

• 论 著 •

超声和微波原理快速石蜡技术的应用比较

沈璐敏, 黄山, 陈志[△]

(苏州大学附属第一医院病理科, 江苏 苏州 215006)

[摘要] 目的 比较基于超声与微波 2 种不同原理快速石蜡技术的应用效果。方法 收集 2022 年 1—12 月苏州大学附属第一医院病理科通过超声空化法与微波法处理的快速石蜡标本, 通过分析苏木精-伊红 (HE) 染色制片优良率、免疫组化染色、荧光原位杂交技术 (FISH) 检测效果及处理时间、试剂环保性等, 比较 2 种不同原理快速石蜡技术的应用效果。结果 超声空化法共处理快速石蜡标本 1 989 例, 微波法处理快速石蜡标本 1 540 例, 2 种技术均广泛应用于全身多处小组织活检, HE 切片优良率均达到 99%, 2 种技术处理的快速石蜡切片 HE 染色评分比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。超声空化法处理的快速石蜡标本有 3 例出现脱片现象 (脱片率为 0.15%), 微波法处理的快速石蜡标本 8 例出现脱片现象 (脱片率为 0.53%), 2 组脱片率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 2 种技术免疫组化染色效果均满意; 2 种技术处理的快速石蜡切片 FISH 检测效果满意, 均不影响结果判读; 超声空化快速石蜡技术处理时间为 69(63, 76) min, 微波法快速石蜡技术处理时间为 123(119, 126) min, 2 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 2 种不同原理快速石蜡技术制片优良率均高于 99%, 在 HE 染色、免疫组化及 FISH 检测方面效果一致, 但综合组织脱片率及组织处理时间考虑, 基于超声空化原理的快速石蜡技术更值得临床推广。

[关键词] 快速石蜡技术; 超声空化处理法; 微波处理法

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2024.20.006 中图法分类号: R36

文章编号: 1009-5519(2024)20-3455-04

文献标识码: A

Comparison of the fast paraffin technology of ultrasound and microwave principles

SHEN Lumin, HUANG Shan, CHEN Zhi[△]

(Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215000, China)

[Abstract] **Objective** To compare the application effects of rapid paraffin techniques based on two different principles: ultrasound and microwave. **Methods** Rapid paraffin samples processed by ultrasonication and microwave methods from January to December 2022 at the Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Soochow University were collected. The application effects of these two techniques were compared by analyzing the excellent rate of Hematoxylin and Eosin (HE) staining, immunohistochemical staining, fluorescence in situ hybridization (FISH) outcomes, processing time, and reagent environmental friendliness. **Results** A total of 1 989 rapid paraffin samples were processed using ultrasonication, and 1 540 samples were processed using the microwave method. Both techniques were extensively applied to small tissue biopsies from various parts of the body, with an excellent HE slide quality rate reaching 99%. There was no statistically significant difference in HE staining scores between the two techniques ($P > 0.05$). Three instances of slide detachment were observed in samples processed by ultrasonication (detachment rate of 0.15%), compared to eight in the microwave-processed samples (detachment rate of 0.53%); however, the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). Both techniques provided satisfactory results in immunohistochemical staining; the FISH detection outcomes of rapid paraffin slices processed by both techniques were satisfactory and did not affect result interpretation. The processing time for ultrasonication rapid paraffin technique was 69(63, 76) minutes, whereas it was 123(119, 126) minutes for the microwave technique, showing a statistically significant difference ($P < 0.05$). **Conclusion** Both rapid paraffin techniques produced an excellent slide quality rate of o-

ver 99%, and consistent results in HE staining, immunohistochemistry, and FISH detection. However, considering the overall detachment rate and tissue processing time, the ultrasonication-based rapid paraffin technique is more deserving of clinical promotion.

[Key words] Rapid paraffin technology; Ultrasonication method; Microwave method

石蜡切片技术作为临床病理常规制片应用最为广泛的技术,虽然准确率高,但需要耗费较长时间,在一定程度上降低了诊断效率^[1]。随着病理技术的不断发展及临床对病理诊断时间要求越来越高,快速石蜡技术应运而生且被广泛使用^[2]。本文收集了 2022 年 1—12 月苏州大学附属第一医院病理科通过超声空化法与微波法处理的快速石蜡标本,通过比较其在苏木精-伊红(HE)染色、免疫组化染色及荧光原位杂交技术(FISH)检测等方面的结果,同时综合处理时间及试剂环保性,比较 2 种不同原理快速石蜡技术的应用效果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料 收集 2022 年 1—12 月苏州大学附属第一医院病理科通过超声空化法与微波法处理的快速石蜡标本共 3 529 例,其中通过超声空化法处理的快速石蜡标本 1 989 例,通过微波法处理的快速石蜡标本 1 540 例。所有病例均由 2 名高年资病理医师进行诊断并复核。

1.1.2 主要仪器及原理 (1)基于超声空化的快速石蜡技术采用山东骏腾医疗科技有限公司的半自动快速组织处理仪(型号:HT-3),采用 iMultiHUC 组织处理技术,其原理内容:通过发出高频超声波震荡产生空化效应,使细胞膜上出现可逆性小孔,显著提高细胞膜的通透性,同时经适当地加温,加快试剂缸中的试剂分子运动速度,加强专业试剂对组织块的渗透作用。(2)基于微波原理的快速石蜡技术采用长沙康柏恩医疗科技有限公司的 Pathowave 400 型微波快速组织处理仪,由微波处理器和真空浸蜡器 2 个工作单元构成,其原理内容:利用微波的热学原理,即微波释放高频热能,使分子剧烈运动,在运动中瞬间产热,使试剂与组织块内液体分子交换迅速,同时把微波和真空快速浸蜡技术相结合,从而加速组织固定、脱水、透明和浸蜡的全过程。(3)主要仪器:病理组织包埋台(Thermo Fisher, Histostar)、切片机(Leica, RM2235)、全自动多功能染色仪(DAKO, Coverstainer)、全自动免疫组化染色仪(DAKO, Omnis)、全自动封片仪(Thermo Fisher, CTSIOS1707)、原位杂交仪(雅培, Britt)等。

1.1.3 试剂 (1)基于超声空化原理的快速石蜡试

剂由山东骏腾医疗科技有限公司提供的与 HT-3 配套的环保型快速组织处理试剂;基于微波原理的快速石蜡试剂由长沙康柏恩医疗科技有限公司提供的组织处理试剂。(2)免疫组化抗体:主要购于基因科技公司、北京中杉金桥公司、DAKO 公司等。(3)FISH 检测探针试剂盒 FISH Probe (Abbott Molecular Inc)购自雅培公司。

1.2 方法 (1)HE 染色:使用全自动多功能染色仪进行染色,观察 HE 染色效果。(2)免疫组化染色:使用全自动免疫组化染色仪进行染色,免疫组化采用 EnVision 法。(3)FISH 检测:按照试剂盒使用方法操作,照判读标准进行结果判读,HER-2 为红色信号, CSP17 为绿色信号。

1.3 统计学处理 应用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析,由于 2 组 HE 染色评分和处理时间不符合正态分布,统计描述采用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,采用 Mann-Whitney U 检验,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

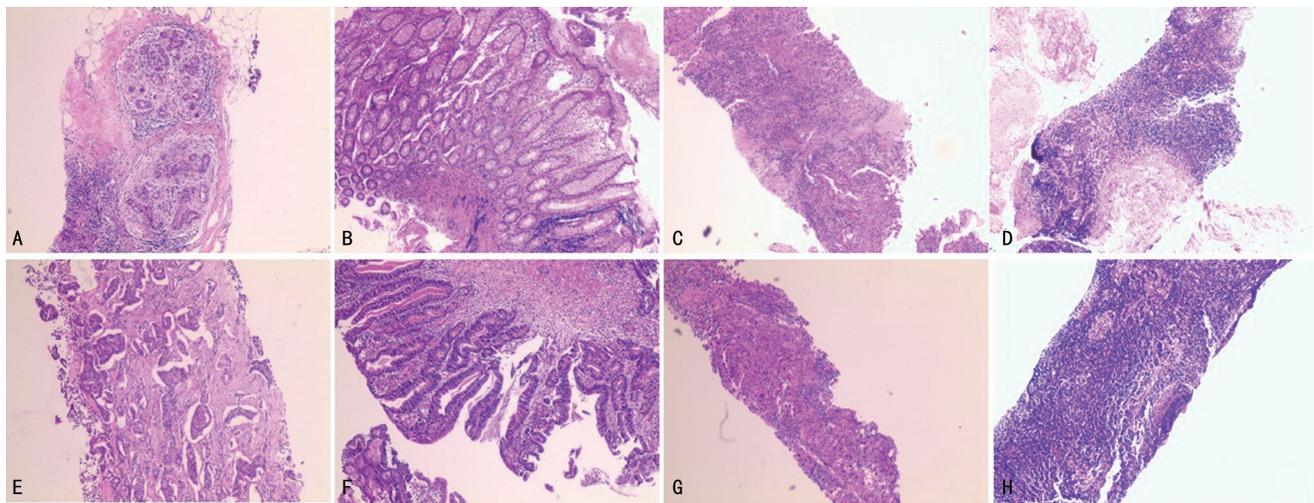
2.1 2 种技术处理组织的分布情况 基于超声空化法共处理快速石蜡标本 1 989 例,其中 1 027 例行免疫组化检测。1 989 例标本中,肺及支气管黏膜组织 773 例,乳腺组织 428 例,淋巴结组织 233 例,肝组织 150 例,宫颈相关组织 65 例,胃肠黏膜 65 例,其余 200 余例分布于如头颈部、食管、腹腔、骨等全身多处;基于微波法共处理快速石蜡标本 1 540 例,其中 515 例行免疫组化检测。1 540 例标本中,肺及支气管黏膜组织 282 例,乳腺组织 434 例,淋巴结组织 146 例,肝组织 88 例,宫颈相关组织 53 例,胃肠黏膜 343 例,其余近 200 例同样也分布于全身各部位组织。

2.2 2 种技术 HE 及免疫组化染色效果比较

2.2.1 HE 制片优良率比较 2 种不同原理快速石蜡方法的 HE 切片染色均符合优质切片评分标准,切片平整,红蓝分明,组织保持原有形态,镜下可见细胞核/质对比清晰、细胞基本无收缩、无挤压、透明度好(图 1),HE 切片优良率均达到 99%。2 组 HE 切片根据《病理常规石蜡包埋 HE 染色切片质量标准及评分表(参照)》,由 2 名病理诊断医师进行打分,采用 Mann-Whitney U 检验,2 种技术处理的快速石蜡切片质量比较,差异无统计学意义($Z = -1.481, P >$

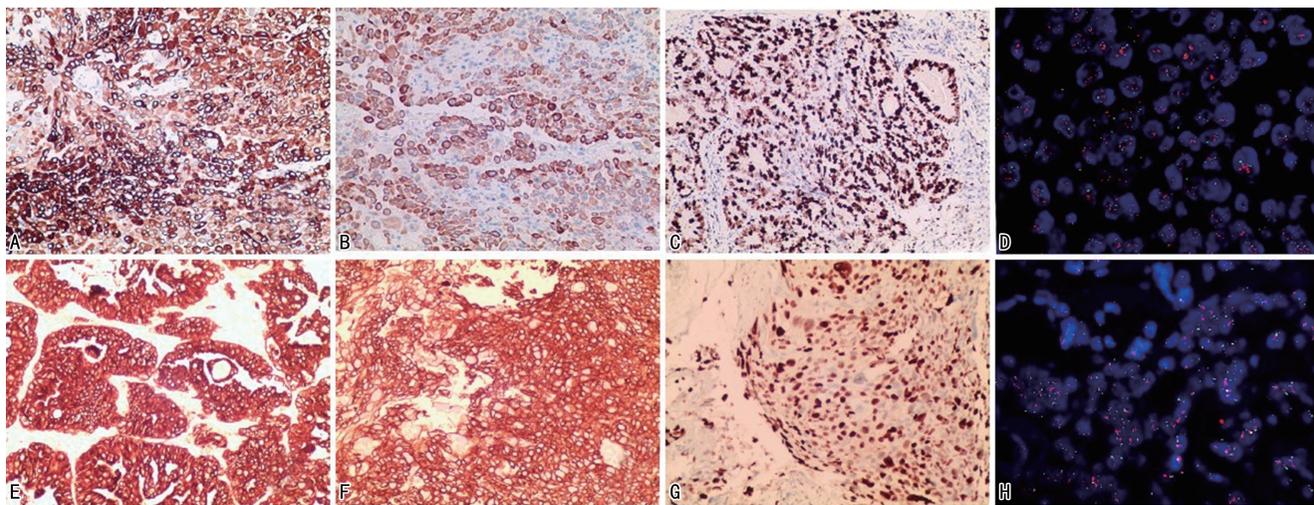
0.05),见表 1。超声空化法处理的快速石蜡标本 3 例出现脱片现象(3/1 989,0.15%),而微波法处理的快速石蜡标本 8 例出现脱片现象(8/1 540,0.53%),2 组脱片率比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 3.752, P > 0.05$)。

2.2.2 免疫组化染色效果 2 种技术处理的快速石蜡切片免疫组化染色对比清晰,背景干净。与相应质控片对比,染色定位一致,阳性结果一致。2 种技术处理的快蜡切片免疫组化染色部指标见图 2A~C、E~G。



注: A~D 为超声空化法处理的快速石蜡 HE 染色切片, E~H 为微波法处理的快速石蜡 HE 染色切片,切片红蓝分明,核质对比清晰,透明度高。A、E 为乳腺穿刺组织; B、F 为肠黏膜组织; C、G 为肺穿刺组织; D、H 为淋巴结穿刺组织。

图 1 2 种技术 HE 染色情况(40×)



注: A~C 为超声空化法处理的快速石蜡部分指标免疫组化染色; E~G 为微波法处理的快速石蜡切片部分指标免疫组化染色。A、E 为 CK7 阳性; B、F 为 CK56 阳性; C、G 为 Ki-67 阳性。D 为超声空化法处理的乳腺组织 HER-2 阳性; H 为微波法处理的乳腺组织 HER-2 阳性, D、H 均细胞轮廓完整,信号清晰。

图 2 2 种技术免疫组化染色及 FISH 比较(100×)

2.3 2 种技术 FISH 检测效果比较 选取乳腺组织的 HER-2 基因 FISH 检测,发现 2 种技术处理的阳性标本 HER-2 基因均呈簇状扩增,红绿信号清晰,背景清楚,DAPI 染色均一,不影响结果判读。HER-2 基因扩增图见图 2D、H。

2.4 2 种技术处理时间长短、试剂环保性等方面比较

2.4.1 处理时间 超声空化快速石蜡法从固定至浸

蜡完成需 97(96.98) min,微波快速石蜡法则需 97(96.98) min,微波处理法平均时间明显长于超声空化处理法,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.4.2 试剂环保性 超声空化快速石蜡试剂为新型环保试剂,试剂刺激性味道小;微波法快速石蜡试剂运用新型组织固定剂代替传统的甲醛,且不用二甲苯做组织透明剂,两者均采用环保试剂。

表 1 2 种技术 HE 染色评分、组织脱片率及处理时间比较

内容	超声空化法	微波处理法	Z/ χ^2	P
HE 染色评分 [M (P ₂₅ , P ₇₅), 分]	97(96, 98)	97(96, 98)	-1.481	0.139
组织脱片率 [% (n/n)]	0.15(3/1 989)	0.53(8/1 540)	3.752	0.053
处理时间 [M (P ₂₅ , P ₇₅), min]	69(63, 76)	123(119, 126)	-51.032	<0.001

3 讨 论

石蜡包埋法于 1860 年由 KLERBS 首次提出, 经过不断改良完善, 成为最重要的病理技术之一^[3]。然而, 常规组织脱水处理流程需要 10~20 h, 后续经过制片、染色到诊断医生做出病理诊断, 共需 4~5 个工作日, 在一定程度上降低诊断效率。随着病理技术的发展及临床对快速病理诊断的迫切要求, 24 h 快速石蜡技术应运而生, 其方法简便, 处理时间短, 且检验准确率与常规石蜡切片技术不相上下, 不仅对其后的手术治疗有重要帮助, 同时减轻了患者的经济负担^[4]。目前, 有研究报道超声空化法处理的快速石蜡技术与常规石蜡技术差异。吴昊等^[5]指出, 基于超声空化原理处理的快速石蜡切片 HE 染色符合优质切片标准, 免疫组化及 FISH 结果与常规石蜡切片无异; 魏雪等^[6]指出, 超声波处理快速石蜡技术与常规切片质量差异较小, 其免疫组化及分子检测效果也能满足病理诊断需求, 同时研究发现在供肾零点活检病理诊断中, 超声处理快速石蜡制片与手工快速石蜡制片 HE 染色及特殊染色结果一致; 施栋梁等^[7]也指出, 基于超声空化原理处理的快速石蜡技术完全满足胃镜组织活检中 HE 染色诊断的要求, 且对免疫组化染色结果无影响。但是对于超声空化及微波处理 2 种不同原理快速石蜡技术的比较较少。本研究回顾性分析了 2022 年本院病理科处理的全部快速石蜡标本, 发现基于 2 种原理的快速石蜡技术适用于常见的各类型组织学活检标本。通过比较 HE 染色及免疫组化染色发现, 2 种快速石蜡处理技术的染色效果均符合质控要求及诊断要求, 适用于临床病理诊断。在分子检测方面, 何燕等^[8]通过研究超声快速石蜡对 FISH 检测的影响发现, 超声快速石蜡处理在细胞轮廓、背景轮廓、信号强弱等方面均与常规石蜡切片结果一致; 张茜等^[9]比较了超声快速石蜡与常规石蜡在胃肠道间质瘤 Sanger 测序结果发现, 超声快速石蜡处理后, 切片 HE 染色与常规石蜡切片染色结果一致, 且

2 种技术处理的组织提取核酸浓度和纯度均可以满足下游测序的要求, 且测序结果完全一致, 这就提示超声空化组织处理对组织的核酸质量和浓度无影响。本研究通过对 FISH 检测效果判读发现, 无论是超声空化处理还是微波法处理的快速石蜡组织, 均可得到满意的荧光图像, 满足判读需求。组织测序的影响有待后续实验进一步验证。本研究发现, 超声空化快速石蜡法从固定至浸蜡完成需 97(96, 98) min, 微波快速石蜡法则需 97(96, 98) min, 微波法处理组织的时间较长, 延长病理诊断时间。同时发现, 超声空化法处理的 1 989 例样本中有 3 例出现脱片现象(脱片率为 0.15%), 而微波法处理的 1 540 例样本中有 8 例出现脱片现象(脱片率为 0.53%), 微波处理法组织脱片率略高于超声空化处理法, 但 2 种技术处理的快速石蜡标本的组织脱片率仍非常低, 满足临床应用。脱片的组织需要重新切片甚至重新处理, 均不利于临床病理诊断及临床满意度, 需要进一步改进。传统的快速石蜡制片技术处理组织多采用丙酮、二甲苯或正丁醇等试剂, 其中丙酮、二甲苯均可引起组织收缩及脆性增加, 使蜡块组织易碎、制片困难、切片不全, 从而影响病理诊断^[10-12]。本研究中, 2 种不同原理快速石蜡方法均使用相对环保的试剂, 不仅可以保持组织细胞完整的形态学结构, 保证组织细胞内生物大分子未被降解或改变其抗原性, 同时不含甲醛、二甲苯等有毒成分, 气味不刺激, 提升了病理科工作人员的舒适感, 降低了病理科医护人员致癌风险, 有利于构建环保病理科^[13]。

综上所述, 基于 2 种原理的快速石蜡技术在 HE 染色、免疫组化染色、FISH 检测方面均可以满足临床对于活检小组织快速病理诊断的需求。而微波法处理的快速石蜡标本 8 例出现脱片现象(8/1 540, 0.53%), 2 组脱片率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。该法处理时间更短, 相对效率更高。但 2 种技术均存在同样的局限性, 即仅适用于活检小组织, 当标本体积过大时并不适用, 这也提醒大家在临床病理工作中需要选择合适的病理检测手段。

参考文献

- [1] 付银娜, 孙春霞. 快速石蜡切片技术在病理检查中的应用[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(34):166.
- [2] 何平. 在临床病理检验中采用常规石蜡切片与快速石蜡切片技术的效果分析[J]. 智慧健康, 2021, 7(14):5-7. (下转第 3463 页)