

眼部蠕形螨感染与蔬菜芽胞杆菌蛋白免疫反应的相关关系

黎健菁¹, 林振德², 林勇平¹, 罗娅莎¹, 林翎³

基金项目:广东省科技计划项目(No. 2010B031600304)

作者单位:¹(510120) 中国广东省广州市,广州医科大学附属第一医院眼科;²(510060) 中国广东省广州市,中山大学中山眼科中心;³(510220) 中国广东省广州市红十字会医院眼科

作者简介:黎健菁,硕士研究生,副主任医师,研究方向:眼表疾病及白内障防治。

通讯作者:黎健菁, promiselai@126.com

收稿日期:2015-03-09 修回日期:2015-05-18

Correlation between ocular Demodex infestation and serum immunoreactivity to bacillus proteins

Jian-Jing Li¹, Zhen-De Lin², Yong-Ping Lin¹, Ya-Sha Luo¹, Ling Lin³

Foundation item: Science and Technology Plan Project from Guangdong Province (No. 2010B031600304)

¹Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China; ²Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China; ³Department of Ophthalmology, Guangzhou Red Cross Hospital, Guangzhou 510220, Guangdong Province, China

Correspondence to: Jian-Jing Li. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China. promiselai@126.com

Received: 2015-03-09 Accepted: 2015-05-18

Abstract

• AIM: To investigate correlation between ocular Demodex infestation and serum immunoreactivity.

• METHODS: Demodex counting of 68 inpatients was performed based on eight lashes sampling. Serum immunoreactivity to two 62-kDa and 83-kDa proteins derived from *B. oleronius* was determined by Western blot analysis.

• RESULTS: These 68 patients without facial rosacea or blepharitis were age matched ($P=0.888$) and gender matched ($P=0.595$) regarding serum immunoreactivity or ocular Demodex infestation. According to the eyelash, creep mite infection was divided into positive and negative groups, age-matched ($P=0.590$) and sex-matched ($P=0.329$). There was no significant correlation between serum immunoreactivity and Demodex infestation ($P=0.925$). There were 27 patients with

positive serum immunoreactivity in 38 patients with Demodex infestation (71%), and there were 21 patients in 30 patients without Demodex infestation (70%). There was no significant correlation between serum immunoreactivity and Demodex counting ($P=0.758$).

• CONCLUSION: It is unnecessary to perform serum analysis when Demodex can be found in asymptomatic individuals. But treatment of reducing lashes Demodex infestation is necessary when patient with blepharitis was detected Demodex in eye lashes and positive serum immunoreactivity.

• KEYWORDS: demodex; ocular rosacea; immunoreactivity

Citation: Li JJ, Lin ZD, Lin YP, et al. Correlation between ocular Demodex infestation and serum immunoreactivity to bacillus proteins. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2015;15(6):1054-1056

摘要

目的:研究人眼蠕形螨感染与其血清免疫反应的关系。

方法:观察68例住院患者眼部蠕形螨感染情况,收集每例患者双眼上下睑共8条睫毛,进行蠕形螨计数,分别记录毛囊蠕形螨和皮脂蠕形螨数量。用Western blot分析从蔬菜芽胞杆菌分离出来的两种蛋白62-kDa和83-kDa与患者血清的免疫反应情况。

结果:所有68例患者无面部红斑痤疮,无眼睑炎,按血清反应分阳性和阴性两组,年龄匹配($P=0.888$),性别匹配($P=0.595$);按睫毛蠕形螨感染分阳性和阴性两组,年龄匹配($P=0.590$),性别匹配($P=0.329$)。血清免疫反应与眼部蠕形螨感染无统计学相关关系($P=0.925$),在蠕形螨感染阳性组38例中27例(71%)血清反应阳性,在蠕形螨感染阴性组30例中,血清反应阳性21例(70%)。与蠕形螨计数也无统计学相关关系($P=0.758$)。

结论:当眼部感染蠕形螨但不发病时,血清检查不必要,但当眼部出现眼睑炎时,建议查睫毛螨虫和血清免疫反应,一旦两者均阳性,全力除虫实属必要。

关键词:蠕形螨;眼红斑痤疮;免疫反应

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.6.32

引用:黎健菁,林振德,林勇平,等.眼部蠕形螨感染与蔬菜芽胞杆菌蛋白免疫反应的相关关系.国际眼科杂志2015;15(6):1054-1056

0 引言

蠕形螨是人类最常见的体外寄生虫之一。寄生在皮肤的蠕形螨分两大类,分别是寄生在毛囊的毛囊蠕形螨(*D. folliculorum*)和寄生在皮脂腺的皮脂蠕形螨(*D. brevis*)。

在皮肤,蠕形螨主要寄生在脸颊部、前额、鼻子和外耳道。在眼部,可在睫毛毛囊找到毛囊蠕形螨,皮脂蠕形螨寄生在睫毛皮脂腺和睑板腺。皮肤的玫瑰痤疮(rosacea)是相当普遍的皮肤病,有研究表明^[1-7],皮肤玫瑰痤疮的患者常常能在上述部位找到毛囊蠕形螨,但这与其致病机制仍有争议。在眼部,有研究表明蠕形螨可能与眼部玫瑰痤疮(ocular rosacea)有关^[8],主要表现为眼睑炎和结膜炎,其他的眼部表现还有,睑板腺囊肿、睑板腺炎、点状角膜上皮炎、角膜浸润、角膜新生血管和角膜穿孔。在睫毛有蠕形螨寄生者,某些人并不致病,而有另一些人则患病,所以这两种蠕形螨的致病机制目前仍存在争议。Lacey等^[9]从一个皮肤丘疹脓疱性玫瑰痤疮患者的螨虫中分离出蔬菜芽胞杆菌(bacillus oleronius),发现在73%的玫瑰痤疮患者中,这个细菌产生能激发周围血单核细胞增殖,而这种现象在对照组只有29%出现($P=0.0105$)。证实其中6例玫瑰痤疮患者的血清对这种细菌产生的两种促炎蛋白62-kDa和83-kDa产生免疫反应。由于目前文献上还没有报告无面部玫瑰痤疮的眼病患者,其蠕形螨感染是否与蔬菜芽胞杆菌蛋白免疫反应的相关关系。我们观察68例这样病例,现报告如下。

1 对象和方法

1.1 对象 观察2013-03/08在广州医科大学附属第一医院及广州市红十字会医院住院的患者共68例,其中男34例,女34例。年龄16~94(平均 54.15 ± 18.63)岁。所有患者均进行常规眼部裂隙灯检查。眼部常规检查后,收集双眼上下睑睫毛共8条进行显微镜检查并行蠕形螨计数。所有患者抽静脉血进行血清学免疫检测。

1.2 方法 睫毛标本及螨虫计数:睫毛标本选取参考文献^[10]。在裂隙灯显微镜下,分别于双眼,上睑及下睑,用消毒睫毛镊拔出2条睫毛,选睫毛根部有圆柱状鳞屑围绕的睫毛,共拔出8条睫毛分别放置在干净载玻片上,盖上盖玻片,盖玻片旁滴1~2滴消毒90g/L生理盐水。马上进行蠕形螨计数。螨虫计数在光学显微镜下完成,如参考文献^[10,11]所述,分别记录毛囊蠕形螨和皮脂蠕形螨及两者总数。

1.2.1 菌体抗原的提取 挑取一个单菌落接种到50mL灭菌的LB营养液中,以200r/min的速度,在30°C环境中震荡增菌24~48h。增菌后的菌液离心20min(4000g, Beckman AllegraX-15R),随后弃去上清。用灭菌的PBS缓冲液冲洗沉淀两次,用3mL灭菌的PBS缓冲液重悬沉淀后加入10 μ L PMSF和溶菌酶(终浓度为2mg/mL),37°C水浴1h。将重悬的菌液置于冰上,以20%振幅,超声裂解10s停顿3s,重复3次。4°C离心5min(8000g, eppendorf)后收集上清即为所需。

1.2.2 使用Western Blot法检测患者血清中的抗体 配置分离胶和浓缩胶的浓度分别为10%和5%的SDS-PAGE胶,每孔蛋白为上样量20 μ g,在80V电泳30min后转100V电泳50min。将滤纸和活化好的PVDF膜浸泡在转膜液中,切下电泳完的PAGE胶,夹成电转“三明治”置于电转槽内100V电转55min。患者血清用5%脱脂牛奶以1:1000的倍数稀释作为一抗,二抗为辣根过氧化物酶标记的羊抗人IgG(Abcam),以1:2000稀释。将电转完成的PVDF膜转移至孵育盒中,加入封闭液(5%脱脂牛奶和1%BSA),37°C孵育1h后用TBST缓冲液洗膜3次;加入一抗后置于摇床在4°C孵育过夜,用TBST缓冲液洗

膜3次;加二抗在37°C孵育1h,再用TBST缓冲液洗膜3次。将洗好的PVDF膜置于暗盒中,将等体积混合充分的发光液(perkin elmer)均匀地加到膜上,盖上洁净的透明薄膜,剪取合适大小的X光胶片(Kodak)压于膜上方30s,随后将胶片浸泡在显影液中至显现清晰的影像,再用定影液定影。流水冲洗成像完成的胶片,晾干,扫描拍照。

统计学分析:所有统计计算分析使用SPSS 13.0软件,计量资料用平均数 \pm 标准差表示,计数资料用阳性或阴性表示,年龄和蠕形螨计数两组比较用独立样本 t 检验,不同组之间性别匹配和关系用Pearson卡方检验分析。两组相关分析用Pearson相关分析。蠕形螨计数在不同分组受年龄影响关系用Pearson卡方检验, $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 根据睫毛蠕形螨检出阳性或阴性分为两组 两组年龄情况:睫毛蠕形螨检出阳性38例,年龄16~94(平均 53.05 ± 19.41)岁;睫毛蠕形螨检出阴性30例,年龄17~84(平均 55.53 ± 17.83)岁。两组平均年龄分布比较差异无统计学意义($t=0.542, P=0.590$)。

2.2 根据血清反应阳性或阴性分为两组 两组年龄情况:血清反应阳性48例,年龄17~94(平均 53.65 ± 18.76)岁;血清反应阴性20例,年龄16~82(平均 54.35 ± 18.78)岁。两组年龄分布比较差异无统计学意义($t=0.141, P=0.888$)。

2.3 年龄与蠕形螨计数相关性分析 所有患者年龄与蠕形螨计数相关分析(Pearson相关分析)相关系数为-0.082, $P=0.504$;血清反应阳性组患者48例,年龄与蠕形螨计数Pearson相关分析相关系数为-0.053, $P=0.719$;血清反应阴性组患者20例,年龄与蠕形螨计数相关分析相关系数为-0.202, $P=0.392$;睫毛检出蠕形螨组38例,患者年龄与蠕形螨计数相关分析相关系数为-0.072, $P=0.669$ 。

2.4 性别匹配分析 用Pearson卡方检验,眼部蠕形螨检出阳性组38例,阴性组30例,其中男性蠕形螨感染阳性17例,阴性17例,蠕形螨检出率50%。女性蠕形螨感染阳性21例,阴性13例,蠕形螨检出率62%。68例患者中蠕形螨检出38例(56%)。男性组和女性组蠕形螨检出率比较差异无统计学意义($\chi^2=0.954, P=0.329$)。血清反应阳性组48例,阴性组20例,其中男性血清免疫反应阳性23例,阴性11例,血清反应阳性率68%。女性血清免疫反应25例,阴性9例,血清反应阳性率74%。68例中血清免疫反应阳性48例(71%)。男性组和女性组血清免疫反应阳性率比较差异无统计学意义($\chi^2=0.283, P=0.595$)。两种分组方法,性别差异均无统计学意义,即眼部蠕形螨检出无性别差异($P=0.329$);血清反应阳性或阴性无性别差异($P=0.595$)。

2.5 血清免疫反应与蠕形螨相关分析 用Pearson卡方检验。血清反应阳性的48例中,蠕形螨检出阳性27例,阴性21例,蠕形螨检出率56%。血清反应阴性20例中,蠕形螨检出阳性11例,阴性9例,蠕形螨检出率55%。血清反应与蠕形螨感染无统计学相关关系($\chi^2=0.009, P=0.925$)。在蠕形螨感染阳性组38例中,27例(71%)血清反应阳性,在蠕形螨感染阴性组30例中,血清反应阳性21例(70%)。

2.6 蠕形螨计数与血清免疫反应相关关系分析 用独立样本 t 检验。血清免疫反应阳性组 48 例,平均蠕形螨计数 2.77 ± 4.92 条;血清免疫反应阴性组 20 例,平均蠕形螨计数 2.40 ± 3.22 条。两组比较采用两独立样本 t 检验,血清反应与蠕形螨计数比较差异无统计学意义 ($t = 0.310, P = 0.758$)。

3 讨论

有研究表明,皮肤丘疹脓疱性红斑痤疮的患者血液里,存在从毛囊蠕形螨分离出来的一种蔬菜芽胞杆菌 (*Bacillus oleronius*) 的抗原蛋白,这种抗原蛋白激发炎症反应^[9]。而我们早前的研究表明^[12],血清免疫反应与面部红斑痤疮、睑缘炎患者、螨虫感染显著相关 ($P = 0.009, P = 0.040$),与下方球结膜炎无关 ($P = 0.573$),干眼患者螨虫感染率明显少于无干眼者 ($P = 0.002$)。同时合并有面部红斑痤疮的患者,眼部螨虫感染者的血清中也与对蔬菜芽胞杆菌蛋白的免疫反应有关^[12]。本研究观察的病例均无面部红斑痤疮,无眼睑炎、结膜炎等表现,所以血清反应与蠕形螨计数无统计学相关关系 ($P = 0.758$)。

本研究 68 例患者中视网膜脱离 34 例,糖尿病视网膜病变 12 例,老年性白内障 10 例,黄斑前膜或黄斑裂孔 6 例,视网膜血管炎或视网膜静脉阻塞引起的玻璃体积血 4 例,马方综合征晶状体脱位 2 例。均没有面部红斑痤疮,未发现眼部睑缘炎,蠕形螨检出阳性 38 例 (5%),高于国内文献报道的 1.80% ~ 7.63%^[13],说明蠕形螨在眼部寄生非常常见,临床中应该提高警惕。

蠕形螨是一种条件致病性寄生虫,在大多数情况下,蠕形螨与宿主处于共栖状态,当某些因素如疲劳、精神紧张、刺激性食物等影响下,会引起共栖条件失调,从而致病。普遍认为与痤疮、酒渣鼻等皮肤病发生有关^[14]。但它对眼部的致病性仍然存在争议。有学者认为,蠕形螨寄居的眼部可无任何症状,睫毛毛囊蠕形螨不损坏睫毛毛囊干细胞,因此认为蠕形螨并不是睑缘炎的致病原因^[15]。蠕形螨寄居于睫毛,尤其根部有圆柱状或袖套状鳞屑的睫毛^[10]。症状和蠕形螨寄居的数量无相关性^[16]。本研究按蠕形螨检出阳性或阴性分组,或按血清反应阳性或阴性分组,年龄和性别差异均无统计学意义,与我们先前的研究分析符合^[12],但血清反应与蠕形螨感染无统计学相关关系,与先前的研究形成鲜明对照。本组研究患者,均未发现眼部睑缘炎,所以血清反应与蠕形螨计数无相关关系,也就是说,当蠕形螨感染存在,但不致病时,血清免疫反应检查是不必要的。

我们曾经观察 59 例不同程度患有眼表疾病,如睑缘炎、干眼病、翼状胬肉、眼睑松弛等的患者,研究表明,血清阳性与面部红斑痤疮明显相关 ($P = 0.09$),与眼部蠕形

螨感染明显相关 ($P = 0.048$)^[12]。所以对于眼部术后出现睑缘炎和干眼病时,建议最好能同时查眼睑睫毛蠕形螨,一旦血清免疫反应也出现阳性结果,全力除虫实属必要。

参考文献

- 1 Powell FC. Clinical practice. Rosacea. *N Engl J Med* 2005;352(8):793-803
- 2 Wilkin J, Dahl M, Detmar M, et al. Standard classification of rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the classification and staging of rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2002;46(4):584-587
- 3 Wilkin J, Dahl M, Detmar M, et al. Standard grading system for rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the classification and staging of rosacea. *J Am Acad Dermatol* 2004;50(6):907-912
- 4 Powell FC. What's going on in rosacea? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2000;14(5):351-352
- 5 Aroni K, Tsagrioni E, Lazaris AC, et al. Rosacea: a clinico-pathological approach. *Dermatology* 2004;209(3):177-182
- 6 Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The Demodex mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993;28(3):443-448
- 7 Forton F, Seys B. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case-control study using standardized skin-surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993;128(6):650-659
- 8 Quarterman MJ, Johnson DW, Abele DC, et al. Ocular rosacea. Signs, symptoms, and tear studies before and after treatment with doxycycline. *Arch Dermatol* 1997;133(1):49-54
- 9 Lacey N, Delaney S, Kavanagh K, et al. Mite-related bacterial antigens stimulate inflammatory cells in rosacea. *Br J Dermatol* 2007;157(3):474-481
- 10 Gao YY, Di Pascuale MA, Li W, et al. High prevalence of Demodex in eye lashes with cylindrical dandruff. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(9):3089-3094
- 11 Kheirkhah A, Blanco G, Casas V, et al. Fluorescein dye improves microscopic evaluation and counting of Demodex in blepharitis with cylindrical dandruff. *Cornea* 2007;26(6):697-700
- 12 Li J, O'Reilly N, Sheha H, et al. Correlation between ocular Demodex infestation and serum immunoreactivity to Bacillus proteins in patients with Facial rosacea. *Ophthalmology* 2010;117(5):870-877
- 13 赵瑞君. 蠕形螨寄生与人群年龄和某些皮肤病的关系. *中国媒介生物学控制杂志* 1999;10:50-52
- 14 王新彩, 刘润芳. 蠕形螨与人面部皮肤病关系. *洛阳医学专报* 2000;18:197-198
- 15 Norn MS. Demodex folliculorum. Incidence and possible pathogenic role in the human eyelid. *Acta Ophthalmol Suppl* 1970;108(Suppl):7-85
- 16 Gao YY, Di Pascuale MA, Li W, et al. In vitro and in vivo killing of ocular demodex by tea tree oil. *Br J Ophthalmol* 2005;89(11):1468-1473