

• 临床检验研究论著 •

支气管镜肺泡灌洗液改良抗酸染色法诊断菌阴性肺结核的价值探讨*

张继萍¹, 柳晓金², 叶迎宾³, 黄秀香³, 郑立恒^{4△}

(1. 邯郸市传染病医院肺科, 河北邯郸 056002; 2. 石家庄市第五医院检验科, 河北石家庄 050000; 3. 邯郸市传染病医院检验科, 河北邯郸 056002; 4. 河北省胸科医院检验科, 河北石家庄 050000)

摘要:目的 建立改良抗酸染色法, 探讨纤维支气管镜肺泡灌洗液改良抗酸染色法对痰菌阴性肺结核患者的诊断价值。方法 对 50 例痰菌阴性肺结核患者进行纤维支气管镜肺泡灌洗, 应用传统、改良两种抗酸染色法对灌洗液进行检查, 了解两种方法对肺结核诊断的阳性率。结果 传统、改良两种抗酸染色法的阳性率分别为 38% 和 82% ($P < 0.05$)。结论 改良抗酸染色法大大提高痰菌阴性肺结核患者的阳性诊断率, 值得临床推广应用。

关键词:纤维支气管镜; 结核, 肺; 支气管肺泡灌洗液

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.13.015

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)13-1702-02

Value of modified Ziehl-Neelsen acid-fast staining of bronchoalveolar lavage fluid in diagnosis of pulmonary tuberculosis with negative sputum*

Zhang Jiping¹, Liu Xiaojin², Ye Yingbin¹, Huang Xiuxiang¹, Zheng Liheng^{3△}

(1. Department of Clinical Pulmonary Division, Handan Municipal Infectious Disease Hospital, Handan, Hebei 056002, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Shijiazhuang Municipal Fifth Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050000, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Handan Municipal Infectious Disease Hospital, Handan, Hebei 056002, China; 4. Hebei Provincial Chest Hospital, Shijiazhuang Hebei 050000, China)

Abstract: Objective To establish the modified Ziehl-Neelsen acid-fast staining method and to investigate the value of modified Ziehl-Neelsen acid-fast staining method of bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis of pulmonary tuberculosis (TB) with negative sputum specimen. **Methods** 50 cases of negative sputum pulmonary TB were performed the bronchoalveolar lavage by the fiberoptic bronchoscope before the treatment, at the same time, the bronchoalveolar lavage fluids were collected and detected by the two methods of the traditional and modified Ziehl-Neelsen staining. The diagnostic positive rates were compared between the two groups. **Results** The positive rates of the two kinds of acid-fast staining method were 38% and 82% respectively, the difference showing statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion** The modified Ziehl-Neelsen acid-fast staining of bronchoalveolar lavage fluid can highly improve the positive diagnostic rate of pulmonary TB patients with negative sputum and deserves to be clinically promoted.

Key words: fiberoptic bronchoscope; tuberculosis, pulmonary; bronchoalveolar lavage fluid

痰菌阴性肺结核是指 3 次痰涂片、一次痰培养都为阴性, 胸片提示有活动性肺结核特征。痰菌阴性肺结核病例占总肺结核病例比例大, 我国痰菌阴性肺结核占肺结核总数的 70% 左右^[1], 随着近年来人口流动增加, HIV、糖尿病、自身免疫病、先天免疫缺陷患者的增多, 及结核防治工作困难加大, 菌阴性肺结核发病率明显上升。痰菌阴性肺结核病的临床诊断大多依靠影像、PPD、血沉等检查, 近年发展的 γ 干扰素结果受诸多因素的影响也存在缺陷, 以上检查均缺乏病原学“金标准”, 易造成误诊和漏诊。在 2012 年 8 月至 2013 年 8 月期间, 本院共对 50 例痰菌阴性肺结核患者进行了治疗前支气管镜检查, 同时进行肺泡灌洗, 并对灌洗液分别用传统、改良两种抗酸染色法进行检测, 以了解不同方法对痰菌阴性肺结核诊断的阳性率, 探讨改良抗酸染色法对痰菌阴性肺结核患者的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病例来源于本院 2012 年 8 月至 2013 年 8 月共 50 例痰菌阴性肺结核患者, 纤维支气管镜检查前反复痰涂片找抗酸杆菌(3 次以上)均阴性, X 线提示有活动性肺结核特征, 其中, 男 29 例, 女 21 例, 年龄 17~71 岁, 病程 15 d 至 10 年

以上。

1.2 临床症状和体征 咳嗽 47 例, 5 例为刺激性干咳; 咳痰 39 例, 20 例伴有咯血, 多为痰中带血; 发热 15 例, 13 例有明显午后潮热、盗汗及消瘦; 3 例胸闷; 有阳性体征 35 例, 其中局部呼吸音降低 22 例, 湿性啰音 14 例, 局限性干性啰音 10 例, 哮鸣音 6 例, 胸痛 11 例, 乏力 8 例。

1.3 影像及实验室检查 X 线平片表现为密度不均的斑片状低密度影、钙化及空洞的 33 例, 表现为阻塞性肺炎 7 例, 肺不张 9 例, 结节、软组织肿块影 2 例, 局限性肺气肿 1 例(可见局部支气管变形狭窄), 两肺弥漫性粟粒影 1 例, 无明显异常 2 例。胸部 CT 表现斑片状浸润影 10 例, 合并支气管扩张 11 例。结核菌素试验阳性 12 例, 其中强阳性 1 例。血沉明显增快 31 例。

1.4 检查仪器 采用 Olympus P20 型纤维支气管镜, 按常规方法局部麻醉和镜检, 仔细观察各肺段支气管黏膜病变情况, 将纤维支气管镜嵌入病变肺段, 并用一长塑料导管顺纤维支气管镜活检孔插入支气管远端, 经导管注入生理盐水 20~30 mL, 迅速拔出导管, 用纤维支气管镜吸引, 收集灌洗液, 每位患

* 基金项目: 河北省卫生厅重大课题项目(20120025)。 作者简介: 张继萍, 女, 主治医师, 主要从事耐药结核的诊治研究。 △ 通讯作者, E-mail: zhengliheng2006@163.com。

者可以收集 6~15 mL。收集的灌洗液中等量加入消化液,充分混匀后平均分成两份进行检测。

1.5 检测方法

1.5.1 传统抗酸染色法 取 3~10 mL 消化好的灌洗液离心(3 500 r/min, 15 min), 弃上清液, 取沉淀物涂片染色镜检。

1.5.2 改良抗酸染色法 取 0.5 mL 消化好的灌洗液加入 Cytospin-4 型玻片离心沉淀仪(450 r/min, 5 min, 玻片用多聚赖氨酸处理), 取出玻片染色镜检。

1.6 统计学处理 分别计算两种方法的阳性率, 采用 SPSS 15.0 统计软件进行分析, 阳性率比较采用方差分析检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 镜下所见 支气管黏膜不同程度的水肿、充血 25 例, 黏膜粗糙、增厚 8 例, 肺段出血 9 例, 黏膜壁有淡黄色颗粒状结节 4 例, 肉芽肿改变 2 例, 纤支镜检查未发现异常 2 例。

2.2 抗酸杆菌检出情况 传统、改良抗酸染色法分别检出抗酸杆菌 19 例(38%)、41 例(82%)两种方法检出例数比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

由于免疫功能低下, 结核杆菌特性发生变异, 痰菌含量少、肺部病灶局限未与引流支气管相通等因素, 常规涂片检查结核杆菌检出率低。这种缺乏肺结核诊断“金指标”的状况成为目前肺结核诊断中的难题, 极易发生漏诊、误诊。有报道称临床痰菌阴性肺结核误诊率可达 51.16%, 常被误诊为肺癌、肺炎、咳嗽变异型哮喘, 只有在痰中找到结核分枝杆菌才能对病变性质提供准确的病原学证据, 纤维支气管镜检查已成为痰菌阴性肺结核确诊的主要手段^[2], 早期诊断意义重大^[3], 许多学者已做了大量的研究^[4]。此技术不但能直接发现支气管黏膜的各种病变, 而且通过活检、刷检及灌洗等检查手段, 可获得病理学和细菌学诊断依据^[5-6]。

纤维支气管镜的支气管肺泡灌洗液利用传统抗酸染色法获得了比直接痰涂片更高的结核分枝杆菌检出率, 但是阳性率仍不理想。西京医院赵刚教授的《改良抗酸染色法检测脑脊液细胞内外结核杆菌的临床应用》^[7]在脑脊液检测结核菌方面获得了重大成果, 灌洗液的改良抗酸染色法是在以上方法的基础上进一步改良获得, 此方法先对灌洗液进行消化, 把被蛋白包裹的结核分枝杆菌暴露出来, 在收集结核分枝杆菌的环节上, 采用玻片离心法, 玻片提前用多聚赖氨酸处理, 在处理染色过程中结核分枝杆菌被紧紧地黏附在载玻片上, 不易被洗掉。离心过程中液体成分直接被滤纸吸收, 使灌洗液中结核杆菌得到浓集, 避免了结核杆菌由于密度小于水的密度而难于离心沉淀等问题, 抗酸杆菌收集完全, 损失极少, 阳性率较传统抗酸染

色法大大提高^[8-11]。

本组纤维支气管镜检查病例中, 15 例术中、术后出现咳嗽, 术后缓解并逐渐消失; 10 例术后出现痰中带血, 治疗后消失。无喉头水肿、气胸、窒息等严重并发症。说明纤维支气管镜在菌阴肺结核的诊断中具有重要价值, 其费用少、创伤小、不良反应少、可重复性好等特点, 是一种有效、安全的技术, 可以早期确诊肺结核, 减少误诊的发生, 对不明原因的长期咳嗽、咯痰、痰中带血、胸痛、胸部 CT、X 线提示有活动性结核征象, 高度怀疑菌阴性肺结核的患者, 纤维支气管镜检查是确诊的必要手段, 是诊断痰菌阴性肺结核敏感而特异的方法^[12]。而支气管肺泡灌洗液检查采用改良抗酸染色法可极大提高结核菌的检出率, 值得临床推广应用。

参考文献

- [1] 中华医学会结核病学会. 肺结核诊断和治疗指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(1): 70-74.
- [2] 李一耕. 纤维支气管镜在肺科疾病中的应用[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(2): 389-391.
- [3] 周锐, 陈平, 郑东元, 等. 经纤维支气管镜介入技术在结核性支气管狭窄治疗中的作用[J]. 中国内镜杂志, 2004, 10(1): 56-57.
- [4] 李挺. 纤维支气管镜对老年肺结核的诊断价值[J]. 宁夏医学杂志, 2007, 28(3): 371-373.
- [5] 俞洁. 支气管镜肺泡灌洗液检查抗酸杆菌诊断肺结核[J]. 浙江中西医结合杂志, 2005, 15(9): 565-567.
- [6] 林晓, 陈公平, 林其昌, 等. 支气管肺泡灌洗液细胞染色体检查在肺癌诊断中的应用价值[J]. 实用医学杂志, 2006, 22(21): 2485-2487.
- [7] Chen P, Zhao G. A Highly Efficient Ziehl-Neelsen Stain: Identifying De Novo Intracellular Mycobacterium tuberculosis and Improving Detection of Extracellular M. tuberculosis in Cerebrospinal Fluid[J]. J Clin Microbiol, 2012, 4(10): 1166-1170.
- [8] 刘庆勇, 胥加耕, 袁中行. 抗酸染色法中石炭酸复红染液的配置方法改良[J]. 中国实用医药, 2007, 2(1): 102-104.
- [9] 沈武成, 蔡晓雯. 改良抗酸染色法的体会[J]. 医药论坛杂志, 2008, 29(1): 97-98.
- [10] 雷光瑜, 许建琼, 刘静. 改良抗酸染色法与解读法在病理诊断中的应用[J]. 四川医学, 2010, 31(10): 1490-1491.
- [11] 张娴. 萋-尼氏抗酸染色法的操作改良及效果[J]. 浙江预防医学, 2010, 22(1): 95-96.
- [12] 王青萍. 纤支镜检查支气管内膜结核 41 例分析[J]. 临床肺科杂志, 2006, 11(3): 345-347.

(收稿日期: 2014-02-01)

(上接第 1701 页)

(13): 1424-1426.

- [8] 魏谨, 耿建祥, 朴正爱, 等. 已婚女性宫颈细胞中人乳头瘤病毒感染的基因分型研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(23): 5202-5205.
- [9] 林仲秋, 卢淮武. 子宫恶性肿瘤诊治研究——子宫颈癌[J]. 国际妇产科学杂志, 2012, 39(4): 322-326.
- [10] Etienney I, Vuong S, Mohamed A, et al. Value of cytologic papanicolaou smears and polymerase chain reaction screening for human papillomavirus DNA in detecting anal intraepithelial neoplasia[J]. Cancer, 2012, 15(12): 6031-6038.

- [11] Castle PE, Schiffman M, Wheeler CM, et al. Human papillomavirus genotypes in cervical intraepithelial neoplasia grade 3[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010, 19(15): 1675-1681.
- [12] 王宏景, 刘忠伦, 耿建祥, 等. 苏州两医院女性宫颈 HPV 感染基因型别的对比研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(4): 404-406.
- [13] McLaughlin-Drubin ME, Munger K. Oncogenic activities of human papillomaviruses[J]. Virus Res, 2009, 143(2): 195-208.
- [14] 李海, 耿建祥, 张劲松, 等. 宫颈 HPV 感染基因型分布的比较研究[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(19): 2319-2320.

(收稿日期: 2013-12-16)