005 <sup>a</sup>	<0.001±0.001 <sup>a</sup>
MGD组	0.105±0.092	0.004±0.002 <sup>a</sup>	0.010±0.013	0.015±0.014 <sup>a</sup>	0.001±0.001 <sup>a</sup>
FM组	0.079±0.064	0.140±0.109	0.002±0.003	<0.001±0.001	0.012±0.010

注:对照组:无眼表蠕形螨感染及睑板腺功能障碍的健康人;MGD组:有睑板腺功能障碍但无眼表蠕形螨感染的患者;FM组:有眼表蠕形螨感染但无睑板腺功能障碍的患者。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs FM组。

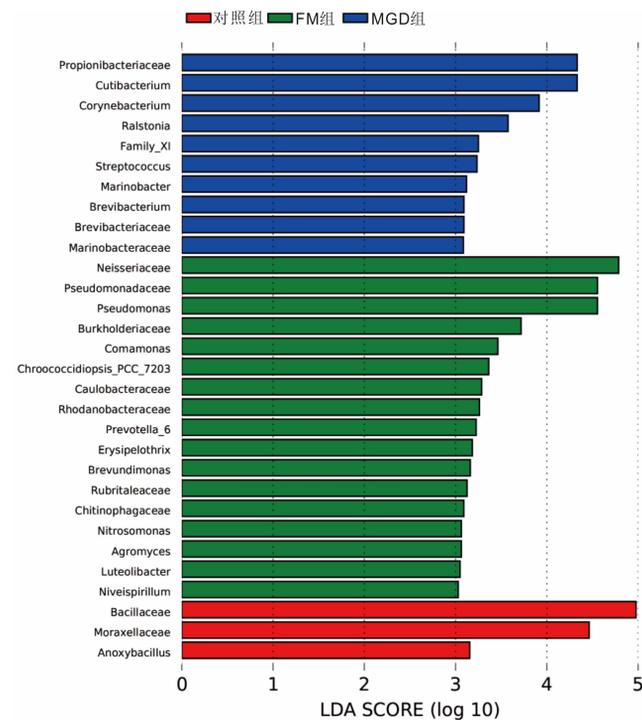


图2 LEfSe 组间差异分析。

### 3 讨论

健康的眼表菌群可以保护眼表组织,正常人眼结膜囊菌群以葡萄球菌(或棒状杆菌)、丙酸杆菌为主<sup>[12]</sup>。当眼表菌群失调时,眼表屏障功能受损,导致眼表疾病的发生<sup>[13]</sup>。随着二代测序16S rRNA的应用,研究者发现在部分正常人群眼表存在200余种细菌,分为5个门59个属,

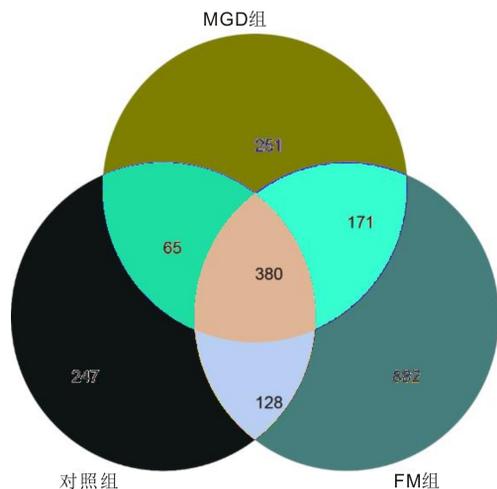


图3 睑酯微生物群落 OTU 分析。

同时也印证了眼表菌群主要由以凝固酶阴性葡萄球菌、棒状杆菌、丙酸杆菌等革兰阳性菌为主的多种菌共同组成<sup>[14]</sup>。以往对眼表菌群研究的样本主要来源于结膜拭子<sup>[15]</sup>,目前对睑酯菌群构成以及蠕形螨感染对睑酯菌群影响的相关研究未见报道。我们首次应用二代测序技术在门和属水平对睑酯菌群进行分析,发现健康人群睑酯中的优势菌群为芽孢杆菌属、棒杆菌属、葡萄球菌属和不动杆菌属。

睑板腺分泌的睑酯参与了泪膜脂质层构成,发挥着维持泪膜稳定性,降低泪膜水液层蒸发率等重要作用。MGD是眼科常见疾病,通常以终末导管的堵塞和睑酯的质/量分泌异常为病理特征,是干眼的重要原因<sup>[16]</sup>。既往研究表明尽管MGD患者睑板腺中细菌总数与正常人相比

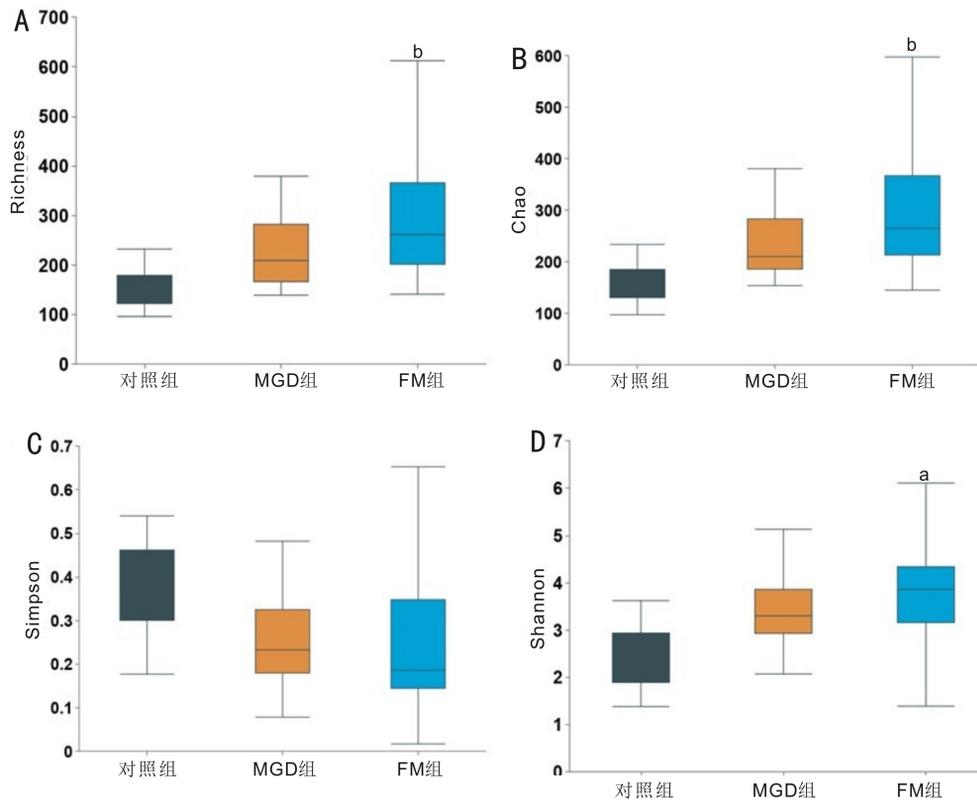


图4 睑酯菌群的 $\alpha$ 多样性分析 A:Richness; B:Chao; C:Simpson; D:Shannon。<sup>a</sup> $P<0.05$ ,<sup>b</sup> $P<0.01$  vs 对照组。

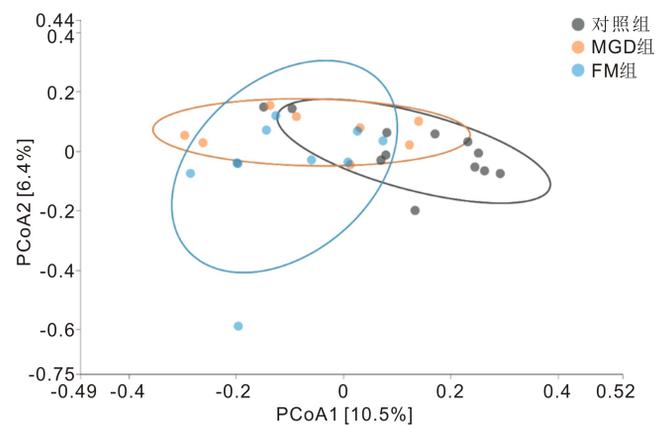


图5 睑酯菌群的 $\beta$ 多样性分析。

较无明显增多,但具有产生酯酶能力的细菌却明显多于正常人,其酯酶的活性也明显升高<sup>[17]</sup>。我们的研究也发现MGD组睑酯菌群中丙酸杆菌属显著高于对照组和FM组,丙酸杆菌科在MGD组含量最高(11%)。睑板腺中存在的痤疮丙酸杆菌科等细菌可产生分解睑板腺油脂的酯酶,这些酯酶能将脂质分解成多种脂肪酸,过量的游离脂肪酸则会通过皂化作用形成泡沫状分泌物,从而影响泪膜稳定性,导致泪膜崩解<sup>[18]</sup>,同时引起眼表的炎症反应。

蠕形螨是许多细菌和真菌病原体的载体,可以寄生于眼部并诱发眼表疾病<sup>[4]</sup>。首先,蠕形螨以皮脂、毛囊和腺上皮细胞为食,蠕形螨的感染率越高,对睑板腺的结构损伤越严重<sup>[19]</sup>。蠕形螨感染可导致睑板腺腺泡扩张、融合、萎缩,睑板腺腺孔密度降低,腺体孔口不规则,内壁不光滑,孔口面积变小<sup>[16]</sup>。其次,蠕形螨也是链球菌、葡萄球菌等细菌的载体<sup>[1]</sup>,其感染灶能够为细菌、真菌等微生物

提供良好的生存环境,加重皮肤、眼睑腺体损害,进一步损伤角膜结膜组织<sup>[20]</sup>。另一方面,致病细菌也产生一系列毒素和酶等毒力因子,导致皮肤和腺体结构的破坏,进一步为蠕形螨繁殖提供良好的微环境,促进疾病的发生发展。Liang等<sup>[15]</sup>的研究认为蠕形螨感染改变了眼表(结膜拭子)优势菌群的组成,尤其是假单胞菌属和新鞘脂菌属,而对眼表(结膜拭子)菌群的多样性没有显著影响。我们采集了39例受试者(包括14例健康人,14例睑板腺功能障碍患者和11例眼表蠕形螨感染患者)的睑酯细菌样本,并对其进行了16S rRNA测序。我们发现FM组睑酯菌群构成比与其他两组显著不同,假单胞菌属和丛毛单胞菌属均显著高于对照组和MGD组。通过LEfSe分析组间菌群差异,我们发现FM组睑酯菌群主要富集奈瑟氏菌科、假单胞菌科和假单胞菌属等17个菌群。假单胞菌通常感染受损组织或免疫力低下的组织<sup>[21]</sup>,从蠕形螨皮损中可分离到铜绿假单胞菌,而非蠕形螨感染组织则无法分离,提示蠕形螨感染与机会性假单胞菌感染有关<sup>[22]</sup>。

与眼表蠕形螨不影响眼表菌群多样性不同的是,我们发现MGD组和FM组睑酯菌群微生物丰富度(Richness指数和Chao指数)、微生物群落多样性(Shannon指数)显著高于对照组,提示蠕形螨不仅改变了睑酯菌群的结构,还提高了睑酯菌群的多样性。Gao等<sup>[23]</sup>研究发现,眼部蠕形螨的侵袭会引起睑酯组成成分发生变化。在该研究中,蠕形螨感染组的25种 $\alpha$ -酮基- $\omega$ -羟基脂肪酸(OAHFA)水平升高,这可能是MGD后眼表微环境不平衡导致睑板腺的适应性改变,也可能是蠕形螨大量繁殖导致细菌微生物的不平衡,改变了睑板腺的脂质成分。综上,我们推测蠕形螨感染改变眼表及睑板腺的微环境,改变睑酯菌群结

构,优势菌群变为假单胞菌属,提高了睑酯菌群多样性,可能进一步改变睑酯成分,加重眼表的损伤。

本研究招募了39例受试者的睑酯样本进行检测,首次应用二代测序技术对受试者的睑酯菌群进行分析,发现蠕形螨感染改变了睑酯菌群的构成,并提高了睑酯菌群的微生物丰富度和群落多样性。FM组的假单胞菌属和丛毛单胞菌属均显著高于对照组和MGD组,罗尔斯通氏菌属显著低于对照组和MGD组。综上,我们推测眼表蠕形螨感染可能通过改变睑板腺微环境,影响睑酯菌群结构,改变睑酯成分,加重眼表损伤。但是,本研究招募睑酯样本的受试者样本量较小,这可能导致选择偏差,受试者一般资料及病史情况是否对眼表蠕形螨感染产生差异,未来须有大量多中心临床研究,提高研究结论的科学性和代表性。

#### 参考文献

- 1 林育安, 张玉洁, 石珂, 等. 眼表菌群与眼表疾病关系的研究进展. 眼科学报 2022;37(5):408-415
- 2 赵丹丹, 吴佳俊, 张富文. 蠕形螨感染性睑板腺功能障碍的研究进展. 中国中医眼科杂志 2022;32(6):492-496
- 3 唐嘉萱, 刘超凡, 朱鹭冰. 蠕形螨相关疾病简介. 临床皮肤科杂志 2022;51(3):180-182
- 4 陈立浩, 李宏哲, 彭俊, 等. 蠕形螨相关性眼表疾病及其诊治. 国际眼科杂志 2020;20(9):1547-1550
- 5 亚洲干眼协会中国分会, 海峡两岸医药卫生交流协会眼科学专业委员会眼表与泪液病学组, 中国医师协会眼科医师分会眼表与干眼学组. 中国干眼专家共识: 检查和诊断(2020年). 中华眼科杂志 2020;56(10):741-747
- 6 蒋冬冬, 靳荷. 睑板腺功能障碍相关干眼的诊疗进展. 国际眼科杂志 2021;21(7):1209-1212
- 7 孙旭光, 张晓玉. 重视蠕形螨感染与睑缘炎. 中华实验眼科杂志 2016;34(6):481-483
- 8 亚洲干眼协会中国分会, 海峡两岸医药交流协会眼科专业委员会眼表与泪液病学组. 我国蠕形螨睑缘炎诊断和治疗专家共识(2018年). 中华眼科杂志 2018;54(7):491-495
- 9 沈灵, 曾琳琳, 骆巧媚, 等. 基于16S rDNA基因测序探讨咳嗽变

- 异性哮喘与肠道菌群的关系. 中山大学学报(医学科学版) 2022;43(4):582-590
- 10 Chen SF, Zhou YQ, Chen YR, *et al.* Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics* 2018;34(17):i884-i890
- 11 Edgar RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nat Methods* 2013;10(10):996-998
- 12 Willcox MDP. Characterization of the normal microbiota of the ocular surface. *Exp Eye Res* 2013;117:99-105
- 13 曹宇辰, 张杰鑫, 黎颖莉, 等. 有无睑板腺功能障碍患者眼表菌群组成对比. 眼科新进展 2021;41(12):1138-1143
- 14 Dong QF, Brulc JM, Iovieno A, *et al.* Diversity of bacteria at healthy human conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(8):5408-5413
- 15 Liang XT, Li YL, Xiong K, *et al.* Demodex infection changes ocular surface microbial communities, in which meibomian gland dysfunction may play a role. *Ophthalmol Ther* 2021;10(3):601-617
- 16 高慧. 眼部蠕形螨感染患者的睑酯成分分析. 华中科技大学 2021
- 17 Paranjpe V, Tan J, Nguyen J, *et al.* Clinical signs of meibomian gland dysfunction (MGD) are associated with changes in meibum sphingolipid composition. *Ocul Surf* 2019;17(2):318-326
- 18 杨强, 崔红平. 睑板腺功能障碍与细菌感染. 国外医学(眼科学分册) 2005;6:364-366
- 19 Cheng SN, Zhang MC, Chen H, *et al.* The correlation between the microstructure of meibomian glands and ocular Demodex infestation: a retrospective case-control study in a Chinese population. *Medicine (Baltimore)* 2019;98(19):e15595
- 20 赵琼琼, 杜文杰, 刘贤金, 等. 蠕形螨感染与睑板腺功能障碍的关系及对患者眼表功能的影响. 齐齐哈尔医学院学报 2020;41(19):2436-2437
- 21 Bitton E, Aumond S. Demodex and eye disease: a review. *Clin Exp Optom* 2021;104(3):285-294
- 22 Lam NSK, Long XX, Li XG, *et al.* Comparison of the efficacy of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil with other current pharmacological management in human demodicosis: a Systematic Review. *Parasitology* 2020;147(14):1587-1613
- 23 Gao H, Chen H, Xie HT, *et al.* Changes in meibum lipid composition with ocular Demodex infestation. *Transl Vis Sci Technol* 2021;10(14):6