

论著·临床研究

不同品牌胶水在快速冷冻切片制片中的效果对比研究*

袁燕平¹, 肖汉伟², 汪亮亮^{1△}

(1. 九江学院附属医院病理科, 江西 九江 332000; 2. 九江市濂溪区人民医院病理科, 江西 九江 332000)

[摘要] 目的 研究不同品牌的国产普通胶水在快速冷冻切片中的制片效果, 找出其中最接近进口最佳切削温度(OCT)包埋胶性能的替代品。**方法** 选取九江学院附属医院外科手术标本 30 例, 包括胃黏膜、甲状腺、子宫肌瘤、皮肤、卵巢等 5 种标本, 各 6 例。实验中使用 5 种胶水对组织进行包埋后再切片, 经快速苏木精-伊红染色后观察比较各组切片质量并且评分, 最后对各组数据进行统计学分析。**结果** 该实验中 5 种不同胶水制作的冷冻切片质量评分比较, 差异有统计学意义($F=8.141, P<0.001$); 其中 OCT 包埋胶和雪奥胶水质量评分基本相同, 差异无统计学意义($P=0.452$); 而 OCT 包埋胶和雪奥胶水制作的切片均相对质量较好, 评分较高, 与其他 3 个品牌胶水之间比较, 差异均有统计学意义($P<0.05$), 得力、飞腾、博宝胶水质量评分相同, 差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 国产普通雪奥胶水性能接近进口 OCT 包埋胶, 实际工作中将其作为 OCT 包埋胶的替代品, 将能极大地降低成本, 创造更多的经济效益。

[关键词] 冷冻切片; 胶水; 包埋剂; 替代品; 对比; 效益

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2023.03.016

中图法分类号: R446.8; R361+.2

文章编号: 1009-5519(2023)03-0439-04

文献标识码: A

Comparative study on the effects of different brands of glue in rapid frozen section*

YUAN Yanping¹, XIAO Hanwei², WANG Liangliang^{1△}

(1. Department of Pathology, Jiujiang University Affiliated Hospital, Jiujiang, Jiangxi 332000, China;

2. Department of Pathology, the People's Hospital of Lianxi District, Jiujiang City, Jiujiang, Jiangxi 332000, China)

[Abstract] **Objective** To study the effects of different brands of glue in rapid frozen section, and find out the substitutes whose are closest to the performance of imported optimal cutting temperature (OCT) embedding glue. **Methods** A total of 30 surgical specimens were selected from Department of Surgery of Jiu Jiang University Affiliated Hospital, including gastric mucosa, thyroid, hysteromyoma, skin, and ovary, six cases of each. In the experiment, five kinds of glue were used to embed the tissue and then slice it. After rapid hematoxylin-eosin staining, the quality of sections in each group was observed and compared and scored. Finally, statistical analysis was conducted on the data of each group. **Results** In the experiment, the quality score frozen slices made by five different glue were compared, and the difference was statistically significant ($F=8.141, P<0.001$). Among them, the quality score of OCT embedding glue was basically similar to that of Xueao glue, and the difference was not significant ($P=0.452$). While the slices made by OCT embedding glue and Xueao glue were of good relative quality, score was higher, and compared with the other three brands of glue, and the differences were statistically significant ($P<0.05$), while the quality score of Deli, Feiten, and Bobo glue was similar, with no statistical difference ($P>0.05$). **Conclusion** The performance of domestic common Xueao glue is close to that of imported OCT embedding glue. In actual work, it can be used as a substitute for OCT embedding glue, which will greatly reduce the cost and create more economic benefits.

[Key words] Frozen section; Glue; Embedding glue; Substitute; Compare; Benefit

在日常病理工作中, 快速冷冻切片技术是众多病理学方法中极其重要而又特殊的一种方法, 其是辅助临床外科医生进行手术操作的重要手段。在实际工作中, 对于快速冷冻切片的质量要求是非常严格的,

既要求短时间完成病理制片和诊断, 又要求确保最终诊断结论的准确性^[1-2]。在整个快速病理诊断工作过程中, 影响最后诊断结果的因素很多, 包括取材位置、切片质量、染色和诊断医生的水平等, 而制片过程中

* 基金项目: 江西省卫健委科技计划(SKJP220200253)。

作者简介: 袁燕平(1987—), 硕士研究生, 主管技师, 主要从事肿瘤与基因的关系研究。△ 通信作者, E-mail: jiwangliangliang@163.com。

使用的组织冷冻包埋剂也是非常重要的影响因素之一^[3-5]。冷冻切片包埋剂也称最佳切削温度(OCT)包埋胶,是一种聚乙二醇和聚乙烯醇的水溶性混合物,广泛用于病理冷冻切片工作中,其用途是在冰冻切片时支撑组织,以增加组织的连续性,常温时候呈液态, -20℃时则为固态,其能够在低温条件下包裹组织,以便进行连续的组织切片,减少皱折及碎裂。因为OCT包埋胶混合物为水溶性物质,故在组织冲水时可溶于水,所以在以后的染色过程中不会增加背景染色。OCT包埋胶具有支持性好、凝固快、不易形成结晶等优点,但是其价格偏高,工作中如大量使用会导致成本显著提高,因此,有众多病理工作者尝试用普通胶水代替进口OCT包埋胶,最终也获得了非常理想的结果,这些普通胶水在使用时也能制作出染色合格、对比良好的苏木精-伊红(HE)染色切片^[6-9]。多年来,九江学院附属医院病理科在冷冻切片工作中已使用过多款国产普通胶水,观察到不同胶水之间的性能表现差异巨大。为了找出一种最接近OCT包埋胶性能的胶水,本研究选取了多款市面常见的胶水,横向对比了其在冷冻切片中的使用效果,最终找到了其中性能最优、最接近专用OCT包埋胶的替代品,现将实验结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 九江学院附属医院手术室送检的新鲜外科手术标本 30 例,包括胃黏膜、甲状腺、子宫肌瘤、皮肤、卵巢等 5 种标本,各 6 例。

1.2 材料及设备 进口 LeicaCM3050S 冷冻切片机, Leica 公司生产的 OCT 包埋胶,北京雪奥文化用品制造有限责任公司生产的雪奥牌胶水,得力集团有限公司生产的得力牌胶水,汕头市源盛文化用品实业有限公司生产的博宝牌胶水,南昌天鹅文教用品厂生产的天鹅飞腾合成胶水;酒精、二甲苯和染色试剂等。

1.3 方法 (1)切片机预冷:先将冷冻切片机预冷降至 -20℃,在实际切片过程中根据不同组织的需求调节样本夹头的温度。(2)取材:将进口 OCT 包埋胶、各种普通胶水分别滴加到组织样品托上,将每例新鲜标本切取大小相似组织 5 块,组织厚度约 3 mm。将组织分别放置于滴有包埋胶的样品托上,再次滴加包埋剂将组织全部覆盖。(3)冷冻:将样品托立即放入冷冻切片机内的样本卡槽内,再根据组织类型调节切片温度至所需温度。(4)切片:当包埋剂与组织均冻结成白色或者透明体后,开始切片,所有组织切片厚度均设定为 5 μm,切好后立即将组织直接贴在干净载玻片上,随后切片放入甲醇固定液中固定 1 min。(5)染色:切片经过自来水冲洗 30 s 后,所有切片按照相同的实验流程,进行 HE 染色。(6)每例冰冻标本染色结束后,接着进行组织脱水透明浸蜡,制作石蜡标本并进行常规 HE 染色。(7)将冷冻切片与

石蜡切片进行对照,观察切片质量,包括组织结构完整性、细胞收缩和变形程度,同时要对冷冻切片和相对应的石蜡切片结果之间进行比较,染色完成的切片交给 2 名诊断医生进行镜下观察,给出诊断,并且给每张切片进行评分。

1.4 染色结果评判 (1)不同胶水切片间比较:由 2 名病理诊断医生采用双盲法进行打分,对 5 种不同包埋胶制作的冷冻切片 HE 染色质量进行评估。切片 HE 染色质量的评分标准参照《临床技术操作规范:病理学分册》中关于 HE 染色切片质量基本标准评分,总分为 100 分,共分四级,≥90 分评为甲级, 75~<90 分评为乙级,60~<75 分评为丙级,<60 分评为丁级。诊断医生首先评判染色质量是否符合诊断要求,如果不符则直接评为 0 分,不再进行后续评分,只有染色质量符合诊断要求时,才根据细胞核、细胞质染色强度、核浆对比度,以及与石蜡切片染色情况比较,再对切片进行判读评分,每种标本得分取平均值,保留小数点后两位。(2)各组冷冻切片与对应石蜡切片间比较:诊断医生对各组切片进行诊断后统计结论,分析各组标本的冰冻常规诊断符合率。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(*F* 检验),当 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

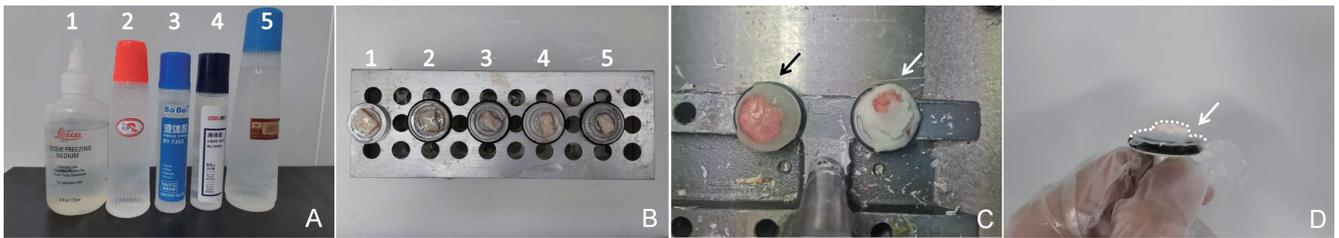
2 结果

2.1 不同胶水间表现及各组冷冻切片质量评分比较 本实验中 5 种不同胶水之间的冷冻切片质量评分比较,差异有统计学意义(*F* = 8.141, *P* < 0.001);其中 OCT 包埋胶和雪奥胶水之间的冷冻切片质量评分基本相同,差异无统计学意义(*P* = 0.452);而 OCT 包埋胶或雪奥胶水与其他 3 个品牌胶水之间比较,其冷冻切片质量评分均相对优异,差异均有统计学意义(*P* < 0.05),得力、飞腾、博宝胶水三者之间的冷冻切片质量评分相同,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见表 1。不同胶水间在制作冷冻切片中的使用效果见图 1。OCT 包埋胶和雪奥胶水制作冷冻切片病理图见图 2。不同胶水制作胃黏膜冷冻切片检查中的使用效果及病理图见图 3。

表 1 5 种不同胶水在不同组织中的制片质量评分($\bar{x} \pm s$,分)

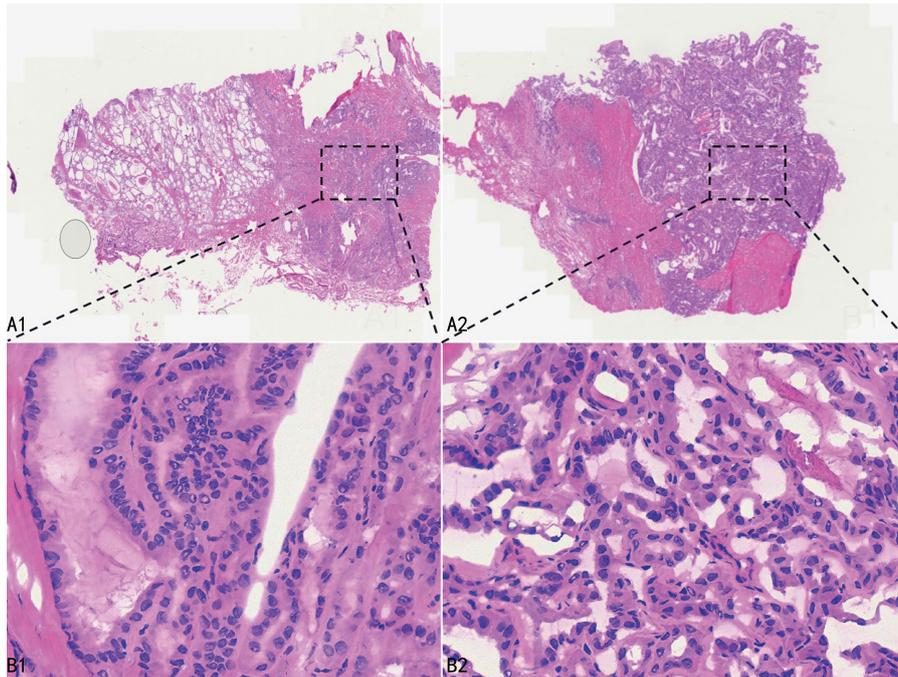
组别	OCT	雪奥	得力	飞腾	博宝
胃黏膜	92.67±0.51	91.67±1.36	88.00±1.41	90.00±1.41	90.00±1.67
子宫肌瘤	95.00±2.09	93.00±1.67	90.33±1.86	91.33±1.21	89.67±1.63
甲状腺	93.67±0.81	93.33±0.51	89.00±2	86.00±1.67	88.67±1.50
皮肤	91.00±1.54	92.00±1.26	90.33±1.36	90.67±1.75	91.00±1.26
卵巢	92.33±1.21	91.33±1.63	89.33±1.21	88.00±1.67	89.33±1.36
总平均得分	92.93±1.49	92.26±0.86	89.40±0.98	89.20±2.18	89.73±0.86

2.2 各组诊断结果 在 5 组标本之间,冷冻切片的诊断结论和对应的石蜡切片之间的诊断结论均一致,符合率达到 100.0%。



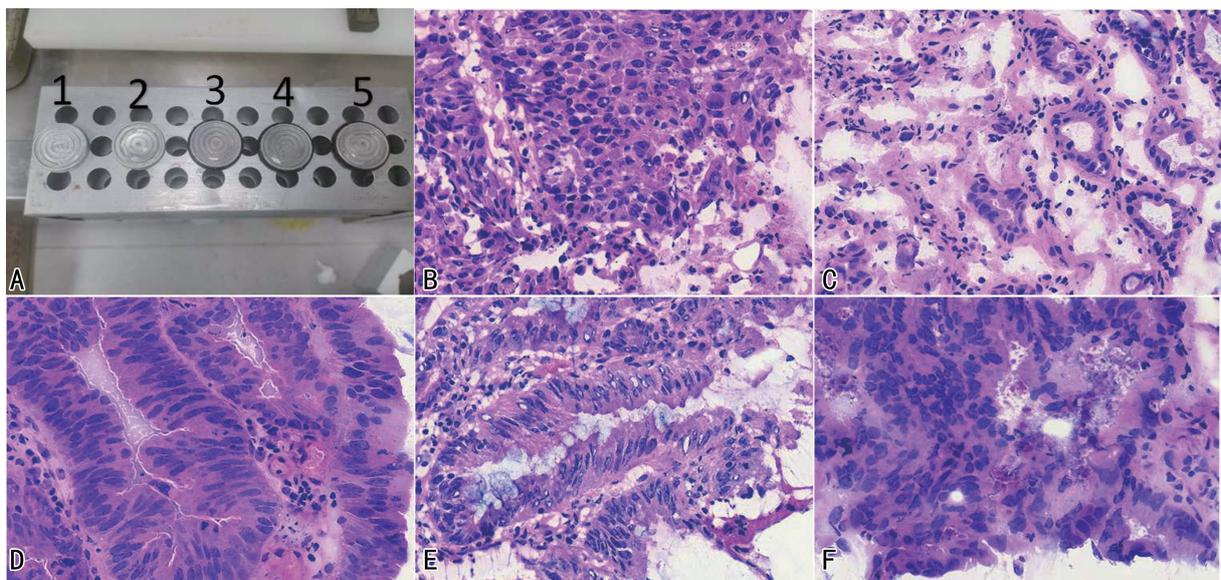
注:A、B 示 5 种不同胶水在冷冻切片中的使用,1 为 OCT 包埋胶,2 为雪奥,3 为博宝,4 为得力,5 为飞腾;C 示专用的 OCT 包埋胶和普通胶水在低温冷冻后的外形,可以看到普通胶水呈现透明样外观,而 OCT 包埋胶呈现乳白色的外观,二者不同;D 示普通胶水由于本身比较稀薄,滴加后出现流淌现象,其对组织的包裹覆盖性略差。

图 1 不同胶水在制作冷冻切片中的使用效果



注:A1、A2 为 OCT 包埋胶,A2 为放大后效果;B1、B2 为雪奥胶水,B2 为放大后效果;2 种胶水在甲状腺组织的冷冻切片中的表现几乎一致,组织细胞着色鲜明,胞核胞浆分界清楚。

图 2 OCT 包埋胶和雪奥胶水制作冷冻切片的病理图(HE 染色,A1、B1:4×,A2、B2:20×)



注:A 中示 1 为 OCT 包埋胶,2 为雪奥,3 为博宝,4 为得力,5 为飞腾;肉眼观察各组胶水表现差异不大,OCT 包埋胶(B)相对比较黏稠一些;而显微镜下结果显示 OCT 包埋胶(B)和雪奥胶水(C)2 种胶水的表现总体较好,切片的细胞染色鲜艳,红蓝色对比度好,而其余 3 种胶水(D 为博宝,E 为得力,F 为飞腾)表现相对较差,细胞核着色不均匀,部分细胞核发灰发空。

图 3 不同胶水在制作胃黏膜冷冻切片检查中的使用效果及病理图(B~F:HE 染色,20×)

3 讨 论

对于临床病理工作而言,术中快速冷冻切片与诊断技术已成为一项不可或缺的技术手段,其是借助冷冻切片机的低温来迅速冷冻组织,接着再对冷冻组织进行切片、固定、染色及封片等一系列操作,最后由诊断医生借助显微镜对切片良恶性进行诊断的一种方法^[2-3,10]。一般来说,术中冷冻切片诊断必须在较短的时间内(一般为 30 min)对送检组织的良恶性、肿瘤的边缘组织是否存在浸润或淋巴结内是否存在癌转移等情况进行快速而又准确的判断,从而帮助外科医生确定手术的范围及方式^[11]。快速冷冻切片技术省略了组织的前处理过程,直接在低温条件下进行切片,而想要实现低温条件下切片依靠的就是组织冷冻包埋剂,即 OCT 包埋胶。以往使用的 OCT 包埋胶均为进口产品,价格昂贵,近年来也有国产 OCT 包埋胶出现,其性能已经接近进口产品,但是价格依然在每 150 毫升 200~300 元,总体上看使用成本比较高。一直以来,许多病理工作者都在尝试寻找一种便宜而又实用的 OCT 包埋胶替代品,许多实验证实普通的文具胶水就具有和 OCT 包埋胶相类似的作用,两者都是无色透明液体,冷冻后都有着与组织块相近的韧度,能起到良好的支撑、填塞和凝固作用。市面上文具胶水的主要成分多为聚乙烯醇、白乳胶、硬脂酸钠、滑石粉、乙二醇、蔗糖等,这些物质的水溶性均较好^[12]。本实验发现,普通胶水制作的切片,没有出现脱片,而且染色效果稳定,透亮度好,玻片上也无胶水残留,最终的切片质量完全合格,与进口 OCT 包埋胶相比毫不逊色。不同标本先进行冷冻切片后再进行石蜡切片,两者的诊断均符合,一致性较好,表明这 5 种不同胶水制作的切片其实均能满足快速病理诊断的要求,唯一不同的是不同胶水制作的冷冻切片之间存在着质量的差别,尽管这些差别是微小的,但是对于诊断医生,更优良的切片意味着诊断时更准确和更快速地诊断^[13]。

快速冷冻切片时,当切片机冷冻室、组织样本、包埋剂和刀片之间的温度达到平衡时,此时即可获得高质量的冷冻切片。由于不同组织的构成成分不同,脂质构成比存在差异,导致各个样本的 OCT 包埋胶实际上各不相同,正常工作中需要不断调整切片温度。OCT 包埋胶是由高分子聚合物构成的黏稠无色透明液体,其冷冻速度和软硬度与绝大部分组织细胞相近,冷冻组织在接触冷冻切片刀的一瞬间,局部温度快速升高并且发生局部融化,紧接着切开的组织薄片暴露于冷冻机室中而又被再次冷冻,这一过程不

断重复,周而复始就实现了冷冻情况下的连续切片^[4]。一般来说,普通胶水中通常含有较多水分,这会造成冷冻组织过程中形成大量的细小晶体,这些晶体会挤压组织,甚至会导致细胞发生破裂,最终会影响到组织 HE 染色的形态结构,让原本该有的组织细胞发生变异,给诊断医生造成相当程度的诊断障碍,进而导致诊断出现差错^[14-16]。本实验发现,普通胶水多为透明样液体,外观呈水样,滴加到组织上后很快就流淌开来,无法完全包裹住组织块,导致切片时非常容易出现卷曲现象,其可能的原因是组织自身的张力过大,而组织周围又缺乏胶水的牵拉,最终导致卷曲。而雪奥牌胶水则表现良好,其性状黏稠,含水量较少,滴加到组织周围后能完全包裹住组织。其冷冻变硬的速度和 OCT 包埋胶几乎相当,在切片时也不会出现卷曲现象。本实验已经初步证明了雪奥牌胶水在冷冻速度和冷冻切片质量上均优于其他普通胶水,达到或者接近进口 OCT 包埋胶性能,下一步将继续研究普通胶水和 OCT 包埋胶包埋后的组织内蛋白质及核酸的保存情况,进一步明确普通胶水在病理工作中的应用价值。

参考文献

- [1] 漆兰. 术中冰冻及快速免疫组化检测在乳腺癌前哨淋巴结诊断中的应用分析[J]. 江西医药, 2015, 50(6): 585-587.
- [2] 连爱琼. 快速冰冻切片技术在病理诊断中的应用分析[J]. 医学理论与实践, 2016, 29(16): 2251-2252.
- [3] SVAJDLER M, SVAJDLER P. Frozen section: history, indications, contraindications and quality assurance[J]. Cesk Patol, 2018, 54(2): 58-62.
- [4] 曹金雷. 包埋剂在冰冻切片中的使用技巧[J]. 中国保健营养, 2019, 29(23): 374.
- [5] 范晓杰, 张勐, 杨会钗, 等. OCT 包埋剂代替普通胶水在冷冻组织切片中应用比较[J]. 诊断病理学杂志, 2020, 27(2): 137-138.
- [6] 王晓鸿, 苟新敏, 林宇静, 等. 制作冰冻切片对包埋剂的选择及应用[J]. 中国实用医药, 2009, 4(36): 217.
- [7] 李晓锋, 邓元, 曹培龙, 等. 普通胶水代替进口 O. C. T 包埋剂制作冰冻切片[J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23(3): 51.
- [8] 李林丰, 刘禄, 杨娜, 等. 普通胶(下转第 448 页)

2018,38(2):186-190.

[11] 李碧怡,彭嘉健,邝敏华,等. 八正散加减联合超声药物透入治疗女性膀胱过度活动症的临床疗效[J]. 中医临床研究,2021,13(16):109-112.

[12] 金锡御,宋波,杨勇,等. 膀胱过度活动症临床指导原则[J]. 中华泌尿外科杂志,2002,23(5):311-313.

[13] 倪莉莉,诸葛云,陈晓波. 盆底肌训练在女性膀胱过度活动症患者中的应用价值及对患者生活质量的影响[J]. 中国妇幼保健,2021,36(8):1726-1729.

[14] CONG H L, LIAO L M, WANG Y M, et al. Effects of acute sacral neuromodulation at different pulse widths on bladder overactivity in pigs[J]. Int Neurourol J, 2019,23(2):109-115.

[15] ZHOU H, CHEN W Z, YAN Y Z, et al. Efficacy of non-pharmacological interventions in patients with overactive bladder: A protocol for systematic review and network meta-analysis [J]. Nurs Open, 2021,9(1):402-407.

[16] 单东超. 盆底磁刺激联合行为疗法对女性膀胱过度活动症患者膀胱功能的影响[J]. 医疗装备,

2020,33(15):158-160.

[17] 范天丽,林金生,庄泽香,等. 生物反馈治疗联合康复训练在中年女性膀胱过度活动症患者中的应用效果[J]. 护理实践与研究,2021,18(1):97-99.

[18] 郭灿琮. 索利那新联合坦索罗辛治疗经尿道前列腺电切术后膀胱过度活动症的效果观察[J]. 实用中西医结合临床,2020,20(18):73-74.

[19] ZOMKOWSKI K, KAMMERS I, HUGEN BACK B B, et al. The effectiveness of different electrical nerve stimulation protocols for treating adults with non-neurogenic overactive bladder: A systematic review and meta-analysis [J]. Int Urogynecol J, 2022,33(5):1045-1058.

[20] 柯刘盼,沈建武,丁家森,等. 针灸治疗女性膀胱过度活动症临床研究进展[J]. 国际中医中药杂志,2020,43(5):504-506.

[21] 李碧怡,彭嘉健,邝敏华,等. 八正散对急性肾盂肾炎模型大鼠炎症因子和局部免疫功能的影响[J]. 中国中医急症,2020,29(12):2133-2136.

(收稿日期:2022-05-24 修回日期:2022-12-09)

(上接第 442 页)

水作为术中冰冻切片包埋剂替代品的可行性研究[J]. 临床医药实践,2015,24(4):319-320.

[9] 魏素姣. 皮肤组织冰冻切片在直接免疫荧光法中包埋剂的改良应用初探[J]. 皮肤病与性病,2018,40(2):264-265.

[10] OLSEN K D, MOORE E J, LEWIS J E. Frozen section pathology[J]. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg, 2013,139(12):1275-1278.

[11] 孙丽萍. 五种不同固定液对冰冻切片染色质量的影响[J]. 实验与检验医学,2011,29(1):95.

[12] 陈志,朱卫东,郭凌川. 冷冻切片组织速冻方法改良[J]. 临床与实验病理学杂志,2021,37(10):1265-1267.

[13] 刘萍. 基层医院提高病理切片质量方法和注意事项探讨[J]. 江西医药,2015,50(11):1292-1293.

[14] 梁静. 乳腺肿瘤冰冻切片与石蜡切片病理诊断准确率的比较分析研究[J]. 系统医学,2018,3(21):36-38.

[15] 包翠芬,刘霞,穆长征,等. 比较三种防冰晶法对切片保存效果的影响[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2007,16(1):122-123.

[16] 林兴滔,葛岩,邓雪琴,等. 如何减少冷冻切片中的类冰晶现象[J]. 临床与实验病理学杂志,2021,37(11):1390-1391.

(收稿日期:2022-06-16 修回日期:2022-12-31)