

• 临床检验研究 •

胸腹水细胞学前检查各环节因素分析

郭建华¹, 张吉才¹, 李晓强^{1△}, 伍亚云², 吴玉竹¹, 颜宏华³

(1. 湖北医药学院附属太和医院检验部, 湖北十堰 442000; 2. 湖北十堰市红十字医院检验科 442000;
3. 湖北竹溪县人民医院检验科, 湖北十堰 442300)

摘要:目的 提高胸腹水肿瘤细胞阳性检出率,保证其诊断准确性。方法 收集我院 2010 年 3~7 月住院患者的胸腹水 94 例(血性 30、淡黄色 64),在细胞学检查前,对每份标本制片前(放置时间、放置温度、离心速度与时间,不同样本涂片时的吸取方式等)的各个环节进行分析。结果 1. 血性及淡黄色胸腹水在不同放置温度(4 °C、20 °C)、放置时间(30 min、60 min、离心速度 3 000 r/min 10 min)时,其细胞变异率无显著差异, $P > 0.05$ 。在放置 120 min、20 °C 时,其细胞变异率有显著差异, $P < 0.05$ 。2. 血性及淡黄色胸腹水在 2 000 r/min 10 min、2 000 r/min 20 min,3 000 r/min 10 min,3 000 r/min 20 min,4 000 r/min 10 min 时,其细胞变异率无显著差异, $P > 0.05$; 在 4 000 r/min 20 min 时,其细胞变异率与 4 000 r/min 10 min 时有显著差异, $P < 0.05$ 。血性及淡黄色胸腹水之间无差异, $P > 0.05$ 。3. 血性胸腹水红细胞底层与上层的有核细胞数,有非常显著性差异, $P < 0.01$; 细胞变异率无显著性差异, $P > 0.05$; 肿瘤细胞检出率有非常显著性差异, $P < 0.01$ 。4. 在相同放置时间时,血性与淡黄色胸腹水的肿瘤细胞检出率无显著性差异, $P > 0.05$; 血性胸腹水放置 30 min 与 120 min 比较,其肿瘤细胞检出率有非常显著性差异, $P < 0.01$; 淡黄色胸腹水放置 30 min 与 120 min 比较,其肿瘤细胞检出率有非常显著性差异, $P < 0.01$ 。结论 为提高胸腹水细胞学阳性检出率及诊断准确性,降低漏诊、误诊率,细胞学检查前各环节的质量控制是非常重要的。

关键词:胸腹水; 细胞学检查前; 诊断; 因素分析; 统计学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.03.027

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)03-0315-03

Analysis of pre-examination factors affecting the detection of hydrothorax and ascites effusion

Guo Jianhua¹, Zhang Jicai¹, Li Xiaoqiang^{1△}, Wu Yuzhu¹, Yan Honghua³

(1. Department of Clinical Laboratory, Taihe Hospital, Hubei Medical University, Shiyan Hubei 442000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Red Cross Hospital of Shiyan, Shiyan Hubei 442000, China;
3. Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Zhuxi, Shiyan Hubei 442000, China)

Abstract: Objective To improve the positive rate and accuracy for the detection of tumor cells in hydrothorax and ascites effusion. **Methods** 94 cases of hydrothorax or ascites effusion were collected from hospitalized patients between March and September 2010, among which 30 cases were bloody samples and 64 cases were yellow samples. Before cytology analysis, each specimen was grouped according to different storage time and temperature, different centrifugation speed and time, and different stain method. **Results** 1. There was no statistical difference of the detected results of bloody or yellow samples between groups with different storage temperature(4 or 20 °C),different storage time(30 or 60 min), when the samples were centrifuged at 3 000 r/min for 10 min ($P > 0.05$). There was significant difference of cell variation rates, when samples were stored at 20°C for 120 min ($P < 0.05$). 2. There was no statistical difference of cell variation rates of between bloody and yellow samples, when being centrifuged at 2 000 r/min for 10 min, 2 000 r/min for 20 min,3 000 r/min for 10 min, 3 000 r/min for 20 min or 4 000 r/min for 10 min ($P > 0.05$), but there was significant difference, when the samples were centrifuged at 4 000 r/min for 20 min. 3. The difference of nucleated cell numbers and the positive rate of tumor cells in red cell bottom and upper layer of bloody samples were significant($P < 0.01$), but that of cell variation rates was not significant($P > 0.05$). 4. There was no statistical difference of the detection rates of tumor cells between bloody and yellow samples, when being stored for the same time($P > 0.05$). There was significant difference of the detection rates of tumor cells in bloody or yellow samples, when being stored for 30 or 120 min ($P < 0.01$). **Conclusion** Quality control of every pre-examination factors, affecting the cytology analysis of hydrothorax and ascites effusion, might be important for improving the positive detection rate and accuracy of diagnosis and decreasing the rate of missed diagnosis and misdiagnosis.

Key words: hydrothorax; ascites; pre-analysis cytology; diagnostic; factor analysis, statistical

胸腹水细胞学检查可为临床恶性肿瘤的诊断提供十分重要的参考依据,因其适用范围广、安全简便、准确可靠,深受临床欢迎。但检出阳性率偏低,是临床细胞学检查的一大难题。如何提高肿瘤细胞的阳性检出率,除提高病理细胞学医师的阅片水平外,其细胞学检查前的质量控制,是提高其阳性率的关键环节。本文对本院住院患者的胸腹水标本 94 例(血性胸腹水 30 例,淡黄色胸腹水 64 例)进行细胞学检查前的各个环节(包括胸腹水采集后至离心涂片的放置时间、放置温度、离心速

度与时间、不同样本涂片时的吸取方式等)进行分析,找出影响细胞学检查阳性率、漏诊率及误诊率的因素,以提高胸腹水细胞学诊断的准确性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2010 年 3~7 月胸外、肿瘤、呼吸、消化等住院患者的胸腹水 90 例,其中,血性胸腹水 30 例,淡黄色胸腹水 64 例;患者年龄 24~75 岁,平均(41±6)岁,胸腹水由临床医师抽取,抗凝或不抗凝多量及时送检。标本收取时准

△ 通讯作者, E-mail: bluewhal27@hotmail.com

确询问采取时间并作好记录,在细胞学检查前对胸腹水采集后至离心涂片的放置时间、放置温度、离心速度与时间,不同样本涂片时的吸取方式等几个环节进行质量控制。

1.2 方法 血性胸腹水、淡黄色胸腹水标本均按8~10 mL分装3支试管,分别于不同放置时间(30、60、120 min)、不同放置温度(4 °C、20 °C)、不同离心速度与时间(2 000 r/min 10 min、2 000 r/min 20 min; 3 000 r/min 10 min、3 000 r/min 20 min; 4 000 r/min 10 min、4 000 r/min 20 min);离心后采取不同的取样方式(血性胸腹水取红细胞上层白色部分及管底层分别取样制片,淡黄色胸腹水取管底沉淀物)制片,经固定、瑞-姬染色后,进行细胞学检查。其观察指标为:(1)血性胸腹水:有核细胞数量、细胞变异率、肿瘤细胞检出阳性率。细胞数量(有核细胞数个/HP):10个视野细胞数÷10,取均值和标准差;细胞变异率(%):10个视野出现自溶、肿胀、变性的细胞数÷10×100。(2)淡黄色胸腹水观察细胞变异率及肿瘤细胞检出阳性率。恶性肿瘤细胞及变异间皮细胞的形态学诊断标准参考见教科书《临床检验基础》^[1]。

1.3 统计学处理 采用SPSS17.0软件对数据进行统计学分析,率的比较采用 χ^2 检验及多因素逻辑回归分析,计量资料采用方差分析。

2 结 果

2.1 放置温度及放置时间对胸腹水细胞变异率的影响 30例血性胸腹水(红细胞上层白色部分取样制片)、60例淡黄色胸腹水在不同放置温度(4、20 °C)不同放置时间(30、60、120 min),3 000 r/min 离心 10 min 时的细胞变异率结果见表1。血性及淡黄色胸腹水在不同放置温度(4、20 °C)、放置时间(30、60 min)(3 000 r/min 离心 10 min)时,其细胞变异率差异无统计学意义($P>0.05$),放置时间 120 min,放置温度 20 °C 时,其细胞变异率差异有统计学意义($P<0.05$)(χ^2 检验)。

表1 两种胸腹水(4 °C、20 °C)细胞变异率(%、均值)

温度	30 min		60 min		120 min	
	血性	淡黄	血性	淡黄	血性	淡黄
4 °C	2.7	2.1	4.1	4.3	15.4	15.3
20 °C	2.9	2.5	4.7	4.4	17.6	16.9

2.2 不同离心速度与时间对胸腹水细胞变异率的影响 30例血性胸腹水(红细胞上层白色部分取样制片)、60例淡黄色胸腹水在不同离心速度与时间(2 000 r/min 10 min、2 000 r/min 20 min; 3 000 r/min 10 min、3 000 r/min 20 min; 4 000 r/min 10 min、4 000 r/min 20 min)时的细胞变异率结果见表2。血性及淡黄色胸腹水在 2 000 r/min 10 min、2 000 r/min 20 min; 3 000 r/min 10 min、3 000 r/min 20 min; 4 000 r/min 10 min 时,其细胞变异率差异无统计学意义($P>0.05$),在 4 000 r/min 20 min 时,其细胞变异率与 4 000 r/min 10 min 时差异有统计学意义($P<0.05$)。血性及淡黄色胸腹水之间差异无统计学意义($P>0.05$)(χ^2 检验)。

2.3 血性胸腹水不同取样部位对细胞数量及肿瘤细胞检出率的影响 30例血性胸腹水离心(20 °C 放置 60 min、离心速度 3 000 r/min 10 min)后分别于红细胞上层白色部分及红细胞底层取样制片,观察其有核细胞数、细胞变异率及肿瘤细胞检出率,结果见表3。血性胸腹水红细胞底层与上层的有核细胞数比较,差异有统计学意义($P<0.01$);细胞变异率差异无统计学意义($P>0.05$);肿瘤细胞检出率比较差异有统计学意义($P<0.01$)(方差检验)。

表2 两种胸腹水不同离心速度与时间的细胞变异率(%、均值)

时间 (min)	2 000 r/min		3 000 r/min		4 000 r/min	
	血性	淡黄	血性	淡黄	血性	淡黄
10	2.2	2.4	3.1	3.4	11.4	11.3
20	2.7	2.6	5.0	5.6	16.6	17.0

表3 30例血性胸腹水不同取样部位有核细胞数/细胞变异率及肿瘤细胞检出率(60 min)

项目	有核细胞数 (个/HP)	细胞变异率 (%)	肿瘤细胞检出率 (%)
红细胞上层	14±5	4.9	3.1
红细胞底层	57±6	5.4	8.1

2.4 两种胸腹水不同放置时间的肿瘤细胞检出率 30例血性胸腹水(红细胞上层白色部分取样制片)、60例淡黄色胸腹水在不同放置时间(30 min、60 min、120 min),3 000 r/min 离心 10 min 条件下肿瘤细胞检出率结果见表4。在放置相同时间时,血性与淡黄色胸腹水的肿瘤细胞检出率比较,差异无统计学意义($P>0.05$);血性胸腹水放置 30 min 与 120 min 比较,其肿瘤细胞检出率差异有统计学意义($P<0.01$);淡黄色胸腹水放置 30 min 与 120 min 比较,其肿瘤细胞检出率比较差异有统计学意义($P<0.01$)(χ^2 检验)。

表4 两种胸腹水不同放置时间的肿瘤细胞检出率(%、均值)

项目	30 min	60 min	120 min
血性	12.7	14.6	19.4
淡黄	11.2	14.3	18.8

3 讨 论

胸腹水细胞学诊断具有快速、准确、简便及患者痛苦少等优点,在临幊上得以广泛应用,并逐渐成为诊断疾病的重要手段之一^[2]。因此,如何减少胸腹水细胞学诊断的漏诊、误诊,提高其诊断阳性率具有重要的实际意义。虽然掌握胸腹水细胞学形态特征是准确诊断的关键,但细胞学分析前的技术因素是否恰当,对胸腹水细胞学诊断阳性率同样具有重要影响。因此,笔者从胸腹水细胞学分析前其放置时间、放置温度、离心速度及不同胸腹水的制片方法等方面进行探讨,以期达到降低漏诊、误诊率,提高肿瘤细胞阳性检出率之目的。

临床抽取的胸腹水标本应尽快送检,胸腹水无论是血性或淡黄色,其脱落细胞离体后,随离体时间的增加而逐渐出现自溶或胞体肿胀、变性现象,离体的脱落细胞,随时间的延长而逐渐增大^[3]。如果胸腹水标本放置时间过长,或长时间高温放置,其细胞形态均有不同程度的改变,影响其细胞学诊断的准确性。结果2.1显示:血性及淡黄色胸腹水在不同放置温度(4 °C、20 °C)、放置时间 30、60 min(离心速度 3 000 r/min/10 min)时,其细胞变异率差异无统计学意义($P>0.05$);放置时间 120 min 时,其细胞变异率差异有统计学意义($P<0.05$)(χ^2 检验)。说明胸腹水在离体 60 min 内,无论放置温度 4 °C 或 20 °C,在离心速度 3 000 r/min/10 min 时,其细胞形态均无显著性的改变。但放置时间大于或等于 120 min 时,因脱落细胞

离体后随离体时间的增加出现明显的形态变异,特别是间皮细胞形态出现肿胀、变性现象。血性胸腹水多为恶性,其细胞本身会出现各种异常改变,如核增大、畸形或肿胀,如在离体 120 min 后作细胞学检查,细胞因肿胀而体积增大明显,胞质内出现空泡,细胞结构模糊不清,部分细胞出现破碎,易出现错认或误认现象;淡黄色胸腹水为良性、恶性共有,其细胞变异与血性胸腹水差异无统计学意义($P>0.05$),故也会出现同样的错认或误认现象。所以,放置时间 $\geqslant 120$ min 时,因细胞形态的改变而影响细胞的识别及诊断,其细胞变异率与放置时间 30 或 60 min 时差异有统计学意义($P<0.05$),应引起临床医生及细胞病理实验室的高度重视。临床医生抽出胸腹水后要及时送检,实验室收到标本后更应马上离心制片,以防止细胞因离体时间延长而发生变异。

胸腹水细胞学检查时,其离心制片是一个比较重要环节,不同的离心速度与离心时间,对细胞形态有不同程度的影响。本组资料 2.2 显示:血性及淡黄色胸腹水在 2 000 r/min 离心 10 min、2 000 r/min 离心 20 min、3 000 r/min 离心 10 min、3 000 r/min 离心 20 min、4 000 r/min 离心 10 min 时,其细胞变异率差异无统计学意义($P>0.05$),在 4 000 r/min 离心 20 min 时,其细胞变异率与 4 000 r/min 离心 10 min 时差异有统计学意义($P<0.05$)。血性及淡黄色胸腹水之间无差异, $P>0.05$ (χ^2 检验)。说明胸腹水标本的离心时间与速度对细胞学结果有一定影响^[4-5]。如果速度低、时间短(2 000 r/min 离心 10 min),其细胞变异不明显,但有核细胞及肿瘤细胞的数量会相对减少,肿瘤细胞检出阳性率减低。出现假阴性结果。当速度增高、时间延长时(4 000 r/min 离心 20 min),其细胞形态出现不同程度的变异,细胞变异率增高(16.6% / 17.0%),影响细胞学形态的观察而易出现假阳性结果^[6]。因此,建议胸腹水细胞学检查时采用 3 000 r/min 离心 10 min 比较理想。

对于血性胸腹水,不同取样部位对细胞数量及肿瘤细胞检出率有较大影响,本组资料 2.3 显示:30 例血性胸腹水离心(20 ℃ 放置 60 min、3 000 r/min 离心 10 min)后分别于红细胞上层白色部分及红细胞底层取样制片,观察其有核细胞数、细胞变异率及肿瘤细胞检出率。血性胸腹水红细胞底层与上层的有核细胞数差异有统计学意义($P<0.01$);细胞变异率差异无统计学意义($P>0.05$);肿瘤细胞检出率差异有统计学意义($P<0.01$)。胸腹水的涂片制作过程直接影响阳性诊断率,其中取样最为重要^[2]。血性胸腹水,多为恶性,离心后应选择吸取其中间部分即红细胞上层灰白色部分制片,这是因为纯血性液中大量红细胞沉于底部,粒细胞及肿瘤细胞一般浮于红细胞上层^[7],故出现红细胞上层有核细胞或肿瘤细胞数明显多于红细胞底层现象。结果(表 3)表明:红细胞上层的有核细胞数明显多于底层,差异有统计学意义($P<0.01$)。若以红细胞底层制片,因有核细胞数量的减少,细胞学检查时因观察面小而易出现漏诊现象;若以红细胞上层制片,因有核细胞数量多,其观察面大,肿瘤细胞的阳性检出率会明显增高($P<0.01$)。淡黄色胸腹水因红细胞非常少,对有核细胞的影响亦较小,有形细胞受重力影响多沉于管底部^[8],离心后可直接制片,但收取标本时除需仔细询问标本抽出时间外,应及时离心、制片,否则因脱落细胞随离体时间的增加而逐渐自溶或胞体肿胀、变性,细胞形态发生变异,特别是间皮细胞,因其细胞形态的可塑性大,易与腺癌细胞相混淆^[9]。

资料表 4 显示:血性与淡黄色胸腹水的肿瘤细胞阳性检出

率差异无统计学意义($P>0.05$),但二者肿瘤细胞阳性检出率随着放置时间的延长(30 min 与 120 min 比较)而升高($P<0.01$)。其原因为随着放置时间的延长,细胞出现各种异常改变,特别是间皮细胞出现肿胀、变性,如核增大、畸形或肿胀,甚至于细胞结构模糊不清,部分细胞出现破碎,易出现错认或误认现象。临床细胞学检查结果出现假阳性是一大禁忌,特别是需要手术的患者,必须结合病理切片报告,才能作出准确、可靠的诊断。所以胸腹水细胞学检查只能作为一种重要的辅助诊断方法^[10-11]。但对良、恶性胸腹水的鉴别诊断有较高的特异性和较好的灵敏度^[12]。

综上所述,胸腹水细胞学诊断虽具有快速、准确、简便及患者痛苦少等优点,并在临床广泛应用,但如何减少其诊断中的漏诊、误诊现象,是一个非常重要的课题。既要提高肿瘤细胞阳性检出率,又要保证其诊断的准确性,胸腹水细胞学分析前的各环节质量控制显得非常重要。基于以上原因,本研究作了胸腹水细胞学分析前的各环节分析,结论是:为提高胸腹水肿瘤细胞阳性检出率,保证其诊断的准确性,临床医生抽出胸腹水后应及时送检;细胞病理学实验室在接收标本时应主动询问、记录标本采集时间;胸腹水标本离心速度、时间为 3 000 r/min 离心 10 min;不能及时处理的标本应 4℃ 保存;血性胸腹水标本离心后应选择红细胞上层取样制片,淡黄色胸腹水离心后管底沉淀物直接制片。如此,既可提高胸腹水细胞学阳性检出率及诊断准确性,又可降低漏诊、误诊现象。所以,为提高胸腹水细胞学阳性检出率及诊断准确性,降低漏诊、误诊率,细胞学检查前各环节的质量控制是非常重要的。

参考文献

- [1] 罗春丽.《临床检验基础》[M].2 版.北京:人民卫生出版社,2009:279-280.
- [2] 肖楚梅.影响胸腹水细胞学阳性率的技术因素分析[J].临床与实验病理学杂志,2002,18(4):438.
- [3] 高自芳,曹晓哲,董亮,等.送检时间对脱落细胞形态影响的定量研究[J].临床与实验病理学杂志,2000,16(4):345.
- [4] 马吉勇,庞玉瑛,王明丽,等.恶性胸腹水细胞的分离、纯化及临床意义[J].安徽医科大学学报,2002,37(2):132-134.
- [5] 郭梅,王瑾,郝俊杰,等.恶性胸腹水细胞学检查方法的对比分析[J].中国肿瘤临床与康复,2001,8(4):48-49.
- [6] 朱任之,郭胤仕.密度梯度离心法检测脱落肿瘤细胞对恶性胸腔积液的诊断价值[J].兰州大学学报:自然科学版,1996,32(4):137-141.
- [7] 吴霞,杨德忠,邓永江,等.提高细胞学阳性率及诊断准确性的方法[J].临床与实验病理学杂志,1997,13(4):379.
- [8] 叶安霞,向旭东,谭国姣,等.密度梯度离心法在癌性胸腔积液细胞病理学检测中的应用[J].中华结核和呼吸杂志,2001,24(7):420.
- [9] 周道银 凌励.提高胸腹水心包腔积液一般性检查质量的探讨[J].临床检验杂志,2002,20(2):107.
- [10] 张蕾蕾,张国民.胸腹水细胞学检查 538 例临床病理分析[J].中国误诊学杂志,2007,7(1):5-6.
- [11] 许成英.提高胸腹水细胞学检查阳性率方法探讨[J].浙江肿瘤,2000,6(1):61-62.
- [12] 王莹莹.细胞形态学检查对鉴别良恶性胸腹水细胞的探讨[J].国际检验医学杂志,2011,32(7):784-785.