Archive of SID

بررسی سیتولوژیک مایعات حفرات سروزی بدن: ارزش تشخیصی دو روش اسمیر مستقیم و سل‌بلاک (به روش لخته پلاسما- ترومبین)

دکتر پروین محزونی[1]، دکتر میترا شریفانی

چکیده مقاله

مقدمه. یکی از روشهای رایج و ارزشمند در تشخیص و مرحله بندی بیماریها، مطالعه سیتولوژیک مایعات به دست آمده از حفرات سروزی بدن (پلور، پریکارد و پریتوان) می‌باشد. در آزمایشگاههای معتبر دنیا، برای افزایش حساسیت تست‌های سیتولوژی و کاهش موارد مشکوک حداقل از دو روش برای تهیه لامهای سیتولوژی برای هر نمونه ارسالی، استفاده می‌کنند اما در کشور ما تنها روش رایج، تهیه لام به روش اسمیر مستقیم است.

روشها. در یک مطالعه تشخیصی (Diagnostic study) ۶۲ نمونه مایع پلور، پریتوان و پریکارد ارسال شده به بخش آسیب‌شناسی بیمارستان الزهرا دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تهیه گردید. هر نمونه به دو بخش تقسیم شد. از یک قسمت، به طریقه اسمیر مستقیم، لام تهیه گردید و از قسمت دوم، به طریقه «لخته پلاسما - ترومبین» سل‌بلاک تهیه شد. سپس هر کدام از لامها، به صورت جداگانه (بدون اطلاع از تشخیص لام دیگر) و توسط یک پاتولوژیست بررسی گردید و در یکی از چهار گروه: مثبت، منفی، ناکافی (Unsatisfactory) یا مشکوک قرار گرفت، همچنین مدت زمان لازم برای مطالعه هر لام ثبت گردید و در دو گروه مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج. تعداد موارد مثبت، منفی و ناکافی و همچنین زمان مورد نیاز برای بررسی نمونه‌ها در دو روش، اختلاف معنی‌داری نداشت ولی فراوانی موارد مشکوک در روش سل بلاک کمتر از روش اسمیر مستقیم بود ($P<0/05$).

بحث. در مواردی که تشخیص سیتولوژی مایعات حفرات سروزی با حدس و گمان همراه است و به خوبی نمی‌توان در مورد مورفولوژی سلولهای موجود در اسمیر مستقیم قضاوت کرد، استفاده از سل بلاک بسیار کمک کننده خواهد بود چرا که در مدت زمان کوتاه می‌توان به اطلاعات بیشتر دست یافته و با اطمینان کافی تشخیص را مطرح نمود.

● *واژه‌های کلیدی: ارزش تشخیصی، اسمیر مستقیم، سل بلاک، مایعات حفرات سروزی بدن، سیتولوژی.*

مقدمه

روش مطالعه سیتولوژیک مایعات حفرات بدن، از دیرباز در تشخیص و برآورد پیش آگهی بیماریها به خصوص ضایعات بدخیم مورد استفاده بوده است. چندین روش در تهیه لامهای سیتولوژی وجود دارد که مهمترین آنها شامل اسمیر مستقیم، سل بلاک، آماده‌سازی توسط سیتوسانتریفوژ (سیتوسپین) و تدارک نمونه توسط فیلتر غشایی می‌باشد.

در مراکز پزشکی جهان، برای کاهش موارد مثبت یا منفی کاذب، حداقل از ۲ یا چند روش برای تهیه لامهای سیتولوژی مربوط به هر نمونه، استفاده می‌شود. اما تنها روش رایج در آزمایشگاههای ما، روش اسمیر مستقیم است. لذا در شرایطی که فراوانی نسبی موارد مشکوک (Suspicious) در کتب مرجع تنها ۵ درصد کل گزارشها را تشکیل می‌دهد، این موارد در گزارشهای ما به حدود ۱۰ درصد می‌رسد. بدین ترتیب ضرورت وجود روشی اضافه بر روش رایج برای کاهش موارد مشکوک و افزایش اطمینان در طرح هر نوع تشخیص، محسوس است. روش سل‌بلاک از قدیمی‌ترین روشها در تهیه لام سیتولوژی بوده و پرسنل آزمایشگاه آسیب‌شناسی بدون نیاز به دستگاهها و وسایل خاص، به خوبی قادر به انجام آن می‌باشند. این روش نیز به انواع مختلف مانند روش «سدیمان فیکس شده» روش «آگارباکتریال» و روش «لخته پلاسما- ترومبین» تقسیم می‌گردد. در روش سل‌بلاک از روشهای هیستولوژیک برای تهیه لام استفاده می‌شود، لذا مزایای بسیاری دارد که از آن جمله می‌توان به این موارد اشاره کرد.

۱) با این روش می‌توان برشهای متعدد از نمونه مورد نظر تهیه نمود و برای رنگ آمیزیهای ویژه و به خصوص مطالعات ایمنی بافتی شیمیایی (Immunohistochemistry) استفاده کرد. ۲) برشهای حاصل از سل‌بلاک، قرابت و هماهنگی بسیار نزدیکی با برشهای حاصل از بیوپسی دارد، لذا بهترین مقایسه مورفولوژیک را با لامهای بیوپسی فراهم می‌آورد (۱، ۲، ۴، ۶). ۳) سلولهای به دست آمده به روش سل‌بلاک، مانند نمونه‌های بافتی، در قسمتی از لام تجمع یافته‌اند، لذا مانند اسمیر مستقیم نیازی به جستجوی تمامی سطح لام (که موجب صرف وقت و نیروی فراوان می‌گردد) نیست.

روشها

در یک مطالعه تشخیصی (diagnostic study) به روش نمونه گیری آسان از ۶۲ نمونه حاصل از افیوژن حفرات سروزی که در طی یکسال (آبان ۱۳۷۷

۱ - گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، اصفهان

www.SID.ir

Archive of SID

لغایت آبان ۱۳۷۸) به آزمایشگاه پاتولوژی بیمارستان الزهرا (س) ارسال شده بود، استفاده گردید.

از بین نمونه‌ها، مواردی که مقدار نمونه برای تهیه لام به هر دو روش (اسمیر مستقیم و سل‌بلاک) کافی نبود، از مطالعه حذف می‌گردید. در مورد نمونه‌های قابل قبول برای مطالعه، هر نمونه به دو قسمت تقسیم می‌شد. قسمت اول برای تهیه اسمیر به کار می‌رفت، بدین صورت که آنرا در لوله آزمایش مناسب (متناسب با سانتریفوژ مورد استفاده) ریخته و با گراویتی ۶۰۰ (که در سانتریفوژ مورد استفاده ما، با توجه به شعاع ۱۰cm، دور ۱۵۰۰ مناسب بود) به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ می‌گردید. سپس مایع رویی دور ریخته و قطراتی از ته‌نشین بر روی لام ریخته می‌شد و به کمک لامی دیگر از آن اسمیر تهیه می‌گردید و پس از فیکس‌شدن، به روش پاپانیکلائو رنگ‌آمیزی شده و برای مطالعه آماده می‌شد. قسمت دوم نمونه نیز، به همان صورت فوق سانتریفوژ گردیده و مایع رویی دور ریخته می‌شد. سپس به ته نشین موجود، یکی دو قطره پلاسما (حدود ۵۰) اضافه می‌گردید و پس از آن، به همان مقدار، یعنی یکی دو قطره محلول ترومبین اضافه می‌شد. با کمی تکان دادن لوله آزمایش و پس از یک تا دو دقیقه مخلوط حاصل به صورت لخته در می‌آمد. لازم به توضیح است که برای تهیه پلاسما، از نمونه‌های خون ارسالی به آزمایشگاه برای انجام تستهای انعقادی استفاده می‌شد. ترومبین نیز برای انجام تست PT به کار می‌رود (ترومبین، ۵۰۰ واحدی، Topical، ویال) و لذا در آزمایشگاه موجود بود، اما قبل از استفاده، باید ۱۰ cc آب مقطر به ویال اضافه کرده و به خوبی آنرا مخلوط نماییم تا به صورت محلول در آید. در استفاده از ترومبین، باید اولاً به تاریخ اعتبار آن توجه داشت و ثانیاً قبل از استفاده، دمای آنرا به دمای آزمایشگاه رساند.

لخته ایجاد شده از روش فوق، بسیار نرم است، لذا برای انتقال آن در کاست صافی، باید به جای فورسپس از اسپاچولا استفاده کرد. بدین صورت لخته حاصل را در کاغذ صافی قرار داده و در کاست می‌گذاریم. بقیه مراحل مانند مراحل تهیه بلوک از نمونه‌های بافتی است. پس از تهیه بلوک‌پارافینی، به وسیله دستگاه میکروتوم لایتز برشهای بافتی به ضخامت ۳ میکرون تهیه نموده و مانند نمونه‌های پاتولوژی، رنگ‌آمیزی کرده و بر روی آن لامل قرار می‌دهیم، بدین صورت لام سل‌بلاک آماده برای بررسی خواهد بود.

در نهایت، برای هر نمونه حداقل یک اسمیر مستقیم و یک لام سل‌بلاک موجود بود. تمامی اسمیرها و سل‌بلاکها توسط یک پاتولوژیست و آنهم به طور جداگانه بررسی می‌گردید، در صورتی که اسمیر نمونه‌ای در حال مطالعه بود، سیتوپاتولوژیست اطلاعی از جواب سل‌بلاک آن نداشت، در مورد نمونه‌های سل بلاک نیز وضع به همین صورت بود. نتایج هر لام در ۴ گروه شامل مثبت برای بدخیمی، منفی، ناکافی (unsatisfactory) و مشکوک طبقه بندی می‌شد. یک نتیجه مثبت، به معنی وجود تعداد کافی سلول بدخیم در لام مورد نظر بود. یک نتیجه منفی، زمانی گزارش می‌شد که نمونه تنها حاوی سلولهای کاملاً خوش‌خیم بود. زمانی نتیجه مطالعه لام ناکافی (Unsatisfactory) گزارش می‌شد که تمامی لام منحصراً از خون تازه پوشیده شده بود، نمونه بدون سلول بود یا تعداد سلولها به قدری کم بود که به هیچ وجه نشان‌دهنده محل نمونه گیری نبود (۵). جواب مشکوک به مواردی اطلاق می‌شد که لام حاوی تعداد اندکی سلول اتیپیکال (atypical) بود، به طوریکه تنها بر اساس این تعداد کم، تشخیص قاطع بدخیمی ممکن نبود. با مطالعه و تشخیص هر لام، زمان لازم برای بررسی یادداشت می‌شد.

برای مقایسهٔ نسبتها از آزمون Z و برای مقایسهٔ میانگینها از آزمون t-student استفاده شد.

نتایج

تعداد موارد مشکوک در روش اسمیر ۸ مورد (۱۲/۹ درصد) و در روش سل‌بلاک ۲ عدد (۳/۲ درصد) بود ($P<0/05$). تعداد موارد مثبت در اسمیر مستقیم ۱۰ مورد (۱۶/۳ درصد) و در روش سل‌بلاک ۹ مورد (۱۴/۵ درصد) بود و اختلاف معنی‌داری در بین این دو روش وجود نداشت. همین طور تعداد موارد منفی در اسمیر مستقیم ۳۹ (۶۲/۹ درصد) و در سل‌بلاک ۴۳ مورد (۶۹/۳ درصد) و تعداد موارد ناکافی در اسمیر مستقیم ۵ مورد (۸ درصد) و در سل‌بلاک ۸ مورد (۱۲/۹ درصد) بود، که نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در این موارد می‌باشد ($P<0/05$). مقایسه نتایج تشخیصی هر دو روش نشان داد که هیچ موردی وجود ندارد که نتیجه یک نمونه در هر دو روش به عنوان «مشکوک» مشخص شده باشد.

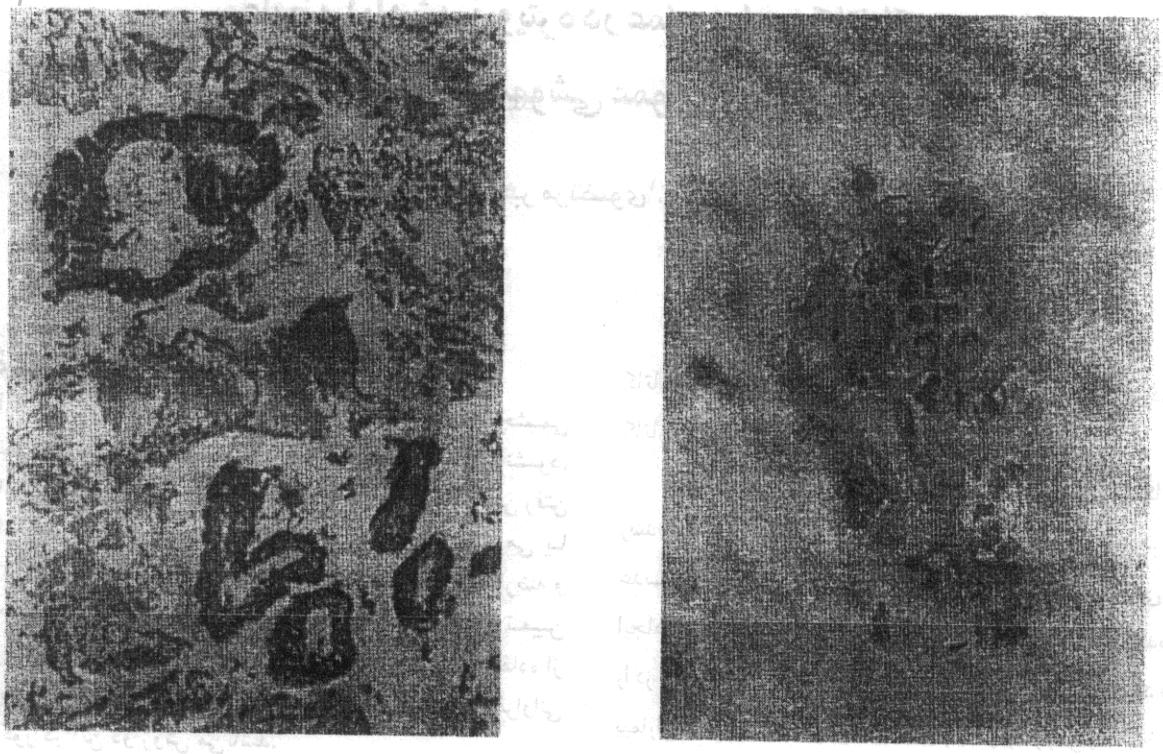
از سوی دیگر متوسط زمان صرف شده برای بررسی هر لام سیتولوژی ۹/۱۱ دقیقه بود. در حالیکه این زمان برای هر لام سل‌بلاک، به طور متوسط ۲/۶ دقیقه ثبت گردید ($P<0/05$).

بحث

وجود اختلاف بین موارد تشخیصی مشکوک در روش سل‌بلاک با روش اسمیر مستقیم نشان می‌دهد که همراهی روش سل‌بلاک با روش اسمیر می‌تواند به مقدار زیادی از وجود حدس و گمان در تشخیص کاسته و به تشخیص مطمئن کمک نماید (۷،۸). با استفاده از این دو روش در کنار هم، می‌توان فراوانی نسبی موارد مشکوک را به استانداردهای جهانی نزدیک نمود. همچنین مقایسه مدت زمان لازم برای بررسی لامهای تهیه شده، نشان داد که به کمک روش سل‌بلاک می‌توان در مدت زمان بسیار کوتاهتر، به تشخیص رسید و لذا سل‌بلاک می‌تواند با صرف وقت و خستگی چشمی کمتر (عامل مهم در خطا) ما را در رسیدن به تشخیص نهایی یاری نماید.

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر ۱. مقایسه لام اسمیر مستقیم (سمت راست) **و سل‌بلاک** (سمت چپ) **تهیه شده از یک نمونه مایع آسیت.** *اکثر سلولهای موجود در اسمیر مستقیم دژنره بوده و قضاوت در مورد مورفولوژی و ماهیت آنها با مشکل روبرو بود. اما در سل‌بلاک تهیه شده، ماهیت بدخیم و طرح غددی آنها (آدنوکارسینوم) به وضوح دیده می‌شود.*

از طرفی می‌توان با بهبود روش تهیه سل‌بلاک مانند استفاده از حمام بافت مجزا از حمام بافت نمونه‌های بافتی و اضافه کردن مواد رنگی به لخته حاصل، قبل از گذاشتن آن در کاغذ صافی (چون ممکن است نمونه آنقدر کوچک باشد که بعداً یافتن آن در کاغذ صافی بامشکل روبرو گردد) از تعداد موارد ناکافی (Unsatisfactory) در نمونه‌های سل‌بلاک، کاست. در نهایت، از آنجا که در تشخیص موارد مثبت، منفی و ناکافی (Unsatisfactory) اختلاف فاحشی بین روش سل‌بلاک و اسمیر وجود نداشته و از طرفی انجام روش سل‌بلاک برای هر نمونه نیاز به اختصاص هزینه بیشتر دارد، لذا توصیه می‌شود که باقیمانده هر نمونه ارسالی (پس از تهیه اسمیر مستقیم)، در یخچال نگهداری شود تا چنانچه نتیجه به دست آمده از لامهای اسمیر مستقیم شک برانگیز بوده و فاقد تشخیص قطعی بود، از مابقی نمونه سل‌بلاک تهیه گردد تا برای کاهش موارد مشکوک به یاری اسمیر مستقیم آمده و بدون ایجاد تغییری فاحش در زمان جواب دهی (که بسیاری از اوقات مشکل آفرین است) ما را در رسیدن به تشخیص نهایی یاری نماید.

مراجع

1- Atkinson BF. Atlas of diagnostic cytopathology. 2nd Ed. Philadelphia: Mosby Co. 1992.

2- Cibas EA, Ducatman BS. Cytology, diagnostic principles and clinical correlates. USA 1996.

3- Gkoss L. Diagnostic cytology and it´s histopathologic bases. Philadelphia 1992.

4- Bibbo M. Comparehensive cytophatology. USA, 1997.

5- Wojcik M, Selvaggi SM. Comparison of recurrent gynecologic malignancies. Acta cytol 1991; 35: 773-776.

6- Kung ITM, Chan SK. Application of the immunoproxidase technique to cell block preparation from fine needle asperates. Acta cytol 1990; 34: 297-303.

7- Jonosson JG, Ducatman BS, Wang HH. The cell block for body cavity fluids. do the results justify the cost? Mod Pathol 1996; 3(6): 667-670.

8- Dhundee J, Cotter M, Gibbs AR. Examination of cytological smear and clot section prepared from pleural fluids: a comparative study. Cytopthology 1996; 7(6): 406-413.

www.SID.ir