

DOI:10.13350/j.cjpb.240518

• 临床研究 •

渗出性中耳炎患者血清和渗出液中免疫球蛋白浓度与微生物学的关系*

游雅婷¹,李维²,胡兴家¹,郭睿^{1**}

(1.中南大学湘雅医学院附属常德医院耳鼻咽喉头颈外科,湖南常德 415000;2.中南大学湘雅二医院耳鼻咽喉头颈外科)

【摘要】 目的 探讨渗出性中耳炎患者血清和渗出液中免疫球蛋白浓度与微生物学的关系。方法 选取本院就诊的118例渗出性中耳炎患者作为研究对象,记为渗出性中耳炎组,选取同时期在本院体检者50例作为对照组。检测血清及耳积液中免疫球蛋白水平。根据渗出性中耳炎患者病原菌培养结果分为病原菌阳性组49例及病原菌阴性组69例,检测病原菌与血清及渗出液免疫球蛋白的关系。结果 与对照组相对比,渗出性中耳炎组血清IgA、IgG、IgM水平均显著升高($P < 0.05$);渗出性中耳炎组渗出液免疫球蛋白A(IgA)、免疫球蛋白G(IgG)、免疫球蛋白M(IgM)水平较血清IgA、IgG、IgM水平均显著升高($P < 0.05$)。118例渗出性中耳炎患者共检测出病原菌109株,其中,流感嗜血杆菌(33株)占比最高,占30.28%,其次为金黄色葡萄球菌(30株),占27.52%,肺炎链球菌(22株)占20.18%。118例渗出性中耳炎患者病原菌阳性49例,占41.53%。与病原菌阴性组对比,病原菌阳性组患者血清IgA、IgG、IgM水平均显著升高($P < 0.05$)。与病原菌阴性组对比,病原菌阳性组患者渗出液IgA、IgG、IgM水平较高,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 渗出性中耳炎患者血清免疫球蛋白浓度可能受渗出液中微生物存在的影响,而渗出液中免疫球蛋白浓度可能不受渗出液中微生物存在的影响。

【关键词】 渗出性中耳炎;免疫球蛋白;微生物学

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)05-0583-04

[*Journal of Pathogen Biology*. 2024 May;19(5):583-586.]

Immunoglobulin concentrations in serum and exudate of patients with exudative otitis media in relation to microbiology

YOU Yating¹, LI Wei², HU Xingjia¹, GUO Rui¹ (1. Changde Hospital Affiliated to Xiangya Medical College of Central South University, Changde 415000, Hunan, China; 2. Xiangya Second Hospital of Central South University)***

【Abstract】 **Objective** To explore the relationship between immunoglobulin concentration in serum and exudate of patients with exudative otitis media and microbiology. **Methods** 118 patients with exudative otitis media who visited our hospital were selected as the study subjects, designated as the exudative otitis media group, and 50 patients who underwent physical examinations at the same time in our hospital were selected as the control group. Detect immunoglobulin levels in serum and ear fluid. According to the pathogen culture results of patients with exudative otitis media, they were divided into a pathogen positive group of 49 cases and a pathogen negative group of 69 cases. The relationship between pathogens and serum and exudate immunoglobulins was detected. **Results** Compared with the control group, the serum levels of IgA, IgG, and IgM in the exudative otitis media group were significantly increased ($P < 0.05$); The levels of immunoglobulin A (IgA), immunoglobulin G (IgG), and immunoglobulin M (IgM) in the exudate of the otitis media group were significantly higher than those in the serum ($P < 0.05$). A total of 109 strains of pathogenic bacteria were detected in 118 patients with exudative otitis media. Among them, the highest proportion was *Haemophilus influenzae* (33 strains), accounting for 30.28%, followed by *Staphylococcus aureus* (30 strains), accounting for 27.52%, and *Streptococcus pneumoniae* (22 strains), accounting for 20.18%. Among 118 patients with exudative otitis media, 49 were positive for pathogens, accounting for 41.53%. Compared with the pathogen negative group, the serum levels of IgA, IgG, and IgM in the pathogen positive group were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the pathogen negative group, the pathogen positive group had higher levels of IgA, IgG, and IgM in the exudate, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** The serum immunoglobulin concentration in patients with

* **【基金项目】** 湖南省创新型省份建设专项课题(No. S2023JJBMLH1355);湖南省卫生健康委科研计划项目(No. 202207012807)。

** **【通讯作者】** 郭睿, E-mail: guorui860908@163.com

【作者简介】 游雅婷(1990-),女,湖南常德人,硕士研究生,主治医师,主要研究耳鼻咽喉头颈外科疾病。E-mail:13307361099@163.com

exudative otitis media may be influenced by the presence of microorganisms in the exudate, while the immunoglobulin concentration in the exudate may not be affected by the presence of microorganisms in the exudate.

【Key words】 exudative otitis media; immunoglobulin; microbiology

渗出性中耳炎是发生于中耳且中耳炎性液体积聚,但不存在穿孔的一种疾病^[1]。据统计,每年超过200万的患者发生渗出性中耳炎,但由于这种疾病无明显症状,且许多发作仍未确诊,疾病的真实发病率可能更高^[2]。渗出性中耳炎作为一种中耳黏膜的炎症性疾病,其主要特征为中耳腔内积液和(或)黏膜炎症。渗出性中耳炎可分为急性和慢性两种类型,急性渗出性中耳炎多由感冒、鼻咽部感染等因素诱发,慢性渗出性中耳炎则可能与过敏、环境污染等有关^[3-4]。本病好发于儿童,且反复发作可导致听力下降,影响患者的生活质量和学习能力。环境、微生物、宿主相关因素等均可能造成渗出性中耳炎的易感性,其中,细菌参与渗出性中耳炎已被广泛报道,有多种可用的方法能够识别中耳积液中的病原体,包括传统培养方法、聚合酶链式反应等,均可确定疾病发展中可能的病原体^[5-6]。随着对渗出性中耳炎研究的不断深入,有研究提出,机体免疫状态可能参与疾病的发生、发展^[7]。免疫球蛋白(Ig)是一类具有抗体活性的蛋白质,广泛存在于人体血清、淋巴液及组织液中,这些免疫球蛋白可通过中和病原体、激活补体系统等方式,发挥抗感染、抗炎作用,从而参与多种炎症的防御与修复^[8]。一项报道中发现,渗出性中耳炎患者血清及中耳积液中IgM表达明显高于健康体检者^[9]。但关于渗出性中耳炎患者血清和渗出液中免疫球蛋白浓度与微生物学的关系尚未见相关报道。

本研究旨在探讨渗出性中耳炎患者血清和渗出液中免疫球蛋白浓度与微生物学的关系。通过分析免疫球蛋白浓度与病原体种类、数量及病变程度的关系,揭示免疫球蛋白在渗出性中耳炎发病过程中的作用机制,为临床诊断、治疗和预防渗出性中耳炎提供新的思路 and 理论依据。

材料与方法

1 临床资料

回顾性选取在中南大学湘雅医学院附属常德医院耳鼻咽喉头颈外科检查的118例渗出性中耳炎患者作为研究对象进行分析,记为渗出性中耳炎组,选取时间段为2021年8月~2023年10月,并对患者的临床资料进行研究。其中,男性70例,女性48例;年龄10~63(33.57±5.79)岁;平均病程(3.27±0.66)月。纳入标准:①患者均符合关于中耳炎的诊疗指南^[10],且经影像学检测确诊;②患者伴有耳闷、耳胀、听力下降等

症状;③认知功能正常,且无感染性疾病;④在研究中对于样本的采集具有较高的配合度。排除标准:①患者肝肾功能或心脏功能存在功能障碍;②合并消化道疾病的患者;③对研究中所有药物过敏的患者;④化脓性中耳炎、耳部发育不全、发育畸形等疾病的患者。选取同时期在本院进行体检的健康受检者50例作为对照组,其中,男性30例,女性20例;年龄10~63(32.85±6.77)岁。渗出性中耳炎组与对照组患者一般资料差异无统计学意义($P>0.05$)。

2 方法

2.1 血清标本采集 所有研究对象均于清晨空腹状态下采集肘静脉血5 mL,置于乙二胺四乙酸(EDTA)真空抗凝采集管,以低温高速离心机(Eppendorf AG, 型号:5425R)以4 500 r/min的速度分离上层清液,置于一80℃超低温冰箱(天地精仪科技有限公司,型号:TH-86-500-LA)中待检,实验操作严格按照说明书进行。

2.2 耳积液标本采集 清洁患者外耳道,去除耵聍,给予其全身麻醉,铺巾,使用酒精消毒,在耳内镜辅助下使用针头刺入鼓室,采集0.5 mL左右中耳积液并进行标记,送实验室进行病原菌培养。

2.3 病原菌培养 取菌种接种至培养基上,在37℃、5%CO₂环境下培养24 h,观察培养结果,使用全自动微生物分析仪(Diachrom Biotechnologie GmbH, 型号:VITEK2)进行病原菌菌种的鉴定。

2.4 观察指标 采用酶联免疫吸附法检测血清及耳积液中免疫球蛋白水平,包括免疫球蛋白A(IgA)、免疫球蛋白G(IgG)、免疫球蛋白M(IgM)。

根据渗出性中耳炎患者病原菌培养结果分为病原菌阳性组49例及病原菌阴性组69例,检测病原菌与血清及渗出液免疫球蛋白的关系。

3 统计分析

采用SPSS 21.0统计学软件分析数据。本研究中计量资料两组间比较采用独立样本 t 检验,以($\bar{x}\pm s$)表示,指标包括IgA、IgG、IgM等;研究中计数资料组间比较采用 χ^2 检验,以[例(%)]表示,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1 患者血清及渗出液中免疫球蛋白浓度水平

与对照组相对比,渗出性中耳炎组血清IgA、IgG、IgM水平均显著升高($P<0.05$);渗出性中耳炎组渗

出液 IgA、IgG、IgM 水平较血清 IgA、IgG、IgM 水平均显著升高($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 患者血清及渗出液中免疫球蛋白浓度水平对比分析($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparative analysis of immunoglobulin concentration levels in serum and exudate of patients

分组 Group	例数 No.	IgA(g/L)	IgG(g/L)	IgM(g/L)
对照组	50			
血清		2.49±0.37	10.96±2.13	1.65±0.33
渗出性中耳炎组	118			
血清		4.10±1.64*	27.90±4.41*	3.95±1.71*
渗出液		4.87±1.74*#	32.10±5.46*#	5.00±1.93*#
F		41.720	378.190	71.230
P		<0.01	<0.01	<0.01

注:与对照组血清对比* $P < 0.05$;与同组血清对比# $P < 0.05$ 。

2 病原菌分布

118 例渗出性中耳炎患者共检测出病原菌 109 株,其中流感嗜血杆菌 33 株,占 30.28%;金黄色葡萄球菌 30 株,占 27.52%;肺炎链球菌 22 株,占 20.18%;普雷沃氏菌 10 株,占 9.17%;丙酸杆菌属 8 株,占 7.34%;卡他莫拉菌 1 株,占 0.92%;大肠埃希菌 1 株,占 0.92%;铜绿假单胞菌 1 株,占 0.92%;其他 3 株,占 2.75%。见图 1。

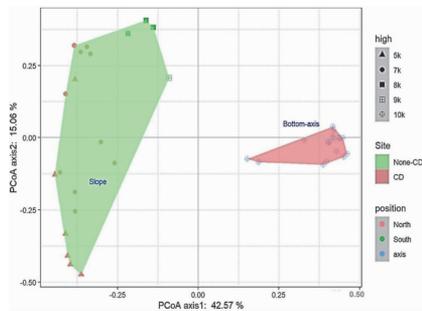


图 1 菌群群落主坐标分析

Fig. 1 Analysis of the main coordinates of the bacterial community

3 病原菌阳性与血清免疫球蛋白的关系

病原菌阳性组(49 例)患者血清 IgA、IgG、IgM 水平分别为(4.98±1.49)g/L、(34.58±4.46)g/L、(5.18±1.47)g/L,病原菌阴性组(69 例)患者血清 IgA、IgG、IgM 水平分别为(2.76±0.70)g/L、(12.38±3.20)g/L、(1.96±1.39)g/L,病原菌阳性组患者血清 IgA、IgG、IgM 水平均高于病原菌阴性组显著升高($t = 10.821, 31.497, 12.107$, 均 $P < 0.05$)。

4 病原菌阳性与渗出液免疫球蛋白的关系

病原菌阳性组(49 例)患者血清 IgA、IgG、IgM 水平分别为(5.17±1.85)g/L、(35.23±5.16)g/L、(5.56±1.52)g/L,病原菌阴性组(69 例)患者血清 IgA、IgG、IgM 水平分别为(5.05±2.27)g/L、(33.53±5.47)g/L、(5.35±3.56)g/L,与病原菌阴性组对

比,病原菌阳性组患者渗出液 IgA、IgG、IgM 水平较高,但差异无统计学意义($t = 0.305, 1.703, 0.388$, 均 $P > 0.05$)。

讨论

渗出性中耳炎是一种中耳内有液体但没有急性感染迹象的疾病,其病因包括细菌或病毒感染、咽鼓管或鼻咽的解剖生理异常、过敏性鼻炎、免疫系统异常等,且疾病可能伴随着细菌、病毒、炎症细胞、免疫细胞与上皮细胞间复杂多样的相互作用^[11-12]。发生渗出性中耳炎时,大部分患者无明显症状,但患者的中耳积液可能会持续数周甚至数月,且出现耳朵不适、前庭问题等后遗症,对生活质量产生负面影响^[13]。

据报道,中耳渗出液的形成是由中耳腔局部免疫反应引起的^[8]。人类拥有 IgA、IgD、IgE、IgG、IgM 等五种类型的免疫球蛋白,具有中和毒素、固定细菌、沉淀可溶性抗原使其被巨噬细胞吞噬等作用,并可与细菌结合促进血清补体的细胞溶解^[15]。另外,鼓室的急性和慢性炎症均可导致 B 淋巴细胞产生抗体,这些细胞参与抗原识别、呈递、抗体形成及免疫调节^[16]。Igs 是抵御病原体入侵和由此产生的上呼吸道感染的最重要防御手段之一,其表达与疾病活动关系密切^[17]。有研究发现,渗出性中耳炎患者血清 IgA、IgG、IgM 水平均显著升高,局部免疫功能异常^[18]。但一般情况下, IgD、IgE 浓度极低。本研究中分析渗出性中耳炎患者血清及耳积液中免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM 水平,结果发现,渗出性中耳炎组渗出液 IgA、IgG、IgM 水平较血清 IgA、IgG、IgM 水平均显著升高,且均高于健康受检者。说明,渗出性中耳炎体内可能发生了感染反应,感染通过刺激机体免疫功能发生应激反应。

微生物学是研究微生物种类、结构、生理功能、生态分布及其与人类关系的一门学科。在渗出性中耳炎的发病过程中,微生物,尤其是细菌和病毒,起着至关重要的作用^[19]。感染性病原体侵入中耳腔后,引发黏膜炎症反应,导致中耳积液,进而诱发或加重渗出性中耳炎。因此,对渗出性中耳炎患者的微生物学检测及病原体清除治疗是疾病治疗的关键环节。渗出性中耳炎最初被认为是中耳内无菌液体积聚的结果,然而,随着研究的进展,多个研究小组通过聚合酶链式反应在中耳积液中检测出细菌 mRNA 与蛋白质,表明,中耳内不仅存在细菌,且其可能具有代谢活性^[20]。据报道,微生物群通常在预防或对抗感染方面发挥着重要作用,而以病原学证据为基础的抗感染治疗是临床治疗的金标准^[21]。有研究发现,90% 以上的渗出性中耳炎患者黏膜活检中含有肺炎链球菌、流感嗜血杆菌等或细菌,且这些代谢活跃的细菌可能存在于至少一半

细菌培养阴性的渗出性中耳炎病例中, 并被认为参与生物膜的形成^[22-23]。合理准确的检测质量, 有效诊断引起感染的病原菌类型, 对对症合理治疗具有重要作用。本研究检测渗出性中耳炎患者的检验样本, 发现, 其中以流感嗜血杆菌、金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌为主要病原菌^[24-25]。另外, 本研究通过分析发现, 血清中免疫球蛋白浓度存在显著差异, 而渗出液中免疫球蛋白浓度无明显差异。说明, 血清免疫球蛋白浓度与是否存在渗出液微生物有关, 而渗出液中免疫球蛋白浓度与是否存在渗出液微生物无关^[26-27]。

综上所述, 渗出性中耳炎患者血清免疫球蛋白浓度可能受渗出液中微生物存在的影响, 而渗出液中免疫球蛋白浓度可能不受渗出液中微生物存在的影响。但由于时间等多方面的限制, 尚不清楚儿童与成人间结论是否一致, 期望有更多的长期、大样本、多中心的实验, 以为临床渗出性中耳炎患者更有效的治疗提供一定参考。

【参考文献】

- [1] 孙影. 分泌性中耳炎的病因及临床研究进展[J]. 广州医药, 2023, 54(4): 110-114.
- [2] Barron CL, Kamel-Abusalha LB, Sethia R, et al. Identification of essential biofilm proteins in middle ear fluids of otitis media with effusion patients[J]. Laryngoscope, 2020, 130(3): 806-811.
- [3] Runge A, Straif S, Banki Z, et al. Viral infection in chronic otitis media with effusion in children [J]. Front Pediatr, 2023, 11: 1124567.
- [4] Connolly R, Paing A, Reeves T, et al. Otitis media with effusion in under 12s; summary of updated NICE guidance [J]. BMJ, 2023, 383: 2314.
- [5] Elzayat S, El-Deeb ME, El-Shirbeny HA, et al. The prevalence and association of biofilms with otitis media with effusion: A systematic review and meta-analysis [J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2024, 133(2): 229-238.
- [6] Elzayat S, Nosair N, Ghazy AA, et al. Otitis media with effusion is not a sterile inflammatory process; scanning electron microscope evidence [J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2021, 278(8): 2713-2721.
- [7] 倪菁, 雷飞, 白丹, 等. 儿童分泌性中耳炎耳积液中免疫相关指标表达分析[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2019, 33(4): 56-59
- [8] Jung SY, Kim D, Park DC, et al. Immunoglobulins and transcription factors in otitis media [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(6): 3201.
- [9] 孔德杰, 张智风, 闻克银, 等. 分泌性中耳炎衣原体感染血清学及 Toll 样受体相关 mRNA 表达 [J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(13): 2023-2007.
- [10] Rosenfeld RM, Shin JJ, Schwartz SR, et al. Clinical practice guideline: Otitis media with effusion (Update) [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2016, 154(1 Suppl): S1-S41.
- [11] Fan W, Li X, Xu H, et al. Relationship of T lymphocytes, cytokines, immunoglobulin E and nitric oxide with otitis media with effusion in children and their clinical significances [J]. Rev Assoc Med Bras, 2019, 65(7): 971-976.
- [12] 高湘杰, 朱佳丽, 刘中武, 等. 分泌性中耳炎的相关发病因素及其机制研究进展 [J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2023, 47(3): 143-147.
- [13] Bamaraki K, Namwagala J, Hidour R, et al. Otitis media with effusion in children aged 2-12 years attending the paediatric clinic at Mulago National Referral Hospital, a Ugandan tertiary hospital: a cross-sectional study [J]. BMC Pediatr, 2022, 22(1): 357.
- [14] 褚连军, 童明琼, 孙婉. 耳部感染患者病原菌分布及药敏分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(10): 1180-1183.
- [15] Arshi S, Dehghani FF, Ghalehbaghi B, et al. Otitis media with effusion in children and the impact of risk factors on serum cytokine levels [J]. Iran J Otorhinolaryngol, 2017, 29(91): 75-81.
- [16] 张丽芳, 秦君, 张学强, 等. 切除腺样体治疗儿童分泌性中耳炎前后免疫及听力改变 [J]. 宁夏医学杂志, 2020, 42(6): 539-542.
- [17] 王致娟, 刘俊伟, 邓波, 等. 分泌性中耳炎患儿外周血 miR-155 表达与免疫应答失衡的相关性分析 [J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(15): 1664-1667.
- [18] Tamir SO, Bialasiewicz S, Brennan-Jones CG, et al. ISOM 2023 research Panel 4- diagnostics and microbiology of otitis media [J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2023, 174: 111741.
- [19] Kolbe AR, Castro-Nallar E, Preciado D, et al. Altered middle ear microbiome in children with chronic otitis media with effusion and respiratory illnesses [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2019, 9(1): 339.
- [20] 赫赫, 宋英鸾, 耿江桥, 等. 儿童分泌性中耳炎中耳积液病毒和支原体及衣原体检测结果分析 [J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2020, 27(12): 683-686
- [21] Korona-Glowniak I, Wisniewska A, Juda M, et al. Bacterial aetiology of chronic otitis media with effusion in children - risk factors [J]. J Otolaryngol Head Neck Surg, 2020, 49(1): 24.
- [22] 李思佳, 赵守琴. 分泌性中耳炎免疫学发病机制研究进展 [J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2020, 44(4): 198-201
- [23] Almuhayawi MS, Gattan HS, Alruhaili MH, et al. Molecular profile and the effectiveness of antimicrobials drugs against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in the diagnostic approaches of otitis infection [J]. Infect Drug Resist, 2023, 16: 4397-4408.
- [24] 钟新程, 欧阳潇, 廖雨冰, 等. 慢性化脓性中耳炎生物膜微生物生态的相互作用及其研究进展 [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2023, 58(6): 621-625.
- [25] El Feghaly RE, Nedved A, Katz SE, Frost HM. New insights into the treatment of acute otitis media [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2023, 21(5): 523-534.
- [26] Kang DW, Lee HJ, Bang JH, et al. Bacteriology and trends of antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in otitis media: A retrospective data analysis [J]. Clin Otolaryngol, 2023, 48(6): 872-880.
- [27] Frosolini A, Lovato A. Future perspectives in the management of otitis media [J]. Medicina (Kaunas), 2023, 59(9): 1553.

【收稿日期】 2023-12-18 【修回日期】 2024-02-26