

# 快速微波组织处理系统在处理胃镜活检组织中实际应用分析

项逸伦 薛玉文 姜丹 周梦云

(上海中医药大学附属龙华医院病理科, 上海 200032)

**【摘要】目的:** 探讨快速微波组织处理系统在处理胃镜活检组织中的实际应用效果。**方法:** 选择收集 142 例上海中医药大学附属龙华医院病理科自 2020 年 1 月至 2021 年 4 月内窥镜室送检的胃镜活检组织, 组织大小均 <1cmX1cmX0.2cm。同时分成 2 组, 其中第一组 71 例为使用常规全封闭脱水机处理的常规组, 第二组 71 例为使用快速微波组织处理系统处理的实验组。两组标本经过处理后, 进行石蜡包埋、切片、常规 HE 染色、中性树胶封片<sup>[1]</sup>。镜下观察切片质量, 对比两者的差异。**结果:** 使用常规全封闭脱水机处理的常规组 HE 切片的甲级片占比为 94.36%, 使用快速微波组织处理系统处理的实验组 HE 切片的甲级片占比为 97.18%。常规组与实验组的切片质量差异无统计学意义。(P > 0.05)。**结论:** 本文采用的快速微波组织处理系统处理胃镜活检标本的方法, 步骤简单、成本低廉, 避免了同一台脱水机同时处理大小标本的不理想效果。对组织的形态没有明显影响, 切片质量符合质控要求, 在保证切片质量的同时, 极大地提高了整个病理科的工作效率, 完全满足了临床科室和病人的需要, 值得广泛推广。

**【关键词】** 常规脱水机; 快速微波组织处理系统; 切片; HE 染色; 合格率

**【中图分类号】** R361 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1672-3783 (2022) 05-15-239-01

近些年来, 伴随医院规模的不断扩张, 就医人群的增多, 病理送检标本的数量也持续成正比的增长, 在病房床位周转率逐渐增高的情况下, 根据病理专业医疗质量控制指标 [专业质控指标管理—国卫办医函 (2015) 252 号] 规定, 病理学诊断报告发放时间要求自接收标本后的 5 个工作日内完成; 穿刺、内窥镜钳取活检的小标本, 自接受标本后的 3 个工作日内完成, 但现在许多的临床科室因为诊疗方案的需要以及患者家属想要尽早治疗的迫切心理, 对病理诊断报告的周转时间要求变得越来越紧迫。传统的常规组织处理时间大约为 720-840 分钟, 完成常规活体组织石蜡切片至少需要 2 天, 而一些疑难杂症病例则需要做更进一步检查方能确诊, 从而有时会因为时间过长而无法满足临床的要求, 也给病人及其家属带来极大的困扰与不便。为了改变这一情况, 我院病理科于 2018 年购入了快速微波组织处理系统, 考虑到胃镜活检组织在整个病理科的外检工作中占有相当高的比例, 且为了避免同一台脱水机同时处理大小标本的不理想效果。故对内窥镜室送检的胃镜活检组织进行快速组织处理, 从以往的 720-840 分钟过夜缩短到 120 分钟左右。由此加快了出片的速度, 有效缩短了病理诊断医师出具病理报告的时间, 提高了整个病理科的工作效率<sup>[2]</sup>。因此笔者就内窥镜室送检的胃镜活检标本使用快速微波组织处理系统进行处理, 同时同批次与使用常规封闭式脱水机处理过的胃镜活检组织进行对比, 评估两种处理方法的切片质量, 探讨快速微波组织处理系统在处理胃镜活检组织的实际应用效果。

原理: 快速微波组织处理系统利用微波的高频率特性释放出热能, 从而组织内部分子产生剧烈的高速运动, 使试剂与组织内部的液体进行迅速的分子交换, 极大地加快了组织固定、脱水、透明的速度。而且还能够较完整地保存组织的形态结构和抗原活性, 为之后开展的免疫组化等检测项目提供了良好的前期基础。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择收集 142 例上海中医药大学附属龙华医院病理科 2020 年 1 月至 2021 年 4 月内窥镜室送检的胃镜活检组织, 组织大小均 <1cmX1cmX0.2cm。同时分成 2 组, 其中第一组 71 例为使用常规全封闭脱水机处理的常规组, 第二组 71 例为使用快速微波组织处理系统处理的实验组。

### 1.2 纳入与排除标准

纳入标准: 申请单及标本一致; 标本固定正确有效; 病理申请单填写规范; 送检标本完整无污染; 取材规范; 排除标准: 送检组织数量与病理申请单不一致者; 患者资料不完整者; 标本名称 / 数量漏填 / 错误者; 送检标本处理不当者; 申请单有污染情况者; 送检标本不完整或污染者; 送检标本密封不当者; 取材过厚 / 过大者; 脱水 / 固定不当者; 包埋组织混淆者等<sup>[3]</sup>。

## 2 仪器与试剂

### 2.1 仪器设备:

(1) MILESTONEKOS 快速微波组织处理系统 (2) Leica HistoCore PELORIS3 高通量脱水机 (3) Leica HistoCoreArcadia 模块化组织包埋系统 (包括 ArcadiaH 加热包埋模块和 ArcadiaC 冷台) (4) LeicaRM2235 手动转轮式石蜡切片机 (5) 中威 PHY-III 病理组织漂烘仪 (6) LeicaHI1210 摊片机 (7) LeicaAUTOSTAINERXL 自动载片染色机 (8) LeicaCV5030 全自动封片机 (9) 一次性 R35 羽毛刀片。

### 2.2 试剂

10% 中性福尔马林固定液 (上海初雷生物科技有限公司), 二甲苯 (国药集团化学试剂有限公司)、无水乙醇 (国药集团化学试剂有限公司)、95% 乙醇 (国药集团化学试剂有限公司)、异丙醇 (国药集团化学试剂有限公司)、醇溶性伊红染色液 (珠海贝索生物技术有限公司), 苏木素染色液 (珠海贝索生物技术有限公司), 石蜡 (福建启盛实验设备科技有限公司)

## 3 方法

常规组采取传统的常规组织处理方法, 送检标本经充分固定后取材, 取材大小均 <1cmX1cmX0.2cm, 将组织置入包埋盒中后, 使用 Leica HistoCore PELORIS3 高通量脱水机进行组织处理, 操作步骤如下:

1. 中性福尔马林: 120 分钟 P/V 循环 (+) 常温
2. 80% 乙醇: 60 分钟 P/V 循环 (-) 常温
3. 95% 乙醇: 60 分钟 P/V 循环 (-) 常温
4. 95% 乙醇: 60 分钟 P/V 循环 (+) 常温
5. 无水乙醇: 60 分钟 P/V 循环 (-) 常温
6. 无水乙醇: 60 分钟 P/V 循环 (+) 常温
7. 无水乙醇: 60 分钟 P/V 循环 (+) 常温
8. 二甲苯: 30 分钟 P/V 循环 (-) 常温
9. 二甲苯: 60 分钟 P/V 循环 (+) 常温
10. 二甲苯: 60 分钟 P/V 循环 (-) 常温
11. 石蜡: 60 分钟 P/V 循环 (+) 温度 65oC
12. 石蜡: 60 分钟 P/V 循环 (+) 温度 65oC
13. 石蜡: 90 分钟 P/V 循环 (+) 温度 65oC

合计脱水时间：840分钟左右

实验组采用快速微波组织处理系统120分钟的操作标准，送检标本经充分固定后取材，取材大小均 $<1\text{cm} \times 1\text{cm} \times 0.2\text{cm}$ ，将组织置入包埋盒中后，使用MILESTONEKOS快速微波组织处理系统进行组织处理，操作步骤如下：

1. 中性福尔马林：20分钟
2. 清洗液清洗数秒
3. 95%乙醇：20分钟
4. 异丙醇：33分钟
5. 快速干燥：2分钟
6. 石蜡：45分钟

合计脱水时间：120分钟左右

常规组与实验组在组织处理步骤结束后，取出一次性包埋盒使用Leica HistoCoreArcadia模块化组织包埋系统（包括ArcadiaH加热包埋模块和ArcadiaC冷台）进行石蜡包埋、制成蜡块，在包埋胃镜活检组织的过程中要格外注意包埋的方向，需将组织垂直包埋，以便可以观察胃粘膜由浅入深甚至肌层的病变。蜡块放入冰箱冷冻后，用LeicaRM2235手动转轮式石蜡切片机进行连续切片，《临床技术操作规范病理学分册》规定：内窥镜钳取活检及穿刺标本的切面数需满10个，切片厚度3-5微米，随后置中威PHY-III病理组织漂烘仪进行烤片，设定温度85.0C，20分钟。

用LeicaAUTOSTAINERXL自动载片染色机进行常规HE染色

常规HE染色操作步骤如下：

- |                        |                                 |
|------------------------|---------------------------------|
| 1. 二甲苯I：15分钟           | 11. 95%乙醇：30秒                   |
| 2. 二甲苯II：15分钟          | 12. 醇溶性伊红染色10秒                  |
| 3. 二甲苯III：12分钟         | 13. 95%乙醇I：30秒                  |
| 4. 无水乙醇：5分钟            | 14. 95%乙醇II：30秒                 |
| 5. 95%乙醇：5分钟           | 15. 100%乙醇I：30秒                 |
| 6. 80%乙醇：5分钟           | 16. 100%乙醇II：30秒                |
| 7. 脱蜡至水数秒              | 17. 二甲苯I：30秒                    |
| 8. 苏木素染色10分钟           | 18. 二甲苯II：30秒                   |
| 9. 流水冲洗，去余色，1%盐酸乙醇分化数秒 | 19. 二甲苯III：5秒                   |
| 10. 流水冲洗，切片反蓝15分钟      | 20. 使用LeicaCV5030全自动封片机进行中性树脂封片 |

#### 4 观察指标

##### 4.1 两组组织处理质量的评估

组织处理质量的评估标准：（1）组织无明显收缩、无变脆/变软者（2）蜡块表面未出现凹陷、无出现组织发白者；（3）组织无裂隙、破碎或崩脱者；（4）蜡块无残留试剂异味者；以上计为组织处理合格，否则为不合格。组织处理质量合格率（%）=（样本例数-不合格例数） $\times 100\%$ 。

##### 4.2 两组组织切片质量情况

参考《临床技术操作规范病理学分册》的评分标准<sup>[4]</sup>，经过2名医师与1名技师对切片质量进行评价：以组织切片完整，厚薄均匀（3-5毫米），切片无空洞/断裂/切痕、着色清晰且均匀、核质分明、透明性度高，组织无褶皱，玻片整洁无污染者等多方面为判定依据，将切片质量计为甲级片（ $\geq 90$ 分）、乙级片（75-89分）、丙级片（60-74分），未达上述标准者切片计为不合格（丁级片 $\leq 59$ 分）。同时，统计两组切片组织处理时间，对比两组耗时差异。

#### 5 统计学方法

采用SPSS 20.0统计学软件分析所有数据，以均数 $\pm$ 标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示计量资料，采用t检验；以（%，n）表示计数资料，采用 $\chi^2$ 检验， $P < 0.05$ 认为差异显著，有统计学意义。

#### 6 结果

##### 6.1 两组组织处理质量的比较

常规组组织处理质量合格共71例，合格率100%；实验组组织处理质量合格共71例，合格率100%，两组蜡块均未出现组织明显收缩、变脆/变软、蜡块表面出现凹陷、出现组织发白组织、蜡块出现裂隙、破碎或崩脱等现象。

##### 6.2 两组组织切片质量比较

实验组组织切片质量甲级率（97.18%，69/71），高于常规组组织切片甲级率（94.36%，67/71），（ $P > 0.05$ ），见表1。

表1 两组组织切片质量比较（%，n）

分组	n	甲级片	乙级片	丙级片	丁级片	甲级率（%）
常规组	71	(67/71)	(4/71)	(0/71)	(0/71)	94.36% (67/71)
实验组	71	(69/71)	(2/71)	(0/71)	(0/71)	97.18% (69/71)
$X^2$	—			/	/	0.696
P	—			/	/	0.404

##### 6.3 组织处理时间的比较

两组组织均使用各自预设程序进行处理，实验组组织处理时间（120分钟）显著少于常规组（820分钟）。

#### 3 讨论

病理诊断是临床诊疗的重要参考依据，可确定送检细胞和组织的生理病理变化，可作为多种疾病诊断的金标准。明确的病理诊断结果，可为临床诊断、治疗等过程指明方向，临床意义重大，需保证其组织切片、制片效果，提升切片标本合格率，以保证显微镜下观察效果，准确病变组织学改变情况，明确病变的性质，为患者后续检查、治疗、预后评估提供可靠的参考资料。组织的处理（包括固定、乙醇脱水、二甲苯透明、浸蜡）是组织学制片的常用技术，在整个制片过程中起着至关重要的关键作用，但是常规的组织脱水技术步骤繁多、用时冗长，动辄需要12-14小时，严重影响切片制作的效率，进而压缩了病理医师的诊断时间，需积极改进脱水的方案。为此，国内外相关领域积极探索，利用微波技术研发出了快速微波组织处理系统并正式投产应用到了实际工作当中。快速微波组织处理系统利用微波的高频率特性释放出热能，从而组织内部分子产生剧烈的高速运动，使试剂与组织内部的液体进行迅速的分子交换，极大地加快了组织固定、脱水、透明的速度。而且还能够较完整地保存组织的形态结构和抗原活性，为之后要开展的免疫组化等检测项目提供了良好的前期基础。有相关文献报道显示：快速微波组织处理系统可高效缩短处理时间，对免疫组化染色结果无明显影响，可用于免疫组化鉴别鉴别诊断<sup>[5]</sup>。

病理诊断作为组织学、胚胎学、病理学、法医学、细胞学领域评估组织/细胞性质、分级的重要方法，但是多数细胞、组织的结构无法在自然状态下进行观察与分析，内部结构的显示效果较差，因而需进行固定、脱水、透明、浸蜡等组织处理，是常规病理技术制片中的先决条件。人体不同脏器间的标本处理程序不尽相同，须根据其组织的结构特点以及器材的大小采取不同的组织处理方法，而胃镜活检组织普遍较小，若与结构致密的组织一同进行组织处理，容易在固定、脱水、透明、浸蜡等步骤出现操作不当，造成组织收缩过度、蜡块过硬、过脆的现象<sup>[6]</sup>，影响切片质量，对病理诊断造成困扰，所以在条件允许的情况下，建议将如胃镜活检组织等小标本分开进行处理，快速微

（下转第238页）

认为原有肝病的发作或加重,或其他原因引起的肝损伤。药物性肝损伤患者中既往有肝病史者超过6%<sup>[14]</sup>;同时既往有肝病史的患者约1%也可出现药物性肝损伤<sup>[15]</sup>。

有研究认为发生在已有肝病基础上的药物性肝损伤发病率和严重程度可能被低估。因此,基于上述几点,对于失代偿丙肝肝硬化患者应由有HCV治疗经验中心进行治疗,抗HCV治疗期间也需进行严密的监测,如果发生严重肝功能失代偿应终止治疗。治疗后也要继续随访及评估。

故对慢性丙肝失代偿期肝硬化使用SOF/VEL的患者,需密切做好患者的相关监测工作,及时做相应处理。

#### 参考文献

- [1] 丙型肝炎防治指南(2019年版)[J]. 中华肝脏病杂志, 2019,12(12):962-963.
- [2] 李剑萍,关玉娟,洪文昕,等.聚乙二醇干扰素联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎患者疗效及其影响因素分析[J]. 实用肝脏病杂志, 2014,17(02):149-153.
- [3] Huang Y, Li M H, Hou M, et al. Peginterferon alfa-2a for the treatment of chronic hepatitis C in the era of direct-acting antivirals[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2017,16(5):470-479.
- [4] Takehara T, Takehara T, Sakamoto N, et al. Efficacy and safety of sofosbuvir-velpatasvir with or without ribavirin in HCV-infected Japanese patients with decompensated cirrhosis: an open-label phase 3 trial[J]. Journal of gastroenterology, 2019,54(1):87-95.
- [5] Sofosbuvir/Velpatasvir (Epclusa) for Hepatitis C[J]. JAMA, 2017,317(6):639.
- [6] Link J O, Taylor J G, Trejo-Martin A, et al. Discovery of velpatasvir (GS-5816): A potent pan-genotypic HCV NS5A inhibitor in the single-tablet regimens Vosevi® and Epclusa®[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2019,29(16):2415-2427.
- [7] Feld J J, Jacobson I M, Hézode C, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 1, 2, 4, 5, and 6 Infection[J]. New England Journal of Medicine, 2015,373(27):2599-2607.
- [8] Foster G R, Afdhal N, Roberts S K, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 2 and 3 Infection[J]. N Engl J Med, 2015,373(27):2608-2617.
- [9] Chua J V, Kottitil S. Sofosbuvir and velpatasvir: a stellar option for patients with decompensated hepatitis C virus (HCV) cirrhosis[J]. Annals of translational medicine, 2016,4(Suppl 1):S8.
- [10] 于乐成,茅益民,陈成伟. 药物性肝损伤诊治指南 [J]. 实用肝脏病杂志, 2017,20(02):257-274.
- [11] Stine J G, Lewis J H. Drug-induced liver injury: a summary of recent advances[J]. Expert opinion on drug metabolism & toxicology, 2011,7(7):875-890.
- [12] Chalasani N P, Hayashi P H, Bonkovsky H L, et al. ACG Clinical Guideline: the diagnosis and management of idiosyncratic drug-induced liver injury[J]. Am J Gastroenterol, 2014,109(7):950-966, 967.
- [13] Fontana R J, Hayashi P H, Gu J, et al. Idiosyncratic drug-induced liver injury is associated with substantial morbidity and mortality within 6 months from onset[J]. Gastroenterology, 2014,147(1):96-108.
- [14] Vuppalanchi R, Liangpunsakul S, Chalasani N. Etiology of New-Onset Jaundice: How Often Is It Caused by Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury in The United States[J]. The American journal of gastroenterology, 2007,102(3):558-562.

(上接第240页)

波组织处理系统对取材要求较高,取材大小要求<1cmX1cmX0.2cm,厚度不得超过0.2cm,以便可以更好地在短时间内达到对组织的穿透作用<sup>[7]</sup>。送检胃镜活检组织大多体积微小,基本可以满足取材要求。

本次研究发现,使用快速微波组织处理系统的实验组进行组织处理的时间(120分钟)显著少于使用常规全封闭脱水机处理的常规组(820分钟),可知使用快速微波组织处理系统可有效提升组织处理的效率,缩短制片时间,但是需进一步探明其制片效果。为此,本次研究对两组蜡块制片情况进行了分析,结果显示,实验组与常规组组织处理质量的合格率均为100%,此外,综合分析组织切片质量显示,实验组蜡块组织切片甲级率(97.18%)略高于常规组(94.36%)( $P > 0.05$ ),可知使用快速微波组织处理系统在缩短组织处理时间的同时,有效地保证了切片合格率,有助于提升病理技师的出片效率,保证临床诊断的有效性。

综上所述,快速微波组织处理系统处理胃镜活检标本的方法,步骤简单、成本相对低廉,同时避免了同一台脱水机同时处理大小标本的不理想效果。对组织的形态没有明显影响,切片质量符合质控要求,在保证切片质量的同时,显著地提高了整个病理科的工作效率,极大满足了临床科室和病人的需要,值得各实验室广泛推广。

#### 参考文献

- [1] 向双,段松,袁怀志,沈昌琼. 超声组织处理仪在胃镜标本HE及幽门螺杆菌PCR检测中的应用[J]. 临床与实验病理学杂志, 2021,37(6):743-745.
- [2] 陈薇,郭爱桃,邓晋芳,王高飞等. 全自动微波辅助快速组织处理仪在外科病理诊断中的应用[J]. 标记免疫分析与临床, 2020,27(6):1070-1073.
- [3] 滑洋洋,龙安予,陶菁. 病理技术质量控制常见问题与方法对策分析[J]. 临床研究, 2021,29(09):143-144.
- [4] 雷璘,王媛媛,王一星,宋蜀玲等. 快速超声法和传统方法处理病理组织切片效果的比较[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019,35(8):982-985.
- [5] 陈薇,孙桂香,田侠,马亚琪,郭爱桃,宋欣. 全自动微波辅助快速组织处理对免疫组化染色的影响[J]. 诊断病理学杂志, 2021,28(6):435-437,477.
- [6] 杨宁,房彬彬,吕国栋,王慧,张传山,毕晓娟,李亮,刘辉,林仁勇. 小鼠不同器官组织脱水方法的改进[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019,35(5):602-603.
- [7] 袁潇. 取材厚度对脂肪组织石蜡切片质量的影响[J]. 中国血液流变学杂志, 2018,28(2):219-220.