

术中快速冰冻切片免疫组化染色的应用

敖永琴

重庆市丰都县人民医院 重庆丰都 408200

摘要: **目的:** 探讨在术中疑难病理诊断中实施冰冻切片快速免疫组化染色的诊断效能。**方法:** 研究2021年01月至2021年12月我院实施手术治疗的32例患者的疑难病例样本, 对全部样本实施常规病理诊断以及冰冻切片快速免疫组化染色诊断, 将常规切片处理诊断的结果列为对照组, 冰冻切片快速免疫组化染色诊断法的结果列为观察组, 对比两组诊断结果的一致性。**结果:** 经对比, 冰冻切片快速免疫组化染色诊断与常规病理切片诊断两者的疾病检出率无明显差异, 组间比较无统计学差异($P > 0.05$)。**结论:** 在疑难病理(恶性肿瘤)的诊断中, 冰冻切片快速免疫组化染色诊断与常规病理切片诊断疾病检出率具有较高一致性, 而且冰冻切片快速免疫组化染色诊断诊断耗时短, 操作方便, 具有显著应用价值。

关键词: 冰冻切片快速免疫组化染色; 疑难病理; 常规病理切片; 快速诊断

Application of fast frozen section immunohistochemical staining during operation

Yongqin Ao

Chongqing Fengdu County People's Hospital, Chongqing, Fengdu, 408200

Abstract: **Objective:** To investigate the diagnostic efficacy of frozen section rapid immunohistochemical staining in difficult intraoperative pathological diagnosis. **Methods:** the samples of difficult cases of 32 patients who underwent surgery in our hospital from January 2021 to December 2021 were studied. All samples were diagnosed by routine pathological diagnosis and frozen section rapid immunohistochemical staining. The results of routine section processing diagnosis were listed as the control group and the results of frozen section rapid immunohistochemical staining diagnosis were listed as the observation group. The consistency of the diagnostic results of the two groups was compared. **Results:** after comparison, there was no significant difference in the disease detection rate between frozen section rapid immunohistochemical staining diagnosis and routine pathological section diagnosis, and there was no significant difference between the groups ($P > 0.05$). **Conclusion:** in the diagnosis of difficult pathology (malignant tumor), the detection rate of frozen section rapid immunohistochemical staining is consistent with that of routine pathological section. Moreover, the diagnosis of frozen section rapid immunohistochemical staining is time-consuming, easy to operate and has significant application value.

Keywords: rapid immunohistochemical staining of frozen sections; Difficult pathology; Routine pathological sections; rapid diagnosis

目前临床上疾病的诊断方式主要分为影像学诊断、生物标志物诊断、血清指标诊断以及病理学诊断^[1]。临床上以及相关疾病的诊治指南一般将病理学诊断列为金标准诊断, 这也是当下临床上绝大多数疾病诊断准确率最高的诊断方式, 虽然绝大多数疾病通过影像学、血清指标以及生物标准诊断即可确诊, 但是在某些疑难疾病以及肿瘤、结节的诊断中就需要采取病理学诊断才可获

取理想的诊断结果^[2]。而在病理学诊断中, 大致可以分为影像学引导下穿刺抽检以及手术病理学取样诊断, 影像学引导下穿刺抽检在部分的疑难疾病诊断中存在困难, 特殊结节类疾病, 如肺部进行抽检可能无法获取理想的病理组织, 因此一般认为手术病理学抽检是最为准确的诊断方式^[3]。冰冻切片诊断是目前临床上理想的病理学诊断方式, 相比于常规病理切片诊断, 其诊断耗时较短,

操作方便等优势, 被广泛的推广于各类手术病理学诊断中^[4]。但是因为冰冻切片诊断存在制片质量较差、取材有限等问题, 因此其一般应用于相对典型的各类恶性肿瘤、结节的等疾病的病理学诊断^[5], 而目前临床上的疑难病例, 术中病理学诊断结果直接影响手术治疗的进展, 但是目前尚无应对其应用于疑难疾病的研究。本研究基于此, 探究冰冻切片快速免疫组化染色诊断法在疑难病例的术中病理学诊断中的可行性, 现将结果报告如下。

1. 资料与方法

1.1 一般资料

本次研究对象选取为2021年01月至2021年12月, 我院实施手术治疗的32例患者的疑难病例样本, 对全部样本实施常规病理切片诊断以及冰冻切片快速免疫组化染色诊断, 将一般常规病理切片处理诊断的结果列为对照组。患者年龄26-73周岁, 平均年龄(44.36±4.77)岁, 女性有16例, 男性有16例, 病程1-3年, 平均病程(1.77±0.21)。

纳入规则: 所有患者均符合恶性肿瘤诊断标准;

排除规则: 常规病理诊断与冰冻切片诊断结果不一致。

1.2 方法

1.2.1 对照组

常规石蜡切片病理诊断, 具体方式为: 将肿块组织用固定液固定, 之后用梯度酒精溶液做脱水操作, 酒精浓度依次为70%、85%、95%、100%、100%。脱水时间维持在1-2h。脱水完成后, 进行浸蜡操作, 浸蜡温度为55-66℃, 每缸浸蜡1h, 留存标本。进行包埋操作, 之后通过LEACIA石蜡切片机进行切片, 厚3-5μm, 把蜡片放在载玻片上, 将载玻片放在恒温箱上烤干, 温度设置为60-65℃, 然后实行脱蜡操作, 最后进行HE染色步骤, 观察染色结果。对比相关疾病的染色标准进行确认。

1.2.2 观察组

术中快速冰冻切片病理诊断, 具体步骤为: 选取肿块组织标本, 直径大小在1.5-2.0cm, 将选取组织置于冰冻切片机里, 快速进行冷冻, 温度设置在-15至-20℃, 冷冻时间保持在2-3min, 切片厚度为6-8μm。之后通过甲醛固定, 然后进行苏木精-伊红(HE)染色操作。将苏木素染液加热, 并快速进行染色, 之后进行梯度酒精脱水、封片和光学显微镜观察, 对冰冻切片结果进行判定, 整体检查时间为不超过30分钟。针对疑难病例, 则按以下方法进行快速免疫组化染色: (1) 将标本放在冷冻切片机内冰冻后切片, 切片厚度为5μm, 粘贴在防

脱载玻片1/3与2/3之间, 在空气干燥25~35s; (2) 滴加一抗, 在40℃下孵育4min; (3) 用PBS清洗三次, 每次4~7s; (4) 滴加二抗, 在40℃下孵育4min; (5) 用PBS清洗三次, 每次4~7s; (6) 滴加DAB试剂, 显色1~2min; (7) 用苏木素染液染色3~10s。(8) 用流水冲洗反蓝10s, 冲洗后用中性树胶封片。(9) 镜下观察, 作出诊断。整个过程不超过30分钟。

1.3 观察指标

观察比较两种诊断方式的临床诊断结果, 在本次样本中涉及的疑难诊断中的检出病例。

1.4 统计学方法

将数据纳入SPSS 21.0系统软件中进行计算, 以($\bar{x} \pm s$)进行计量统计, 以(%)进行计数统计, t检验与 χ^2 检验, $P < 0.05$ 则表示有统计学意义。

2. 结果

2.1 比较观察组和对照组诊断结果

经对比, 冰冻切片快速免疫组化染色诊断法与常规病理切片诊断两者的疾病检出率无明显差异, 组间比较无统计学差异($P > 0.05$)。

表1 观察组和对照组诊断结果比较[n(%)]

名称	例数	观察组	对照组	χ^2	P
肺恶性肿瘤	9	8 (25.00)	9 (28.13)		
甲状腺肿瘤	7	7 (21.88)	7 (21.88)		
淋巴结病变	4	4 (12.50)	4 (12.50)		
乳腺恶性肿瘤	6	6 (18.75)	5 (15.63)		
腹腔恶性肿瘤	1	1 (3.13)	1 (3.13)		
卵巢恶性肿瘤	1	1 (3.13)	1 (3.13)		
脾脏恶性肿瘤	1	1 (3.13)	1 (3.13)		
其他	3	3 (9.38)	3 (9.38)		
合计	32	31 (96.88)	31 (96.88)	0.000	1.000

3. 讨论

据各类流行病学数据统计显示: 受我国居民饮食习惯、生活习惯以及生活水平的变化, 再加上生活不规律, 健康程度的降低, 目前临床上的各类疑难病症的发生率处于逐年升高趋势。而大多数的疑难病例因为没有显著的特异性, 在进行诊断的时候, 很难依靠简单的影像学、生物标志物以及血清指标诊断, 往往需要实施手术病理学诊断^[6]。术中病理学诊断是当下临床上准确度最高的诊断方式, 通过采集患者的病灶样本, 对其进行一系列特殊处理, 然后进行镜下观察, 确认疾病种类^[7]。常规石蜡切片是目前临床上针对肿瘤诊断的常用方式, 其诊断准确率极高, 是目前绝大多数的恶性肿瘤的诊断金标准, 但是该诊断方式操作步骤复杂, 时间久, 因此在实

际应用时存在一定的局限性,而且针对一些需要及时确诊的病理样本,可能会耽误患者的最佳治疗方式^[8]。

冰冻切片诊断,属于目前临床上常用的普通肿瘤的病理学切片诊断方式,相较于常规的石蜡切片,该诊断方式具有操作方便、耗时短等优势,其可以快速的对组织进行冰冻,完成组织切片,然后进行镜下观察。但是冰冻切片需要在相对有限的时间进行确认,而且其对于组织冷冻的水平、切片操作的水平均有一定的要求^[9]。在针对疑难病理的诊断中,冰冻切片快速免疫组化染色诊断,在完成常规染色后需要一定的时间进行免疫组化染色。因此冰冻切片快速免疫组化染色诊断并未在术中病理学诊断中进行广泛推广,但是近些年随着对于各类疑难病理的研究增加,相关数据及方法的积累,医学上对其进行了大量的归纳、概括,因此有学者认为冰冻切片快速免疫组化染色诊断法在疑难病理诊断中的时机已到^[10]。

本次研究结果显示:冰冻切片快速免疫组化染色诊断法与常规的石蜡切片诊断的疑难病理(恶性肿瘤)的检出率无明显差异($P > 0.05$)。从结果来看,在疑难病理(恶性肿瘤)冰冻切片快速免疫组化染色诊断法的应用效果已经趋近于一般疾病的诊断效果,故笔者认为其具有一定的普及推广价值。尤其是在恶性肿瘤疾病的诊断中,该类患者的病情相对较重,进展时间较快。一般的石蜡切片诊断在面对疑难病理诊断时一般需要5天乃至更长的时间,这个时间意味着患者无法在同一场手术中完成诊断与治疗,极有可能存在病理组织切除不彻底、诊断不明确的情况下等待,甚至需要进行二次手术,而在手术诊断后再次进行手术治疗往往,会给患者增加经济和心理负担。在此期间给患者带来的其他影响因素也是存在的。总之,术中常规石蜡切片在疑难病理(恶性肿瘤)的诊治中存在各类限制,导致其无法为疾病的手术处理提供有效的方案支持。而冰冻切片快速免疫组化染色诊断法一般只需要30min即可完成诊断,在手术治疗中,可以依据诊断结果调整手术方案,以达到最佳治疗效果。而且疑难病理的细胞学检查,受到各类因素,可能造成误诊、延迟诊断的情况,因此耗时较短的冰冻切片快速免疫组化染色诊断可以在一定程度上避免外界造成的诊断干扰^[11]。但同时需要注意,冰冻切片快速免疫组化染色诊断法对于取材具有较高的要求,在病理切片时,需要尽可能避开坏死组织取材,逐个沿最大切面进行切割,以避免遗漏病变组织。此外在诊断结果与手术中存在差异的时,应当与手术医师进行及时有效的沟

通,确认其发生原因,在必要的情况下应当对其进行重新切片检查。

综上所述,在疑难病理(恶性肿瘤)的诊断中,冰冻切片快速免疫组化染色诊断法与一般的切片诊断法疾病检出率具有较高一致性,而且冰冻切片快速免疫组化染色诊断法诊断耗时短,操作方便,具有显著应用价值。

参考文献:

- [1]徐姗,黄燕,盛以芸,等.印片细胞DNA定量分析联合冰冻切片在术中快速诊断中的应用[J].南昌大学学报(医学版),2021,61(1):65-68,封2.
- [2]彭凤翔.乳腺肿瘤术中快速冰冻切片与常规石蜡切片病理诊断准确率的比较研究[J].中国实用医药,2020,15(5):195-196.
- [3]黄荣.在对甲状腺微小癌患者进行手术的过程中对其实行冰冻切片快速病理检查的效果分析[J].当代医药论丛,2019,17(22):162-163.
- [4]沈元龙,李琳,吴子豪.术中冰冻切片快速免疫组化HE染色技术诊断硬化性肺细胞瘤和肺腺癌的应用对比[J].安徽医学,2019,40(12):1392-1395.
- [5]朱国祥,顾丽丽.术中冰冻切片联合快速免疫组化化学染色检测在诊断乳腺癌前哨淋巴结微转移中的价值[J].世界临床医学,2017,11(15):13.
- [6]陈岚,周本涛,黄眷杰.超声引导甲状腺肿物细针穿刺细胞学和术中快速冰冻切片组织学检查的对比研究[J].中国医学创新,2018,15(10):95-98.
- [7]张明侠.行乳腺微创旋切术乳腺疾病患者术中快速冰冻切片诊断结果与术后病理检查结果比较分析[J].四川生理科学杂志,2020,42(4):431-435.
- [8]孙志明.术中快速冰冻切片与术后石蜡切片用于卵巢肿瘤诊断中的应用价值比较[J].首都食品与医药,2021,28(19):44-45.
- [9]靳玉峰.超声引导下微创旋切活检术快速冰冻切片病理检查在乳腺癌筛查中的应用价值[J].黑龙江医学,2019,43(4):318-320.
- [10]杨建荣,钟敬涛,刘天奇,等.术前超声造影和术中快速冰冻病理切片诊断VETC癌巢型肝细胞癌的价值及患者手术方式选择研究[J].中国临床新医学,2021,14(3):262-266.
- [11]王小洁,张里援,陈湘宜,等.超声引导下穿刺活检术与术中快速冰冻组织活检病理诊断乳腺肿块的临床应用比较[J].中华全科医学,2020,18(3):457-459.