

## · 论著 ·

## 荧光染色法与KOH法在皮肤真菌直接镜检检查中的应用效果比较

曾 莉\*

信阳市人民医院 (河南 信阳 464000)

**【摘要】目的** 比较荧光染色法与KOH法在皮肤真菌直接镜检检查中的应用效果。**方法** 采集皮肤科门诊98例疑为皮肤真菌感染患者皮损标本, 每例均进行荧光染色法与KOH法检测, 比较检测结果。对比两种方法阳性率、不同标本阳性率、不同疾病类型阳性率。**结果** 总98例标本中, 荧光染色法阳性63例, 阴性35例, 阳性率为64.29%; KOH法阳性46例, 阴性52例, 阳性率为46.94%, 两者差异有统计学意义( $\chi^2=5.973$ ,  $P=0.015$ )。以KOH法为参考, 荧光染色法相对灵敏度100%, 相对特异度为67.31%; 采用荧光染色法检测头皮屑、甲屑、毛发阳性率均较KOH法高, 荧光染色法阳性率87.76%, KOH法阳性率68.37%, 差异有统计学意义( $\chi^2=10.755$ ,  $P=0.001$ ); 98例患者中, 皮屑标本87例, 其中体股癣最多, 其次为手足癣, 甲真菌病的甲屑标本3例, 头癣的毛发标本8例。荧光染色法阳性检出率较KOH法高( $\chi^2=18.092$ ,  $P<0.001$ )。**结论** 荧光染色法较KOH法结果更加准确、迅速, 能便于快速诊断皮肤真菌感染状况。

**【关键词】** 皮肤真菌感染; 荧光染色法; KOH法; 不同疾病类型阳性率

**【中图分类号】** R756

**【文献标识码】** A

**DOI:**10.3969/j.issn.1009-3257.2023.02.045

## Comparison of the Effect of Fluorescence Staining and KOH Method in Direct Microscopic Examination of Skin Fungi

ZENG Li\*

Xinyang People's Hospital, Xinyang 464000, Henan Province, China

**Abstract: Objective** To compare the effect of fluorescence staining and KOH method in direct microscopic examination of skin fungi. **Methods** A total of 98 patients with suspected fungal infection were collected from the outpatient department of dermatology. Fluorescence staining and KOH method were used to detect the lesions in each case. The positive rates of the two methods, different specimens and different disease types were compared. **Results** Of the 98 samples, 63 were positive and 35 were negative by fluorescence staining, the positive rate was 64.29%. There were 46 positive cases and 52 negative cases by KOH method, the positive rate was 46.94% ( $\chi^2=5.973$ ,  $P=0.015$ ). With KOH method as reference, the relative sensitivity and relative specificity of fluorescence staining were 100% and 67.31%. The positive rates of dandruff, nail dandruff and hair detected by fluorescence staining method were higher than that of KOH staining method. The positive rate was 87.76% by fluorescence staining and 68.37% by KOH staining, and the difference was statistically significant ( $\chi^2=10.755$ ,  $P=0.001$ ); Of the 98 patients, 87 were skin splatyskin specimens, psoriasis psoriasis was the most psoriasis, hand-foot psoriasis was the next, onychomycosis was 3 cases, psoriasis was 8 cases hair. The positive rate of fluorescence staining was higher than that of KOH staining ( $\chi^2=18.092$ ,  $P<0.001$ ). **Conclusion** Fluorescence staining method is more accurate and rapid than KOH method, and it is convenient for rapid diagnosis of skin fungal infection.

**Keywords:** Fungal Skin Infection; Fluorescence Staining; KOH Method; Positive Rate of Different Disease Types

皮肤真菌感染作为皮肤科常见疾病, 致病菌较多, 酵母菌、皮肤癣菌、非皮肤癣菌性丝状真菌等, 其中以皮肤癣菌最为多见, 其中红色毛癣菌占比最大, 发病率较高, 尽早明确病情、有效的鉴别诊断可为预后治疗提供较多参考<sup>[1-2]</sup>。临床医师常以能快速诊断、鉴别真菌的检验技术帮助临床诊疗。进行真菌检查的常用方法为培养法及直接镜检法, 但培养法需较多耗时<sup>[3]</sup>。荧光染色法、KOH法均为临床应用较广的直接镜检法, 可针对皮肤真菌感染在检测中发挥一定作用。KOH法受干扰状况多、主观性强, 易存在漏诊状况。荧光染色法经荧光标记的真菌酶和真菌细胞壁内几丁质结合, 在荧光显微镜下能观测到真菌结构, 在进行皮肤真菌检查中具备一定优势。本研究选取皮肤科门诊98例疑为皮肤真菌感染患者皮损标本, 比较荧光染色法与KOH法的应用效果。现报告如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 本研究采集皮肤科门诊98例疑为皮肤真菌感染患者皮损标本, 每例均进行荧光染色法与KOH法检测, 比较检测结果。均为临床特征疑似皮肤真菌感染者, 排除近一个月内使用外用、系统抗真菌药物者。年龄3~73岁, 平均年龄(59.54±3.62)岁; 皮屑87例, 甲屑8例, 毛发3例。

#### 1.2 方法

**1.2.1 器材** KOH溶液: 采用我院检验科5%KOH溶液。荧光染色液: 选用试剂组成分为荧光增白剂、氢氧化钾、纯化水及伊文思蓝, 均由珠海丰炎科技有限公司提供。显微镜使用奥林巴斯CX31型显微镜, 增加设置荧光模块。

**1.2.2 方法** 材料: 采用蘸有75%乙醇无菌棉签消毒、湿润皮损部位, 甲屑标本挑选增厚混黄伴鳞屑、空变病甲碎屑; 皮屑标本挑选活动性皮损边缘位置皮屑; 毛发则取皮损内病发和毛根鳞屑; 所有标本一式两份, 依次进行荧光染色法、KOH法检测。荧光染色法, 于标本上滴加荧光染色液, 将盖玻片盖上, 静待1min, 将待染液和标本充分混合, 进行数秒染色, 将多余残液吸除, 在显微镜荧光模块下进行检测, 见菌丝、孢子则为阳性; KOH法于标本上滴加KOH溶液, 将盖玻片盖上, 使用酒精灯进行适当加热, 将标本角质成分消解, 在显微镜普通光镜下进行检测, 见到孢子、菌丝便为阳性。

**1.3 观察指标** (1)阳性率。(2)不同标本阳性率: 记录对比皮屑、毛发、甲屑采用荧光染色法、KOH法阳性检测率。(3)不同疾病类型阳性率: 记录对比皮屑中体股癣、手足癣、马拉色菌性毛囊炎、脂溢性皮炎、毛发中头癣、甲屑中甲真菌病阳性率。

**1.4 统计学方法** 采用SPSS 22.0分析, 计量资料( $\bar{x} \pm s$ )表示,  $t$ 检验, 计数资料n(%)表示,  $\chi^2$ 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

【第一作者】曾 莉, 女, 主管检验技师, 主要研究方向: 临床检验微生物学。E-mail: zengli6832@163.com

【通讯作者】曾 莉

## 2 结果

**2.1 阳性率** 总98例标本中, 荧光染色法阳性63例, 阴性35例, 阳性率为64.29%; KOH法阳性46例, 阴性52例, 阳性率为46.94%, 两者差异有统计学意义( $\chi^2=5.973$ ,  $P=0.015$ )。以KOH法为参考, 荧光染色法相对灵敏度100%, 相对特异度为67.31%。见表1。

**2.2 不同标本阳性率** 采用荧光染色法检测皮屑、甲屑、毛发阳性率均较KOH法高, 荧光染色法阳性率87.76%, KOH法阳性率68.37%, 差异有统计学意义( $\chi^2=10.755$ ,  $P=0.001$ )。见表2。

**2.3 不同疾病类型阳性率** 98例患者中, 皮屑标本87例, 其中体股癣最多, 其次为手足癣, 甲真菌病的甲屑标本3例, 头癣的毛发标本8例。荧光染色法阳性检出率较KOH法高( $\chi^2=18.092$ ,  $P<0.001$ )。见表3。

表1 阳性率n(%)

方法	荧光染色法	合计	
KOH法	+	-	
+	46	0	46
-	17	35	52
合计	63	35	98

表2 不同标本阳性率n(%)

标本来源	例数	荧光染色法		KOH法	
		阳性(%)	阴性(%)	阳性(%)	阴性(%)
皮屑	48	43(89.58)	5(10.42)	35(72.92)	13(27.08)
甲屑	29	22(75.86)	7(24.14)	18(62.07)	11(37.93)
毛发	21	21(100.00)	0(0.00)	14(66.67)	7(33.33)
合计		86(87.76)	12(12.24)	67(68.37)	31(31.63)

表3 不同疾病类型阳性率n(%)

样本类型	疾病类型	例数	荧光染色法	KOH法
皮屑	体股癣	36	33(91.67)	31(86.11)
	手足癣	30	27(90.00)	23(76.67)
	马拉色菌性毛囊炎	10	9(90.00)	4(40.00)
	脂溢性皮炎	11	11(100.00)	0(0.00)
毛发	头癣	8	8(100.00)	8(100.00)
甲屑	甲真菌病	3	2(66.67)	1(33.33)
	合计	98	90	66

## 3 讨论

皮肤真菌感染属真菌性疾病内的一种, 常因人体指甲、皮肤、毛发等部位受真菌侵袭导致, 通常可包含手足癣、体股癣、头癣及甲癣等, 诱发该病发生的常见真菌存在念珠菌、马拉色菌及皮肤癣菌等<sup>[4-5]</sup>。皮肤真菌感染受三大类亲人性病原菌和人类关系紧密, 宿主和该类真菌进行长期相互作用致遗传易感、接触传染, 产生发病率高、复发率高的状况<sup>[6-7]</sup>。皮肤真菌感染存在显著的传染性, 多发生交叉感染, 同时病情易复发, 影响患者正常生活及工作。经流行病学显示, 皮肤真菌感染在全世界多地均存在流行性, 我国作为该病的高发区域<sup>[8-9]</sup>。根据相关数据表明, 皮肤真菌感染在皮肤科门诊患者中占比较大, 于部分季节或地区内居于首位, 发病率较高, 通常尽早、明确的诊断可为后续治疗提供有效依据<sup>[10-12]</sup>。

临床常通过培养法进行真菌检测, 但花费时间较长, 限制临床应用范围。近些年来, 临床常用直接镜检法作为对皮肤真菌检测的常用技术, 最为常用的两种方法为荧光染色法、KOH法<sup>[13-14]</sup>。KOH法具备成本低廉、操作简单、不必使用特殊仪器等较多优势, 在临床上应用广泛, 但该检测技术同时也存在影响因素较多、主观性强等缺陷, 进行镜下检查时常存在标本背景混乱, 无法有效突出真菌结构, 对结果判读存在感染等问题, 且对存在菌丝、脂滴及孢子量少等其他状况下容易出现漏检, 对检测人员的操作水平、专业性及相关经验存在较高要求<sup>[15-16]</sup>。同时, 皮肤真菌标本中存在甲标本角质含量较皮屑、分泌物等组织高, 甲真菌病KOH法镜检特异性、敏感性均较低。

荧光染色法是受具备特异性的荧光标记物共价结合的方式进行有关检测, 荧光染色液中所含荧光素、抑制背景荧光着色复染剂, 和真菌或者其他生物体细胞壁上方的几丁质及纤维素等一同表现产生高亲和力。荧光染色液组成为具备特殊荧光素标记几丁质酶溶液、10%KOH及抑制杂质荧光干扰溶液<sup>[17-18]</sup>。通过显微镜荧光模块能仔细观察到在特定激发光下出现的荧光, 并令孢子、菌丝出现明亮的亮蓝白色荧光, 可和暗背景产生显著反差及对比, 能增强检测结果阳性率, 并且荧光剂和真菌亲和力较高, 能在数十秒之内完成反应, 显著增强真菌检测效率、灵敏度。尽管荧光染色法对纤维素也可进行标志, 但纤维形态不规则, 存在边缘锐利, 横隔、无菌丝等结构, 容易鉴别。经荧光显微镜散发出紫外光激发, 波长340~380nm, 仅真菌结构散发出亮蓝色荧光, 和周围黑暗背景构成鲜明对比, 菌丝、孢子成像清晰, 易于辨认, 能显著增高检测阳性率。荧光染色随放置时间增强亮度逐步下降, 但能经复染恢复。该方法的荧光染色液将纤维着色, 可有效发出荧光, 纤维在大小、形态、粗细及结构等方面都和菌丝存在较大差异, 一般均可辨别出。而在皮肤真菌感染中皮肤癣菌存在发生率降低的因素, 同时酵母样菌、念珠菌等存在发生率上升状况。经过荧光染色法能更便于识别出真菌孢子, 可在疑难标本内增强马拉色菌性毛囊炎、念珠菌性甲真菌病等病原菌检出率。该方法具备快捷、简单方便, 敏感性等优点。但荧光染色法荧光染色液也存在荧光淬灭的可能性, 在使用一段时间后易存在荧光强度降低状况, 可进行避光保存<sup>[19]</sup>。

荧光染色镜检和KOH镜检对比存在以下优势, 荧光染色法样本筛查时间短, 每张标本KOH法镜检时常需花费3~4min扫视, 荧光染色法在低倍镜下1min内便可完成扫视, 发现、筛选出目标; 在荧光染色镜下涂片碎片、背景材料易被区分出来, 降低假阳性率。

荧光染色法和KOH法相比, 初学者容易掌握检测技巧, 弥补初学者工作经验不足的问题, 降低假阴性率, 且便于迅速出具检测报告, 准确效果理想,

综上所述, 荧光染色法较KOH法结果更加准确、迅速, 能便于快速诊断皮肤真菌感染状况。

## 参考文献

- [1] 刘治杆. 皮炎湿疹患者皮肤常见细菌、真菌的检测与临床治疗效果[J]. 临床合理用药杂志, 2020, 13(35): 142-143.
- [2] Zhang M, Jiang L, Li F, et al. Simultaneous dermatophytosis and keratomycosis caused by Trichophyton interdigitale infection: A case report and literature review[J]. BMC Infect Dis, 2019, 19(1): 983.
- [3] 刘付华, 王鹏, 陈波, 等. 清远地区皮肤科门诊浅部真菌发病的临床分析[J]. 皮肤病与性病, 2021, 43(2): 204-205, 210.
- [4] Braun C, Nosbaum A. Histoire naturelle de la dermatite atopique: Natural History of Atopic Dermatitis. Ann Dermatol Venerol [J]. 2019, 146(12S3): 12S58-12S66.
- [5] 景文文, 周永安. Wood灯检查在部分皮肤浅部真菌病诊断中的应用价值评估[J]. 临床医学研究与实践, 2018, 3(8): 138-139.
- [6] Bassetti M, Bouza E. Invasive mould infections in the ICU setting: complexities and solutions[J]. J Antimicrob Chemother, 2017, 72(suppl\_1): i39-i47.
- [7] 周娜娜, 刘雪, 王敬茶, 等. 甲真菌病和甲银屑病患者的皮肤镜临床特征分析比较[J]. 中国临床医生杂志, 2021, 49(6): 722-725.
- [8] May P J, Tong S Y C, Steer A C, et al. Treatment, prevention and public health management of impetigo, scabies, crusted scabies and fungal skin infections in endemic populations: a systematic review[J]. Trop Med Int Health, 2019, 24(3): 280-293.
- [9] 张玉丽, 程毅, 胡彩霞, 等. 甲真菌病的皮肤镜特征研究[J]. 实用皮肤病学杂志, 2021, 14(2): 84-87.
- [10] Khurana A, Sardana K, Chowdhary A. Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications[J]. Fungal Genet Biol, 2019, 132: 103255.
- [11] 冀英, 马彦, 岑雯, 等. 皮肤镜及荧光染色镜检在甲真菌病诊断中的应用比较[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2020, 30(23): 2823-2825, 2829.
- [12] 靳慧平, 甄莉. 皮肤镜和溶甲涂片镜检在甲真菌病诊断中的应用[J]. 安徽医药, 2020, 24(11): 2218-2221.
- [13] 李锦芳, 郑永平. 皮肤镜检对银屑病甲与甲真菌病的鉴别诊断分析[J]. 皮肤病与性病, 2020, 42(5): 691-693.
- [14] 黎华莉, 赵金柳, 蒋茵, 等. 甲真菌病与甲银屑病甲皮肤镜图像特征对比分析[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2020, 34(11): 1272-1276.
- [15] 于波. 荧光染色法与KOH湿片法在皮肤浅部真菌感染检查中的效果比较[J]. 皮肤病与性病, 2020, 42(4): 580-582.
- [16] 冉玉平, 杨琴, 庄凯文, 等. 常见皮肤真菌病临床及真菌形态学检查[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(10): 750-757.
- [17] 林宇宁, 杨正生, 林瑞静, 等. 皮肤浅部真菌患者KOH镜检结果及细胞免疫相关指标对真菌感染和定植的鉴别价值分析[J]. 中国实验诊断学, 2021, 25(6): 796-800.
- [18] 陈小芳. 荧光染色法与KOH湿片法在皮肤浅部真菌感染检查中效果比较[J]. 皮肤病与性病, 2018, 40(5): 733-734.
- [19] 李椅云, 李平, 颜景兰. 荧光染色法与KOH法在皮肤真菌检查中的效果比较[J]. 中国微生物学杂志, 2020, 32(1): 87-90.

(收稿日期: 2022-08-25) (校对编辑: 何镇喜)