临床论著

细胞块技术应用质量控制方法对恶性浆膜腔积液诊断效能探讨

李　印，　高　丽，　何海生

作者单位：473000　河南，南阳市中心医院病理科（李　印，高　丽），肿瘤外科（何海生）

作者简介：李　印（1972－），男，大学本科，学士学位，副主任医师，研究方向：肿瘤病理诊断。E-mail：liyin176882@126.com

［**摘要**］　**目的**　探讨细胞块病理技术在恶性浆膜腔积液细胞学诊断应用中的价值、存在的问题及质控方法，以进一步提高细胞块病理诊断的准确性。**方法**　选择2016-02～2018-02该院276例恶性浆膜腔积液，均进行传统细胞学涂片（conventional smear，CS）和质控前常规细胞块技术（routine cell block，RCB）操作流程，对RCB切片诊断中可疑或阴性病例按预设5项主要质量控制指标再行质控后细胞块制备技术（quality control in cell block technology，QCCB）切片检查，将三者诊断结果进行对比分析，比较三者结果的准确性，分析各自存在的问题。**结果**　276例恶性浆膜腔积液中用CS确诊恶性肿瘤218例（78.99%），其中确诊恶性且肿瘤分类明确199例（72.10%）。RCB确诊恶性肿瘤233例（84.42%），其中确诊恶性且肿瘤分类明确225例（81.52%）。QCCB确诊恶性肿瘤272例（98.55%），其中确诊恶性且肿瘤分类明确270例（97.83%），无误诊或漏诊病例。RCB相对于CS能提高恶性肿瘤诊断率5.43%，提高分型诊断准确率9.42%，但两者差异无统计学意义（$P>0.05$）。QCCB相对于CS和RCB，在提高确诊恶性肿瘤和分型诊断准确率方面差异均有统计学意义（$P<0.05$）。**结论**　细胞块技术在恶性浆膜腔积液细胞学病理诊断中显著优于传统细胞学，加强细胞块病理技术各环节质量控制有利于减少不确定诊断，并有助于避免误诊和漏诊。

［**关键词**］　浆膜腔积液；　细胞学涂片；　细胞块；　质量控制

［**中图分类号**］　R 362　［**文献标识码**］　A　［**文章编号**］　1674－3806（2020）10－1044－04

doi：10.3969/j.issn.1674－3806.2020.10.21

A study on the efficiency of cell block technology in diagnosis of malignant serous cavity effusions by using quality control methods

LI Yin, GAO Li, HE Hai-sheng. Department of Pathology, Nanyang Central Hospital, Henan 473000, *China*

［**Abstract**］　**Objective**　To explore the application value, existing problems and quality control methods of cell block pathologic technique in cytological diagnosis of malignant serous cavity effusions（SCE）to further improve the accuracy of cell block pathologic diagnosis. **Methods**　Two hundred and seventy-six cases of malignant SCE were selected in our hospital during February 2016 and February 2018 for the operation process of conventional smear（CS）and routine cell block（RCB）technology before quality control. For the suspicious or negative cases by the diagnosis of RCB slice, quality control in cell block technology（QCCB）was performed again for pathology slice examination according to the preset 5 main quality control indexes. The results of the three diagnosis methods were compared and analyzed, and the accuracy of the three methods was compared, and their existing problems were analyzed. **Results**　Among the 276 cases of malignant SCE, 218 cases（78.99%）were diagnosed with malignant tumors by using CS method, in which 199 cases（72.10%）were diagnosed with definite tumors（clear classification）, while 233 cases（84.42%）were diagnosed with malignant tumors by using RCB method, in which 225 cases（81.52%）were diagnosed with definite tumors（clear classification）. By using QCCB method, 272 cases（98.55%）were diagnosed with malignant tumors, in which 270 cases（97.83%）were diagnosed with definite tumors（clear classification）, and no misdiagnosis or missed diagnosis occurred. Compared with CS, RCB can improve the diagnosis rate of malignant tumors by 5.43% and the accuracy rate of classification diagnosis by 9.42%, but there were no significant differences between the two methods（$P>0.05$）. Compared with CS and RCB, QCCB had significant differences in improving the accuracy

of diagnosing and classifying the malignant tumors($P<0.05$). **Conclusion** Cell block technology is significantly superior to conventional smear in cytological and pathological diagnosis of malignant SCE. Strengthening the quality control of cell block technology in all linkages is helpful to reduce uncertain diagnosis and avoid misdiagnosis and missed diagnosis.

[**Key words**] Serous cavity effusions(SCE); Cytological smear; Cell blocks; Quality control

浆膜腔积液细胞学检查,以前多采用传统涂片技术,但其为临床提供的信息有限,不能满足当前肿瘤精准诊断的需要[1~3]。近年来细胞块技术广泛用于浆膜腔积液细胞学诊断,也使细胞学诊断变得极为准确,然该技术各环节如缺乏质量控制,误诊、漏诊情况仍存在,该技术操作过程仍存在诸多问题需要加强质控和改进。本文对我院经传统细胞学涂片(conventional smear,CS)和质控前常规细胞块技术(routine cell block,RCB)病理诊断,后又经质量控制后细胞块制备技术(quality control in cell block technology,QCCB)病理诊断的 276 例恶性浆膜腔积液进行分析,比较传统 CS、RCB 及 QCCB 病理诊断结果的准确性及细胞块病理技术中存在的问题,旨在尽可能减少细胞块病理诊断中的不确定诊断和避免误漏诊发生。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集南阳市中心医院肿瘤医院 2016-02~2018-02 门诊和住院恶性浆膜腔积液 276 例,其中男 122 例,女 154 例,年龄 39~90 岁,平均 60.5 岁。胸水 167 例,腹水 91 例,心包积液 14 例,胸水并心包积液 4 例。所送检积液量 50~100 ml 29 例,100~500 ml 247 例。血性积液 89 例,淡黄至浑浊积液 181 例,其他性状积液 6 例。42 例(15.22%)经 2~3 次标本送检。本文所指细胞块病理诊断包括借助免疫细胞化学染色等辅助诊断。

1.2 方法

1.2.1 送检标本基本质控要求 新鲜积液要求立即送达病理科,不能立即送检,需加固定液或 4 ℃冷藏等预处理后 24 h 内送检。标本放置 30 min 后可轻轻倒去上 1/2 左右,取下部沉淀物离心。

1.2.2 RCB 和 CS 制备 用 20 ml 或 50 ml 锥形离心管取 1 试管或 2 试管积液放入低速离心机内离心处理(转速 2 500 r/min,离心 5 min),血性积液常规消化红细胞。先用吸管吸取部分沉淀物(量过少标本取多次送检的首次标本),做传统涂片 2 张并常规 HE(hematoxylin-eosin)染色,其余标本再加入 10%中性福尔马林固定液离心后沉淀并固定一段时间,后用不锈钢药勺挖出细胞沉淀并用擦镜纸包裹入脱水机,常规制作细胞块蜡块、石蜡切片和 HE 染色。

1.2.3 细胞块质控方法 采用 RCB 确立诊断后按 5 项主要质控指标进行 QCCB 再诊断。主要质控方法见表 1。

表 1 浆膜腔积液细胞块病理技术中的 5 项质控指标介绍

序 号	质控项目	质控细胞块操作方法	质控前细胞块操作方法
1	积液取检量要求	100 ml 及以下全部离心制作细胞块;100 ml 以上应至少取 100~200 ml 离心。必要时反复甚至积液全部离心。以上均采用 50 ml 锥形离心管。	不论积液多少,均取 1 试管或 2 试管离心。
2	不同性状积液的处理措施	对淡黄、浑浊、血性、乳糜状等不同性状积液采取针对性处理。	不同性状积液未采取针对性处理或处理措施不够即制备细胞块
3	细胞块大小与厚度,固定时限	细胞块大小直径一般不超过 1.5 cm,尽量扁平,厚度一般不超过 0.35 cm,离心管内固定一般 2~3 h 左右,较大细胞块可试管外重塑后再固定 2 h 后脱水处理。	细胞块有时太大,厚薄不均,固定时间不定。
4	细胞蜡块切片数量	每个蜡块首次切片不少于 2 张且每张切片内标本片不少于 6 片。首次阴性或不确定诊断病例应再次切片不少于 2 张,每张标本片不少于 6 片,并根据需要酌情增加切片次数。	仅常规制作石蜡切片 1~2 张,并据此作出细胞学诊断。
5	积液送检次数	首次送检诊断阳性病例,可根据是否满足基因等检测需要选择是否再次送检;首次诊断阴性或不确定病例,如有可能应至少 1 个月内送检 3 次。	存在未对临床要求送检次数即确立细胞学最终诊断情形。

1.2.4 细胞块免疫细胞化学染色 细胞块常规 HE 切片诊断后,对形态学诊断恶性或不确定诊断病例再行免疫细胞化学染色精准诊断,采用 MaxVisionTM 法,试剂购自福州迈新公司。鉴别腺癌和间皮细胞常规选用一组抗体 CK7、CK20、Villin、CDX2、CEA、CA19-9、CA125、CR、D2-40、WT-1、TTF-1、Napsin A 等,并根据需要酌情增加 ER、PR 等其他项目。鉴别鳞癌需加用抗体 CK5/6、P63、P40。鉴别癌和肉瘤常规使用 AE1/AE3、Vimentin 等。鉴别神经内分泌癌常规使用 CD56、Syn、CgA、TTF-1、LCA;鉴别淋巴瘤常规使用 LCA、CD20、CD79a、CD3、CD45RO 等。所有免疫细胞化学染色诊断均加用 P53、Ki-67。

1.2.5　确诊依据　浆膜腔积液恶性细胞诊断满足以下1条即可确诊:(1)细胞或微组织形态学典型,细胞异型明显,有原发灶组织学对照,且两者形态完全一致。(2)形态学典型,无原发灶组织学对照,但有影像学和肿瘤标志物支持,并有免疫细胞化学染色证实。(3)形态学典型,影像学和(或)肿瘤标记物支持度不强,但有免疫细胞化学染色和(或)基因检测证实。(4)细胞少和(或)形态学不典型,影像学不典型,但免疫细胞化学染色支持,经随访后有新的浆膜腔外原发灶或转移灶的活检组织学证据,且该活检标本内的细胞形态和免疫细胞化学染色特点和浆膜腔积液内的待确诊细胞完全一致。(5)细胞少和(或)形态学不典型,经上级权威专家会诊确诊。

1.3　统计学方法　应用SPSS17.0统计软件进行数据分析,计数资料以率(%)表示,组间比较采用χ^2检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

276例恶性浆膜腔积液三种检查结果表明,CS确诊恶性肿瘤218例,其中确诊恶性且肿瘤分类明确199例,未确诊恶性肿瘤58例。RCB确诊恶性肿瘤233例,其中确诊恶性且肿瘤分类明确225例,未能确诊43例。QCCB确诊恶性肿瘤272例,其中确诊恶性且肿瘤分类明确270例(包括腺癌233例,鳞癌14例,神经内分泌肿瘤6例,恶性淋巴瘤4例,腹腔黏液性肿瘤5例,恶性间皮瘤4例,腺癌伴鳞状分化2例,滑膜肉瘤1例,恶性黑色素瘤1例),未确诊4例(为可疑诊断,包括含肿瘤细胞量很少的1例早期恶性间皮瘤,1例高分化间皮瘤,1例淋巴管平滑肌瘤病胸腔内播散,1例上皮样细胞肉瘤)。RCB在恶性肿瘤诊断率方面与CS比较差异虽无统计学意义($P>0.05$),但能提高5.43%诊断率和9.42%肿瘤分型诊断准确率。QCCB与CS、RCB在恶性肿瘤诊断率及分型诊断准确率方面比较差异均有统计学意义($P<0.05$),且无误诊和漏诊病例。见表2。

表2　276例恶性浆膜腔积液CS、RCB及QCCB结果比较[n(%)]

诊断结果	CS	RCB	QCCB
确诊恶性肿瘤	218(78.99)	233(84.42)	272(98.55)*
a 恶性,分类明确	199(72.10)	225(81.52)	270(97.83)*
b 恶性,分类存疑	19(6.88)	8(2.90)	2(0.72)
未确诊恶性肿瘤	58(21.01)	43(15.58)	4(1.45)*
a 可疑恶性	46(16.67)	32(11.59)	4(1.45)
b 误诊为良性或漏诊	12(4.35)	11(3.99)	0(0.00)
合计	276	276	276

注:与CS、RCB比较,*$P<0.05$

3　讨论

3.1　浆膜腔积液细胞病理学检查采用CS技术因不能观察组织学结构,肿瘤确诊和分类常困难,易误诊和漏诊[1~4]。本文采用细胞块诊断借助免疫细胞化学染色等手段肿瘤分类显著优于CS,使CS中大部分疑难病例得以确诊。对于肿瘤细胞丰富形态典型的积液标本,无论CS或RCB制作均能获阳性结果;部分含肿瘤细胞很少的积液标本或少见肿瘤及不典型病例采用CS检查则可能误诊为非典型增生的间皮细胞或漏诊,本研究中该类病例均经QCCB制备切片确诊。

3.2　浆膜腔积液细胞块技术长期缺乏质量控制,其操作流程中的每个环节如处理不当均可导致恶性积液不能确诊[5~9]。在标本送检合格的前提下我科采用5项主要技术质控指标进行重点质控,基本包含了细胞块制备及切片技术易致失误的各个重要环节,保证了各种送检积液标本细胞诊断的准确性。积液送检量愈多愈好,一般要求100~500 ml为宜[1],但临床并非每位患者都能抽取该体积量的积液,50 ml以下甚至不足10 ml的积液送检并不少见。本研究要求送检量最少不低于50 ml是因实践中考虑到特殊情况下临床确实不能抽取更多积液且该积液量离心总能收集到一定量细胞沉淀物。事实上细胞块能否制作成功与积液内细胞丰富程度有关,本文有3例接收的积液单次送检50 ml左右,首次送检仅制作涂片均诊断为阴性,后再次送检仍为前积液量而制作细胞块得以确诊。故不论送检积液量的多少,只要离心后有充足的沉淀物,在完成CS或液基制片后均应尽力制作细胞块,必要时加用蛋清等细胞包裹剂。积液取检量100 ml以下全部离心沉淀可保证细胞收集完全。有研究发现增加离心次数可保证收取足量细胞,取100~200 ml积液全部沉淀是提高肿瘤细胞检出率的关键[10,11]。本研究有8例首次离心细胞少,经细胞块免疫细胞化学染色仍诊断不确定,质控后经多次离心沉淀后获取足量细胞确诊且分子检测成功。我科经验是量多积液首次可取100~200 ml盛入2个50 ml锥形离心管离心,并根据细胞沉淀量决定是否再增加积液离心次数,待细胞块切片出来后先评估是否满足诊断需要再决定是否把存放的残液再离心。该法有利于首轮筛选出含肿瘤细胞多的积液,节省时间且实用。不同性状积液预处理也很重要,如血性积液含血量多时应重复多次融红细胞[12],红细胞过于浓稠的积液还需取离心沉淀物的"白细胞层"制作细胞块[7,11],否则见不到有

形细胞成分。本研究有 4 例首次细胞块因红细胞消化不彻底或未对含血过多的离心沉淀分层处理造成诊断假阴性。2 例淡黄偏清亮积液单次试管取液离心细胞沉淀太少,经多次离心后获足量细胞沉淀。乳糜状积液处理更复杂。本研究 1 例乳糜状积液经送检多家医院均用 CS 诊断阴性,我科采用离心后倾去乳糜状物,反复多次离心获取直径约 2 mm 含血黏稠沉淀物制作 QCCB 终查见腺癌细胞。

3.3　细胞块病理诊断不同于传统细胞学和组织活检蜡块切片,在肿瘤细胞较少的积液标本可能肿瘤细胞分布于不确定的细胞块切面,故细胞块不能太厚,否则不容易捕捉到肿瘤细胞且容易蜡块做生;同时细胞块诊断肿瘤细胞时常需做免疫细胞化学染色[13,14],故细胞块也不能太大,否则浪费免疫组化试剂。本研究 RCB 有 4 例因太大太厚致切片质量差未能确诊,RCB 切片 10 例诊断阴性或不确定病例按质控要求连续多次切片后查见典型癌细胞得以确诊。我科质控经验是离心后细胞沉淀可先在试管内固定 2 ~3 h 取出,这时细胞块软硬适度,试管外具有可塑性,大而厚的细胞块可以修整或分割。制作大小和厚度适中的细胞块,利于对初诊不确定诊断或阴性病例再行多次连续切片,以免遗漏微小癌细胞团。

3.4　有研究发现增加送检积液次数可提高阳性率[10],本研究支持此观点。首次细胞块病理诊断中阴性或不确定病例第二次甚至第三次送检中发现明确肿瘤细胞的情况并不少见。统计我科确诊恶性肿瘤性积液 276 例中的 42 例(15.22%)因第一次送检标本内肿瘤细胞少或不典型、甚至诊断阴性而经过多次标本送检后确诊。故对于不典型病例或阴性病例,如有可能,临床应送 2 ~3 次,尤其对于血和(或)积液内肿瘤标志物明显升高病例更应如此。对于多次送检标本,应对几次细胞块内细胞成分进行对比分析,选取最有诊断价值的细胞块确立诊断或进行免疫组化染色等手段再鉴定。

综上所述,浆膜腔积液细胞块病理学诊断要想达到精准,必须对积液送检、细胞块制备和细胞块切片各个环节从严把关。因细胞块内肿瘤细胞常缺乏活检组织具有的原发正常器官组织学对照及肿瘤间质背景,浆膜腔积液仍不同于组织学诊断,虽经严格质控,仍有极少病例存在诊断疑难,如上皮样肉瘤、淋巴瘤等少见肿瘤可能会误漏诊。个别疑难病例,如苗勒氏腺肉瘤也可腹腔转移[15],离开临床病史等资料仅凭少数几个细胞也是几乎不能诊断的。本研究中 1 例经一年后颈部淋巴结转移灶证实的胸腔内早期间皮瘤胸水内查见少量高度异型间皮细胞,曾经多家大医院会诊而不敢确诊。

参考文献

1　马博文. 浆膜腔积液细胞病理学诊断[M]. 第 2 版. 北京: 人民军医出版社,2014:插页 1 - 插页 10,14 - 50.

2　Matreja SS, Malukani K, Nandedkar SS, et al. Comparison of efficacy of cell block versus conventional smear study in exudative fluids [J]. Niger Postgrad Med J, 2017,24(4):245 - 249.

3　陈　杰,步　宏. 临床病理学[M]. 北京:人民卫生出版社,2015:42 - 46.

4　来茂德. 病理学高级教程[M]. 北京: 人民军医出版社,2013:960 - 963.

5　梁英杰,凌启波,张　威. 临床病理学技术[M]. 北京: 人民卫生出版社,2011:315 - 316.

6　中华医学会. 临床技术操作规范 · 病理学分册[M]. 第 2 版. 北京: 人民军医出版社,2012:42 - 43.

7　毛瑛玉,杨　敏,刘冬戈,等. 细胞块切片免疫细胞化学染色在浆膜腔积液细胞学诊断中的应用[J]. 中华病理学杂志,2009,38(8):547 - 550.

8　禹　乐,郭以河,朱启淦,等. 血性胸腔积液细胞块制作方法研究及其应用[J]. 现代肿瘤医学,2017,25(16):2537 - 2540.

9　王全志,丁　伟,田少华. 浆膜腔积液脱落细胞学制片方法质量控制的对比研究[J]. 诊断病理学杂志,2015,22(1):60 - 62.

10　张树平,李立宏. 浆膜腔积液细胞学检查质量控制[J]. 河北北方医学院学报(医学版),2010, 27(1):72 - 75.

11　林　静,李美琼,陆竞艳,等. 四种浆膜腔积液细胞块制作方法对比及其应用[J]. 诊断病理学杂志,2015,22(10):606 - 609.

12　陈广峰,钟纬经,梁浩和. 血性胸腹水红细胞简易去除方法[J]. 诊断病理学杂志,2014,15(3):21.

13　陈机琼,黄嘉琴,蔡淑英,等. 细胞块免疫组化染色技术在浆膜腔积液细胞诊断中的应用[J]. 中国临床新医学,2018,11(7):692 - 695.

14　刘　芳,何　欣,李晓琴. 免疫组化标志物在鉴别浆膜腔积液恶性肿瘤细胞中的应用价值[J]. 临床与实验病理学杂志,2018,34(2):201 - 204.

15　陈慧玲,莫祥兰. 女性生殖道苗勒腺肉瘤 9 例临床病理学分析[J]. 中国临床新医学,2019,12(8):852 - 855.

[收稿日期　2020 - 02 - 21][本文编辑　韦所苏　刘京虹]

本文引用格式

李　印,高　丽,何海生. 细胞块技术应用质量控制方法对恶性浆膜腔积液诊断效能探讨[J]. 中国临床新医学,2020,13(10):1044 - 1047.