

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202423434

· 临床报道 ·

荧光染色法快速诊断真菌性外耳道炎的意义

邓海燕,高兴强,郭宇峰,吴晓慧,钟连生

(厦门市儿童医院耳鼻咽喉头颈外科,福建 厦门 361013)

摘要: **目的** 探讨荧光染色法快速诊断真菌性外耳道炎的临床意义。**方法** 回顾性分析 2021 年 1 月—2023 年 12 月在厦门市儿童医院耳鼻咽喉门诊疑诊的真菌性外耳道炎患儿 30 例,每例均行外耳道分泌物荧光染色法检查和真菌培养,比较荧光染色法检查和真菌培养检出的真菌感染阳性率。**结果** 30 例疑诊患儿中,荧光染色法检出真菌感染 28 例,真菌培养检出真菌感染 26 例,荧光染色法检测真菌性外耳道炎患儿的阳性率(93.3%)高于真菌培养法(86.7%),差异具有统计学意义($\chi^2 = 0.04, P < 0.05$)。**结论** 荧光染色法诊断真菌性外耳道炎的检出率更高,且操作更简便快捷,值得临床推广应用。

关键词: 真菌性外耳道炎;荧光染色法;真菌培养

中图分类号:R764.1⁺1

Significance of rapid diagnosis of fungal otitis externa by fluorescence staining

DENG Haiyan, GAO Xingqiang, GUO Yufeng, WU Xiaohui, ZHONG Liansheng

(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Xiamen Children's Hospital, Xiamen 361013, China)

Abstract: **Objective** To explore the clinical significance of fluorescence staining in the rapid diagnosis of fungal otitis externa. **Methods** A retrospective analysis was performed on 30 children with suspected fungal otitis externa, who were diagnosed at the Otolaryngology Outpatient Clinic of Xiamen Children's Hospital from January 2021 to December 2023. All cases were examined by external ear canal secretion fluorescence staining and fungal cultivation. The positive rate of fungal infection was compared between fluorescence staining and fungal cultivation. **Results** Of the 30 suspected children, 28 cases were detected as fungal infections by fluorescence staining, and 26 cases were detected as fungal infections by fungal culture. The positive rate of fungal otitis externa was higher by fluorescence staining (93.3%) than by fungal cultivation method (86.7%), and the difference was statistically significant($\chi^2 = 0.04, P < 0.05$). **Conclusion** The fluorescence staining method is high detection rate in diagnosing fungal otitis externa. And the operation is more simple and fast. It is worthy of clinical promotion and application.

Keywords: Fungal otitis externa; Fluorescence staining; Fungal cultivation

真菌性外耳道炎又叫外耳道真菌病,是真菌侵入外耳道或外耳道内的条件致病菌在适宜的条件下繁殖,引起的外耳道皮肤浅表感染。为耳鼻咽喉门诊常见病、多发病,具有反复发作、根治困难等特点,且容易与慢性外耳道炎、外耳湿疹等相混淆^[1]。任何年龄段均可发病,据报道,近年来儿童外耳道真菌病的患病率有明显上升的趋势^[2-3]。所以对于真菌感染的患儿来说,快速准确的检测是决定患儿能否

及时得到治疗的关键^[4]。既往临床往往根据耳道分泌物的真菌培养结果来指导治疗,但存在检查耗时长,易延误治疗。随着医疗诊断技术的快速发展,荧光染色法检查逐步运用于临床真菌感染的诊断中,特别在皮肤真菌感染中已得到了广泛应用^[5-6]。为快速诊断真菌性外耳道炎,对其采取及时、有效的治疗措施,本文对 2021 年 1 月—2023 年 12 月我科疑诊的 30 例真菌性外耳道炎患儿的荧光染色法检

基金项目:厦门市小儿外科疾病重点实验室开放课题(CHP-2023-XKL-020)。

第一作者简介:邓海燕,女,副主任医师。

通信作者:高兴强,Email:gaoxqm@163.com

查及真菌培养结果进行了总结和分析,探讨荧光染色法在真菌性外耳道炎诊断中的应用价值,为临床的诊断及治疗提供参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集 2021 年 1 月—2023 年 12 月我科门诊疑诊的真菌性外耳道炎患儿 30 例其中男 18 例,女 12 例;年龄 6~18 岁,平均年龄 8.3 岁;病程 1 d 至 2 年,平均 32 d;单耳 25 例,双耳 5 例;患儿有长期耳痒、反复挖耳史 28 例,游泳史 15 例,足部真菌感染史 11 例,长期用抗生素或糖皮质激素 11 例。患儿就诊时表现不同程度外耳道闷胀、瘙痒、疼痛、耳漏,耳内镜下可见外耳道皮肤潮红糜烂,耳道深部及鼓膜表面覆有浑浊白色絮状物或奶油样物,或可见灰褐色、白色丝状物,部分病例有肉芽生长(图 1)。

1.2 方法

1.2.1 检测材料 真菌培养法检测材料包括沙保罗琼脂平板、真菌荧光染色液(江苏莱芙)、生物显微镜(蔡司 Primover)。荧光染色法检测材料包括真菌荧光染色液(纽博武汉生物科技有限公司)、奥林巴斯 CX22 LED(olympus)光学生物显微镜和荧光模块。

1.2.2 取材 所有患儿均在首次就诊,临床症状及耳内镜疑诊耳道真菌感染后,耳内镜下用一次性无菌拭子取外耳道同一部位碎屑或分泌物,每例患儿均采集两份拭子,分别进行真菌培养和直接免疫荧光染色法检测。本组 5 例双耳发作患者随机选 1 耳取材。

1.2.3 检测方法 真菌培养法检测:按照临床微生物标准操作规程,将取材标本划线接种于沙保罗琼脂平板上,将培养基置于 28℃ 温箱中培养 5~7 d,

观察生长情况。若菌落生长良好,将菌落均匀涂在载玻片上,将真菌荧光染色液(江苏莱芙)滴加在菌落上,盖上盖玻片,随后置于生物显微镜(蔡司 Primover)荧光模块下观察,观察菌丝和孢子形态特征,结合菌落生长形态及颜色等进行形态学鉴定。荧光染色法检测:将取材后的标本均匀的涂在载玻片上,将真菌荧光染色液滴加在标本上,盖上盖玻片,约 10 s 后采用棉棒将多余染液吸除,轻压盖玻片,随后置于显微镜(明美 MF23-M 型,明视野目镜 40 倍)荧光模块下观察,若视野中观察到真菌菌丝则可判定为真菌感染阳性。

1.2.4 诊断标准^[3,7] ①具有以下一种以上症状:耳道瘙痒、疼痛、异物堵塞感、流脓及听力减退;②检查(耳内镜):耳道壁可见片状、点状或斑点状灰色、褐色等真菌菌丝或真菌孢子;③外耳道碎屑或分泌物真菌培养阳性。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 25.0 软件对数据进行统计学处理分析,计数资料以例数统计,采用配对 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

30 例可疑真菌性外耳道炎患儿,真菌培养检出 26 例为真菌感染,真菌 26 例中 22 例为曲霉菌感染,2 例为念珠菌感染,2 例为曲霉菌和念珠菌混合感染。荧光染色法检出 28 例为真菌感染,另 2 例未见真菌菌丝。真菌培养法真菌在显微镜下形态学表现:孢子呈现无色透明,部分出现淡绿色的折光。需 3 d 才能出检测结果。荧光染色法显微镜下形态学表现:背景及杂质呈暗黑色,孢子菌丝被荧光染色标记,镜下呈亮蓝色,与背景及杂质反差大,真菌假菌丝轮廓清晰,易于辨别(图 2)。

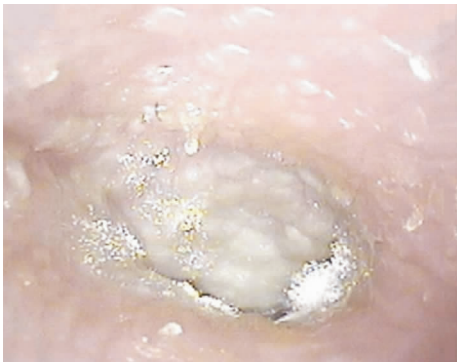


图 1 门诊疑诊真菌性外耳道炎患儿耳内镜下图片

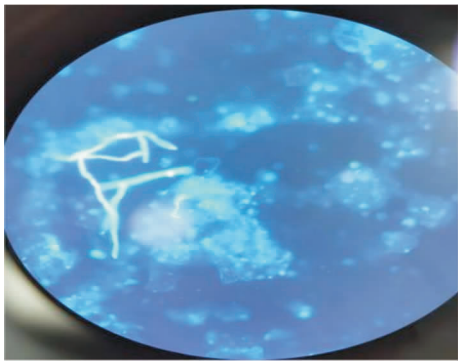


图 2 真菌在显微镜下的形态学表现

荧光染色法诊断阳性率为 93.3%,真菌培养法诊断阳性率 86.7%,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 真菌培养和荧光染色法真菌感染检测结果 (耳,%)

方法	阳性	阴性	阳性率	χ^2	P
真菌培养	26	4	86.7	0.04	<0.05
荧光染色法	28	2	93.3		

3 讨论

外耳道真菌病是因真菌感染而造成的一种临床多发疾病,好发于亚热带及热带等温热潮湿地区,高温潮湿的季节多见,近年来,由于抗生素、激素以及免疫抑制剂的不正确使用和滥用,再加上游泳,不良挖耳习惯等引起外耳道真菌感染发病率升高,导致外耳道分泌物增多、疼痛、耳痒、听力下降等,且真菌感染传染性强,家人间容易交叉感染,很难根治,容易反复发作,若未得到妥善治疗,致病真菌可侵入患儿血液系统,引发全身性疾病,对患儿的生活造成严重的影响,因此展开治疗工作前,致病菌快速准确的检测是决定患儿能否得到及时治疗的关键。

目前临床上常用的真菌检测方法有真菌培养、真菌涂片镜检、血清学检查、组织病理学检查、分子生物学技术和质谱技术等^[3]。在条件允许的情况下,可联合应用多种检查方法,早期诊断进而反馈到临床。典型的病例,在临床上也具有明显的特点,诊断并不困难,但外耳道易受耵聍堵塞、临床治疗、继发感染等而改变临床和真菌特征,缺乏特异性。真菌培养是目前检测真菌感染的金标准,也是确诊外耳道真菌病的最基本的方法,但真菌培养法操作复杂,培养至少需 2~3 个工作日,耗时较长,在采集、运输和保存过程中均可能被污染,且真菌培养也常因取材不理想,如取材组织为耵聍组织、不典型等而影响诊断,临床应用上有一定的局限性^[8]。1963 年 Burnham 等^[9]开始应用免疫荧光检查技术,通过特异性荧光标志物共价与真菌细胞壁中的几丁质及葡聚糖结合的方式,使孢子和菌丝在荧光显微镜下呈现出明亮的蓝色荧光,从而判断是否有真菌感染。目前荧光染色在国内外应用已较为普遍,特别对于皮肤真菌感染的诊断,阳性率可达 88%~100%,具有高度特异性、敏感性、操作简便的优点。笔者通过查询国内多年文献,荧光染色法检查用于快速诊断外耳道真菌病少有研究报道。荧光染色技术的发展

对真菌性外耳道炎疾病的诊断、鉴别诊断,预后判断及疗效观察等方面有肯定的临床意义。本研究通过 30 例门诊可疑真菌性外耳道炎患儿同一部位两种检测方法进行比较,结果显示荧光染色法和耳道分泌物真菌培养的阳性率分别为 93.3% (28/30) 和 86.7% (26/30),两者间差异有统计学意义($P < 0.05$)。荧光染色法临床诊断的符合率稍高于真菌培养结果,可能是因为这些疾病有很强的免疫学特性,对荧光染色有强阳性表现,也可能与耳道分泌物取材位置的选择、治疗情况及技术上的错误等因素有关,另外,阴性的结果也可能表明疾病的一个长时间缓解期。

本研究显示,荧光染色法检查可以为临床诊断及治疗提供有力佐证,尤其是当真菌培养诊断不明确或无诊断、临床症状又不典型时,荧光染色法检查提供的诊断依据可以为治疗指出方向。

综上所述,在真菌性外耳道炎疾病的诊断中,除外真菌培养,荧光染色法应作为重要的辅助检查项目,尤其是对不典型病例的诊断更有价值。根据患儿临床表现、耳内镜检查、荧光染色法检查三者相结合,能大大提高真菌性外耳道炎诊断的准确率,有效地防止漏诊、误诊发生,为临床诊断及治疗提供可靠的依据。目前资料尚少,今后应多开展这方面工作,并不断优化操作流程。

参考文献:

[1] 范明辉,陈英. 真菌性外耳道炎的进展研究[J]. 智慧健康, 2021,7(4):22-24.

[2] Westby D,O'Connell N,Powell J. et al. The changing na-ture of paediatricotomycosisin the mid-west of Ireland [J]. J Laryngol Otol,2020,134(7):592-596.

[3] 时乐洋,陶安周. 外耳道真菌病的研究进展[J]. 转化医学杂志,2021,28(2):121-125.

[4] Jimenez-Garcia L, Celis-Aguilar E, Díaz-Pavón G, et al. Effi-cacy of topical clotrimazole vs. topical tolnaftate in the treat-ment of oto-mycosis. A randomized controlled clinical trial[J]. Braz J Otorhi-nolaryngol, 2020,86(3):300-307.

[5] 肖静,梁芙宁,纪秀外,等. 荧光染色法在尿布皮炎继发真菌感染诊断中的应用[J]. 中国医师杂志,2022,27(11):1728-1730.

[6] 陈胡林,王俊玲,张培珠,等. 荧光染色法和 KOH 湿片法在浅表真菌感染诊断中的比较应用[J]. 中华生物医学工程杂志, 2021,27(4):404-408.

(下转第 102 页)

气管堵塞、术后中耳感染、术后不按时复查、术后早期较强活动是儿童鼓膜置管术后通气管早期脱落的危险因素,临床上应积极预防和干预此类因素的发生和影响,尽量减少鼓膜置管术后通气管过早脱落,提高疗效。

参考文献:

[1] Simon F, Haggard M, Rosenfeld RM, et al. International consensus (ICON) on management of otitis media with effusion in children[J]. Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis, 2018, 135 (1S): S33 – S39.

[2] Rosenfeld RM, Shin JJ, Schwartz SR, et al. Clinical practice guideline: Otitis media with effusion (update) [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2016, 154: 201 – 204.

[3] Yaman H, Yilmaz S, Guclu E, et al. Otitis media with effusion: recurrence after tympanostomy tube extrusion[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2010, 74(3): 271 – 274.

[4] 刘宇鹏, 杨军. 儿童分泌性中耳炎治疗国际共识(IFOS)解读及国内诊疗现状[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2018, 32 (21): 1674 – 1678.

[5] 李智群, 梁茂金, 张华宋, 等. 分泌性中耳炎患者咽鼓管三维 CT 特征[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(18): 3125 – 3129.

[6] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会小儿学组. 儿童分泌性中耳炎诊断和治疗指南(2021)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2021, 56(6): 556 – 567.

[7] 胡艳玲, 夏忠芳, 姚聪. 婴儿中耳积液手术干预时机与方式的探讨[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2021, 35(12): 1091 – 1096.

[8] 刘娅, 孙建军. 儿童分泌性中耳炎多国指南研读与解析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2020, 34(12): 1065 – 1069.

[9] Berkman ND, Wallace IF, Steiner MJ, et al. Otitis media with effusion: Comparative effectiveness of treatments [internet] [R/OL]. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US), 2013.

[10] 万学梅, 杨军. 儿童分泌性中耳炎鼓膜置管术后留置时间与复发的临床研究[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2017, 31(7): 500 – 503, 509.

[11] Wallace IF, Berkman ND, Lohr KN, et al. Surgical treatments for otitis media with effusion: a systematic review [J]. Pediatrics, 2014, 133(2): 296 – 311.

[12] 田媛, 石颖, 魏兴梅, 等. 儿童分泌性中耳炎置管术后复发相关危险因素研究[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2016, 23(8): 435 – 439.

[13] 陈良嗣, 彭解人, 许耀东, 等. 儿童鼓膜切开置管术的并发症及其防治[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2001, 9(4): 224 – 226.

[14] 雷雳, 王丹妮, 郝欣平, 等. 鼓膜置管术治疗放射性分泌性中耳炎的疗效及其并发症处理[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2020, 34(4): 334 – 337.

(收稿日期: 2024 – 01 – 07)

本文引用格式: 敬尚林, 余翔, 贤耀军, 等. 儿童分泌性中耳炎鼓膜置管术后通气管留置时间与疗效的关系及其影响因素分析[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2024, 30(5): 98 – 102. DOI: 10.11798/j. issn. 1007 – 1520. 202424013

Cite this article as: JING Shanglin, YU Xiang, XIAN Yaojun, et al. Analysis of the relationship between the indwelling time of the ventilation tube and the therapeutic effect and its influencing factors after tympanic membrane catheterization in children with secretory otitis media [J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2024, 30(5): 98 – 102. DOI: 10.11798/j. issn. 1007 – 1520. 202424013

(上接第 97 页)

[7] Kamali Sarwestani H, Daie Ghazvini R, Hashemi SJ, et al. Investigation of etiologic agents and clinical presentation of otomycosis at a tertiary referral center in Tehran, Iran [J]. Iran J Public Health, 2019, 48(2): 331 – 337.

[8] Poplin V, Smith C, Milsap D, et al. Diagnosis of pulmonary infections due to endemic fungi[J]. Diagnostics (Basel), 2021, 11(5): 856.

[9] Burnham TK, Neblett TR, Fine G. The application of the fluorescent antibody technique to the investigation of lupus erythematosus and various dermatoses [J]. J Invest Dermatol, 1963; 41(10): 451 – 456.

(收稿日期: 2023 – 12 – 05)

本文引用格式: 邓海燕, 高兴强, 郭宇峰, 等. 荧光染色法快速诊断真菌性外耳道炎的意义[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2024, 30(5): 95 – 97, 102. DOI: 10.11798/j. issn. 1007 – 1520. 202423434

Cite this article as: DENG Haiyan, GAO Xingqiang, GUO Yufeng, et al. Significance of rapid diagnosis of fungal otitis externa by fluorescence staining[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2024, 30(5): 95 – 97, 102. DOI: 10.11798/j. issn. 1007 – 1520. 202423434