DOI：10.3969/j.issn.1004-4949.2026.16.028

荧光染色法对皮肤浅部真菌感染的快速诊断价值

刘满连
（广州市皮肤病医院检验科，广东 广州 510080）

[摘 要]**目的** 探究基于荧光染色法的皮肤浅部真菌感染快速诊断方案的临床应用效果。**方法** 选取广州市皮肤病医院2024年1月-2025年12月收治的90例皮肤浅部真菌感染患者，均采取组织学快速诊断方法，比较氢氧化钾湿片法、荧光染色法两种技术的诊断效果。**结果** 荧光染色法对头面部、手足部、甲部的阳性检出率以及总检出率均高于氢氧化钾湿片法（$P<0.05$）；荧光染色法对甲癣、体癣、手足癣、花斑癣、马拉色菌性毛囊炎的阳性检出率与总检出率均高于氢氧化钾湿片法（$P<0.05$）。**结论** 相比于氢氧化钾湿片法，荧光染色法在皮肤浅部真菌感染快速诊断方案中应用效果确切，对不同病变、不同部位的阳性检出率较高，可为临床诊疗方案制定提供客观依据。

[关键词] 皮肤浅部；真菌感染；快速诊断方案；氢氧化钾湿片法；荧光染色法；检出率
[中图分类号] R756 [文献标识码] A [文章编号] 1004-4949（2026）16-0117-04

Value of Fluorescent Staining Method in Rapid Diagnosis of Superficial Cutaneous Fungal Infections

LIU Manlian
(Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Dermatology Hospital, Guangzhou 510080, Guangdong, China)

[Abstract]Objective To explore the clinical application effect of rapid diagnostic protocol for superficial cutaneous fungal infections based on fluorescent staining method. **Methods** A total of 90 patients with superficial cutaneous fungal infections admitted to Guangzhou Dermatology Hospital from January 2024 to December 2025 were selected and received rapid histological diagnosis. The diagnostic performance of potassium hydroxide wet mount method and fluorescent staining method was compared. **Results** The positive detection rates of fluorescent staining method for lesions on head and face, hands and feet, nail lesions and the overall detection rate were higher than those of potassium hydroxide wet mount method ($P<0.05$). The positive detection rates for onychomycosis, tinea corporis, tinea manus and pedis, tinea versicolor, Malassezia folliculitis and the overall detection rate of fluorescent staining method were higher than those of potassium hydroxide wet mount method ($P<0.05$). **Conclusion** Compared with potassium hydroxide wet mount method, fluorescent staining method has definite efficacy in the rapid diagnosis of superficial cutaneous fungal infections, with high positive detection rate for lesions of different types and sites. It can provide objective evidence for the formulation of clinical diagnosis and treatment schemes.

[Key words] Superficial skin; Fungal infection; Rapid diagnostic protocol; Potassium hydroxide wet mount method; Fluorescent staining method; Detection rate

皮肤浅部真菌感染（superficial cutaneous fungal infections）是一种因真菌侵犯皮肤角质层等组织所诱发的皮肤疾病，症状以皮肤红斑、丘疹等表现为主，严重影响患者皮肤表面美观度，易导致其产生抑郁等负面情绪[1, 2]。该病是一种传染性较高的疾病，症状反复发作，易加剧患者身心负担。早期诊治皮肤浅部真菌感染对制定个体差异化治疗方案、提高疗效等方面具有重要意义。临床通常采取荧光染色法、氢氧化钾湿片法诊断，但不同检查方式的诊断效果存在一定差异[3]。氢氧化钾湿片法是一种使用率较高的实验室检查方法，操作便捷、经济实惠，检测结果等候时间较

第一作者：刘满连（1988.2-），女，广东韶关人，本科，技师，主要从事皮肤浅部、真菌感染相关研究工作

医学美学美容

短，但其存在一定不足，如主观性较强等，易加大误诊等不良情况发生风险[4]。真菌荧光染色法是一种应用于诸多疑似真菌感染的诊断方法，通过将特殊的荧光素与真菌细胞壁甲壳素、纤维素相结合，促使医师能在荧光显微镜辅助下更加清晰、直观了解与分析其分布形态，有利于提高诊断准确性[5]。鉴于此，本研究分析基于荧光染色法的皮肤浅部真菌感染快速诊断方案的应用效果与价值，旨在为临床提供一定参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以广州市皮肤病医院2024年1月–2025年12月收治的90例皮肤浅部真菌感染患者为主要观察对象，其中男47例（52.22%）、女43例（47.78%）；年龄18~80岁，平均年龄（57.38±10.43）岁；体质量指数（BMI）18.94~32.47 kg/m^2，平均BMI（24.58±2.14）kg/m^2；样本采集部位：头面部16例（17.78%）、手足部29例（32.22%）、甲部10例（11.11%）、体股部35例（38.89%）。所有患者均知晓研究内容，自愿参与并签署知情同意书。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准：①症状表现、病原学检查等综合诊断为皮肤浅部真菌感染；②年龄18~80岁，性别不限；③无认知、精神、意识或言语交流等功能障碍；④依从性或配合度较佳。排除标准：①急慢性传染性或感染性疾病；②恶性肿瘤；③心肝肾等器官或组织严重器质性病变；④凝血功能异常；⑤内分泌、血液或免疫等系统疾病；⑥出血性疾病；⑦中途因个人原因申请退出研究。

1.3 方法 实施组织学快速诊断方法，分析氢氧化钾湿片法、荧光染色法两种技术的检查效果，具体如下：①样本采集：无菌生理盐水浸润、消毒病变部位（浸润湿度：75%）：ⓐ 手足：用无菌刮菌刀从患处甲屑或者经甲沟采集分泌物，置于玻璃板上方（数量：2片）；ⓑ 皮屑：用无菌生理盐水滴在无菌刮菌刀上病变部位边缘刮取、采集皮屑；ⓒ 甲屑：用无菌生理盐水滴在无菌刮菌刀于病甲、健甲两者交接部位采集样本，尽量临近甲下深层病变部位；ⓓ 毛发：通过乙醇消毒灭菌后，以镊子于病变处拔除毛发。上述样本均采集2份；②设备、材料：ⓐ 氢氧化钾溶液（浓度：10%）：纯水（剂量：100 ml）+氢氧化钾（湖南尔康制药股份有限公司，湘食药辅准字F20070001，规格：500 g/瓶；剂量：10 g）均匀混合；ⓑ 荧光染色剂（南京汉瑞生物科技有限公司，苏宁械备20170005号，规格：10 ml）；ⓒ CX23LEDRS1C型生物显微镜[奥林巴斯（广州）工业有限公司，粤食药监械生产许20091712号]并添加荧光模块；③检测方法：ⓐ 氢氧化钾湿片法：将待检样本（数量：1份）放置于载玻片中央，滴加浓度为10%的氢氧化钾溶液，以玻片完全覆盖，清除玻片上的气泡，以乙醇灯微加热，以普通光学显微镜进行观察与分析；ⓑ 荧光染色法：将待检样本（数量：1份）置于水平位置上，直接向样本滴加一滴染色液，染色液完全覆盖或者淹没整个样品，促使染料与样本充分结合，持续染色120 s；盖上盖玻片，吸除多余染液，置于荧光显微镜下观察；④评价方法：ⓐ 氢氧化钾湿化法：以浓度为10%的氢氧化钾溶液完全浸润皮损样本，于显微镜下观察，若颜色为透明或者淡绿色，合并孢子或者菌丝，评定为阳性；ⓑ 荧光染色法：以荧光染色材料对皮损样本进行染色，于荧光显微镜下密切关注样品，观察到带荧光的真菌，说明样本中有真菌感染，若未观察到带荧光的真菌，则说明样本没有真菌感染。

1.4 观察指标 记录两种检测方法对不同部位（头面部、手足部、甲部以及体股部）、不同疾病（皮肤浅部真菌感染主要包括甲癣、体癣、手足癣、花斑癣、马拉色菌性毛囊炎、皮炎）的阳性检测率。

1.5 统计学方法 采用SPSS 27.0统计学软件进行数据分析，计数资料采用[n（%）]进行描述，组间比较采用χ^2检验，$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种检测方法对不同部位的阳性检测率比较 荧光染色法对头面部、手足部、甲部的阳性检出率以及总检出率均高于氢氧化钾湿片法（$P<0.05$）；两种检测方法对体股部阳性检出率比较，差异无统计学意义（$P>0.05$），见表1。

医学美学美容

2.2 两种检测方法对不同疾病的阳性检测率比较 荧光染色法对甲癣、体癣、手足癣、花斑癣、马拉色菌性毛囊炎的阳性检出率与总检出率均高于氢氧化钾湿片法（$P<0.05$）；两种检测方法对皮炎的阳性检出率比较，差异无统计学意义（$P>0.05$），见表2。

表1 两种检测方法对不同部位的阳性检测率比较［n（%）］

部位	n	氢氧化钾湿片法		荧光染色法		χ^2	P
		阳性	阴性	阳性	阴性		
头面部	16	8（50.00）	8（50.00）	14（87.50）	2（12.50）	5.236	0.022
手足部	29	17（58.62）	12（41.38）	28（96.55）	1（3.45）	11.997	0.001
甲部	10	2（20.00）	8（80.00）	9（90.00）	1（10.00）	9.889	0.002
体股部	35	23（65.71）	12（34.29）	30（85.71）	5（14.29）	3.807	0.051
合计	90	50（55.56）	40（44.44）	81（90.00）	9（10.00）	26.948	0.000

表2 两种检测方法对不同疾病的阳性检测率比较［n（%）］

疾病	n	氢氧化钾湿片法		荧光染色法		χ^2	P
		阳性	阴性	阳性	阴性		
甲癣	11	4（36.36）	7（63.64）	10（90.91）	1（9.09）	7.071	0.008
体癣	14	7（50.00）	7（50.00）	13（92.86）	1（7.14）	6.300	0.012
手足癣	30	21（70.00）	9（30.00）	28（93.33）	2（6.67）	5.455	0.020
花斑癣	8	3（37.50）	5（62.50）	7（87.50）	1（12.50）	4.267	0.039
马拉色菌性毛囊炎	20	10（50.00）	10（50.00）	17（85.00）	3（15.00）	5.584	0.018
皮炎	7	5（71.43）	2（28.57）	6（85.71）	1（14.29）	0.424	0.515
合计	90	50（55.56）	40（44.44）	81（90.00）	9（10.00）	26.948	0.000

3 讨论

皮肤浅部真菌感染应与湿疹、接触性皮炎、深部真菌病以及皮肤细菌感染等疾病进行鉴别，避免误诊。尽管有明确的诊断标准，但在实际应用中仍存在一定的局限性，需要结合临床经验和进一步的检查确诊。临床样本真菌直接镜检、培养两种检查方法各自存在优缺点，其中真菌直接镜检查会因为样本中杂质较多而造成背景混乱，特别是甲屑样本，容易将细胞壁、纤维等成分错认为菌丝，导致误诊率或者漏诊率明显提高；镜检结果个体主观性严重[6，7]。真菌培养结果与样本采集质量、数量、患者短时间用既往史等诸多因素存在密切关系，且结果等候时间较长，临床应用受限[8]。荧光染色法通过应用特殊的荧光素与几丁质（系真菌细胞壁中）存在高效、高特异性结合，于荧光显微镜紫外光、蓝紫色特殊激发光波段下，菌丝、孢子会产生强烈的蓝绿色荧光反应，在背景下分辨率较高[9，10]。氢氧化钾湿片法通过应用氢氧化钾溶液，快速溶解上皮细胞、红细胞等背景成分，并保持真菌菌丝、孢子的结构完整性，促使显微镜视野更加清晰，易辨识被细胞碎片所遮蔽的菌丝[11]。因其独特的化学性质、操作简便性，在皮肤浅部真菌感染快速诊断中发挥重要作用，但值得注意的是，此种方式需在样本采集后10 min内完成镜检，进而避免因氢氧化钾长时间作用而导致真菌结构破坏[12]。荧光染色法的作用机制、工作原理主要是立足于特异性抗体与真菌抗原的结合，荧光素标记的抗体与真菌细胞壁特定抗原的结合，进而形成抗原-抗体复合物，发挥强烈荧光，进而实现对真菌的快速、准确检测[13，14]。

本研究结果显示，荧光染色法对头面部、手

医学美学美容

足部、甲部的阳性检出率以及总检出率均高于氢氧化钾湿片法（$P<0.05$）；荧光染色法对甲癣、体癣、手足癣、花斑癣、马拉色菌性毛囊炎的阳性检出率与总检出率均高于氢氧化钾湿片法（$P<0.05$），与耿礼倩等[15]研究结果相似。分析其原因，荧光染色法通过特异性标记真菌抗原，利用荧光显微镜更加清晰、直接观察荧光形态，可快速、精准地检测真菌，有利于为临床诊疗提供重要依据；基于细胞壁多糖的特异性光学标记，通过荧光染料与真菌细胞壁中的几丁质和β-葡聚糖等多糖类物质结合，形成稳定的复合物；在特定波长的激发光照射下，这些复合物会发射出明亮的蓝绿色或蓝白色荧光，从而在荧光显微镜下与暗色或弱荧光的背景形成鲜明对比，使真菌结构清晰可见，实现快速诊断。荧光染色法自带“信号放大”优势，染色液中的荧光探针能高亲和力结合真菌细胞壁的几丁质、β-多糖等特有成分，能通过荧光信号清晰识别；且光染色液中的荧光探针具有高度特异性，只与真菌细胞壁成分结合，不与人体细胞、细菌、支原体等非真菌成分反应，背景干扰少，诊断更准确。

综上所述，荧光染色法在皮肤浅部真菌感染快速诊断方案中应用效果优于氢氧化钾湿片法，可提高不同部位、不同皮肤真菌感染疾病的阳性检出率，有利于为临床诊治提供客观依据。

[参考文献]

[1]王捷敏,龙宾曼,刘琼,等.荧光染色法与复方氢氧化钾湿片法在1025例皮肤浅部真菌感染检测中的比较[J].安徽医药,2023,27(4):808-810.

[2]李飞妹,刘健,杨慧琼,等.免疫荧光染色在呼吸道深部真菌感染快速病理诊断中的应用价值[J].实验与检验医学,2024,42(1):13-16.

[3]Felix ITJ,Marting BA,Dos Santos CTB,et al.The Role of Trypan Blue as a conventional and flurescent dye for the diagnosis of superficial mycoses by potassium hydroxide (KOH) testing[J].Mycopathologia,2023,188(5):815-819.

[4]梁琴.对比观察荧光染色法和氢氧化钾湿片法在皮肤浅部真菌感染鉴别中的价值[J].现代诊断与治疗,2024,35(16):2476-2478.

[5]胡杰伟,陈晶晶,汤霞,等.新一代真菌荧光成像及计算机视觉系统在浅部真菌检测中的临床应用[J].临床检验杂志,2023,41(12):891-894.

[6]Jeon J,Kim YH,Lim SH,et al.Comparing the diagnostic accuracy of PCR-reverse blot hybridization assay and conventional fungus study in superficial fungal infection of the skin:A systematic review[J].Mycoses,2024,67(1):e13678.

[7]莫南芳,苏潇雨,王双杰,等.真菌荧光染色在侵袭性真菌感染病理学诊断中的应用研究[J].广西医科大学学报,2023,40(12):2023-2028.

[8]臧晓慧,梁宵钊,刘维达.直接PCR与多重实时PCR检测临床标本的实用性评估[J].中国真菌学杂志,2024,19(1):43-46.

[9]邵冰洁,岳学状.真菌免疫荧光染色对皮肤浅部真菌感染的快速诊断价值[J].江苏医药,2025,51(3):290-293.

[10]Khurana U,Marwah A,Dey V,et al.evaluating diagnostic utility of PAS stained skin scrape cytology smear in clinically suspected technique[J].J Family Med Prim Care,2023,11(3):1089-1094.

[11]Babu CK,Shubhra,Ghouse SM,et al.Luliconazole topical dermal drug delivery for superficial fungal infections:penetration hurdles and role of functional nanomaterials[J].Curr Pharm Des,2023,28(20):1611-1620.

[12]王欣榆,佘晓东,刘维达.皮肤浅部真菌病快速检测技术研究进展[J].中国真菌学杂志,2025,20(5):559-564.

[13]袁珊珊,赵丽君,袁小多.荧光染色法在皮肤浅部真菌感染检验诊断中的临床意义[J].黑龙江医药,2025,38(6):1448-1450.

[14]林宁宁,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.

[15]耿礼倩,史娟,倪礼楠,等.上海市皮肤病医院住院患者浅部真菌病临床和病原菌分析[J].中国真菌学杂志,2025,20(3):245-250.

收稿日期：2026-5-7　　编辑：张孟丽

医学美学美容