

论著·临床研究

二次脱钙法在临床病理骨组织 HE 制片中的应用研究

李 彬, 党裔武, 邱健峰, 陈 罡, 李 奇, 黄志广[△]
(广西医科大学第一附属医院病理科, 广西南宁 530021)

[摘要] **目的** 探讨二次脱钙法在临床病理骨组织苏木精-伊红(HE)制片中的应用价值。**方法** 收集 2022 年 6—12 月该院病理科脱钙不充分、骨组织块或含钙化组织的蜡块 100 块, 制成病理切片, 根据脱钙方法的不同将病理切片分为对照组和研究组, 对照组采用常规脱钙法, 研究组采用二次脱钙法, 分析 2 种方法制片效果的差异。**结果** 研究组病理切片 HE 制片结构完整性、HE 染色满意度、切片优良率均明显高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 二次脱钙法在临床病理骨组织 HE 制片中具有较高的应用价值。

[关键词] 二次脱钙; 临床病理; 骨组织; HE 制片; HE 染色

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2024.03.011

中图法分类号: R361+.2; R681

文章编号: 1009-5519(2024)03-0409-04

文献标识码: A

Research on the application of secondary decalcification in the HE
pathological section of the osseous tissue in clinical pathology

LI Bin, DANG Yiwu, QIU Jianfeng, CHEN Gang, LI Qi, HUANG Zhiguang[△]
(Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical
University, Nanning, Guangxi 530021, China)

[Abstract] **Objective** To explore the application value of secondary decalcification in the hematoxylin-eosin(HE) pathological section of the osseous tissue in clinical pathology. **Methods** A total of 100 pieces of wax blocks with insufficient decalcification, bone tissue or calcified tissue were collected in this hospital from June 2022 to December 2022. The wax blocks were made into pathological section and divided into the control group and the experimental group according to the different decalcification methods. The control group used the conventional decalcification method, and the experimental group used secondary decalcification method. Finally, the quality of the two groups of pathological section was compared. **Results** The structural integrity of the HE pathological section, HE staining satisfaction, and excellent rate of pathological section in the experimental group were all higher than those of the control group. The differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The secondary decalcification method has a high application value in HE pathological section of clinical pathological bone tissue.

[Key words] Secondary decalcification; Clinical pathology; Osseous tissue; Hematoxylin-eosin pathological section; Hematoxylin-eosin staining

被誉为“金标准”的病理诊断已在众多疾病和科研中得到广泛应用, 苏木精-伊红(HE)切片的质量会对疾病诊断产生较大的影响^[1]。而在临床病理切片技术中, 骨组织、钙化组织等因其含有丰富的钙盐沉积, 质地十分坚硬, 必须使用强酸进行脱钙处理才能制片^[2]。因此, 一种良好的脱钙技术在临床病理 HE 制片中十分重要。

脱钙是制作骨组织 HE 切片及骨病理诊断中最关键的环节^[3]。目前, 使用较多的脱钙液为复合类型

的脱钙液, 是将强酸与中性福尔马林固定液按比例配制而成, 可将骨组织中较难溶于水的磷酸钙和碳酸钙转变为溶于水的磷酸盐和钙盐^[4]。目前, 国内实验室常采用常规脱钙法处理骨组织, 即将骨组织放入脱钙液中进行脱钙, 脱钙时间的长短取决于骨组织的类型和脱钙液的种类。常规脱钙法如脱钙时间过短会出现脱钙不足、钙化灶、砂砾体等情况, 如再直接进行切片处理会出现组织结构不全、HE 染色不均匀、切片合格率低等情况^[5]。而脱钙时间过长会破坏组织细

胞,影响 HE 制片及病理诊断^[6]。此外骨组织在强酸溶液中脱钙时间过长组织内的抗原物质易受到破坏,导致抗原的免疫活性低下,在免疫组织化学染色中抗原无法表达,常导致误诊^[7]。

近年来,作者常采用二次脱钙方法制作骨组织 HE 切片,即骨组织常规脱钙与蜡块表面脱钙相结合的方法。其中常规脱钙法时间较短,一般钙化组织在甲酸-甲醛脱钙液中脱钙 7~8 h 即可,而坚硬的骨组织则选择过夜脱钙。在常规脱钙结束后进行脱水、透明、浸蜡、包埋,制作成的蜡块粗修后在蜡块表面敷 20% 盐酸液,敷 1 min 左右即可将蜡块表面的钙质去除。本研究选取本院收集的脱钙不充分、骨组织块或含钙化组织的蜡块 100 块,对二次脱钙法在临床病理骨组织 HE 制片中的应用价值进行了探讨,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

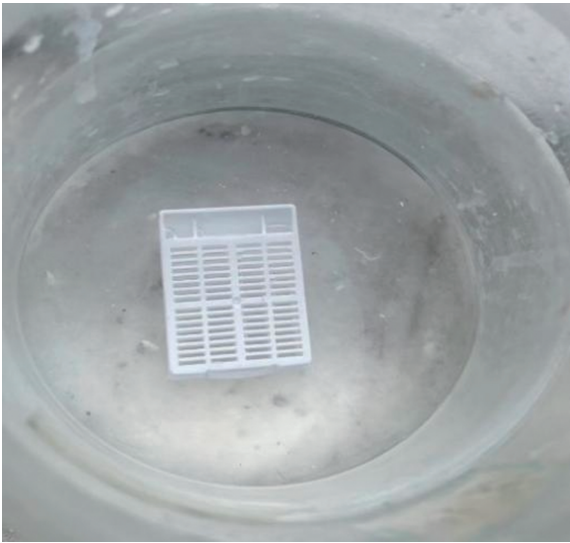
1.1.1 材料 收集 2022 年 6—12 月本院病理科脱钙不充分、骨组织块或含钙化组织的蜡块 100 块。

1.1.2 试剂 20% 盐酸、脱钙液(20% 甲酸 20 mL、10% 中性福尔马林 80 mL)等。

1.1.3 仪器及设备 LEICA ASP300S 自动组织脱水机、LEICA 石蜡包埋机、LEICA RM2235 轮转式石蜡切片机、TKD-TP 摊片机、LEICA ST5020 全自动 HE 染色机、全自动封片机等。

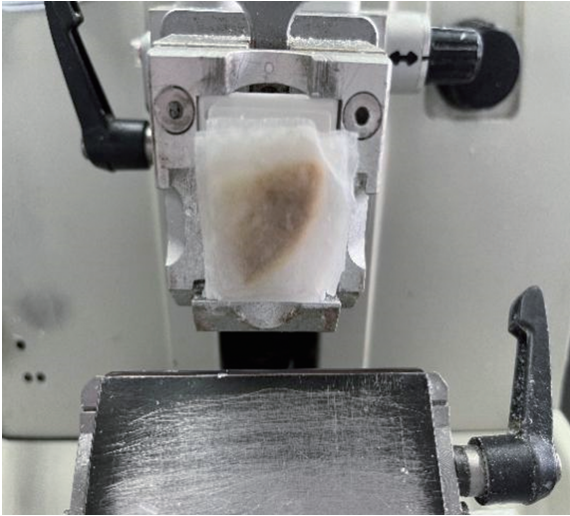
1.2 方法

1.2.1 脱钙方法 将收集的 100 个蜡块分别经常规脱钙法(对照组)和二次脱钙法(研究组)脱钙后制片,2 种方法均使用同一个蜡块进行制片,分析 2 种方法制片效果的差异。同一蜡块均在同一条件下经常规脱钙法脱钙,对照组在蜡块经冷冻之后直接进行切片^[8],研究组则在经常规脱钙法制片后用镊子夹取和蜡块大小一致的吸水纸,蘸取 20% 盐酸液后贴在蜡块的最大面上,使蜡块的最大面脱钙,脱钙 1 min。二次脱钙法只需去除蜡块表面的钙质,1 min 即可去除,因此,对组织大小和厚度无特殊要求。表面脱钙后保持刀架不移动并更换锋利的切片刀,用冷冻的包埋框贴在蜡块表面使其冷冻后进行切片。切片完成后采用 LEICA ST5020 全自动 HE 染色机进行染色。见图 1、2。



注:将取材后的组织放入复合脱钙液中脱钙。

图 1 常规脱钙法



注:组织常规脱钙制成蜡块后进行蜡块表面脱钙。

图 2 二次脱钙法

1.2.2 观察指标

1.2.2.1 切片组织结构完整性 切片外观组织完整、无掉片、卷片等,以及镜下观察组织完整、无掉片缺损判定为优;否则判定为差^[8]。

1.2.2.2 HE 染色效果 镜下观察细胞形态完好、核质染色分明、核仁清晰、细胞质染色鲜艳判定为满意,否则判定为不满意^[8]。

1.2.2.3 切片优良率 切片厚薄均匀、没有污染计 2 分,切片完整、透明度好、无皱褶、无刀痕及裂缝、封片整洁无溢胶及气泡、核质染色分明,切片无松散及贴片位置适当、切片整洁分别计 1 分。8 分以上为优,6~<8 分为良好,<6 分为差。优良率=(优+良)/总 HE 片数×100%^[8]。

1.3 统计学处理 应用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析,计数资料以率或构成比表示,采用 χ^2 检验。

$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组切片组织结构完整性比较 研究组切片中有 81 张切片外观组织结构完整,无卷片及缺损,显微镜观察组织结构完整,无卷片及缺损,切片质量优,切片组织结构完整率为 81.00%。对照组切片中只有 25 张切片组织结构完整,其余组织切片在外观和显微镜观察均有不同程度的卷片及缺损,切片组织结构完整率为 25.00%。研究组切片组织结构完整率明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 2 组切片组织结构完整性比较[n(%)]

组别	n	完整	不完整
对照组	100	25(25.00)	75(75.00)
研究组	100	81(81.00) ^a	19(19.00)

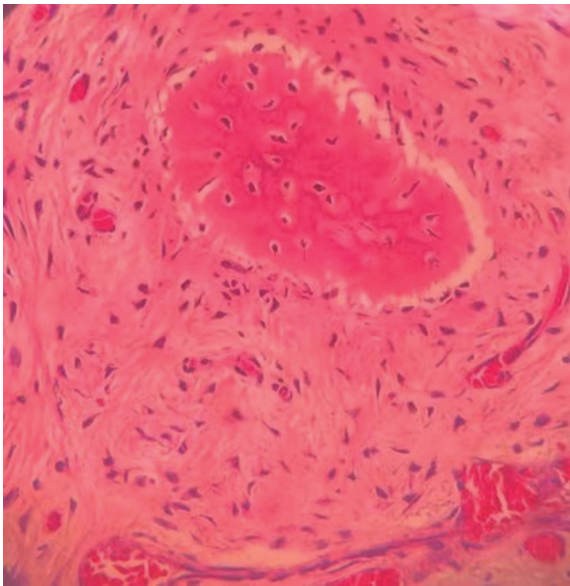
注:与对照组比较,^a $P<0.05$ 。

2.2 2 组切片 HE 染色效果比较 研究组切片中符合 HE 染色满意切片 85 张,HE 染色满意度为 85.0%。对照组切片中符合 HE 染色满意切片 57 张,HE 染色满意度为 57.0%。研究组切片 HE 染色满意度明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2,图 3、4。

表 2 2 组切片 HE 染色效果比较[n(%)]

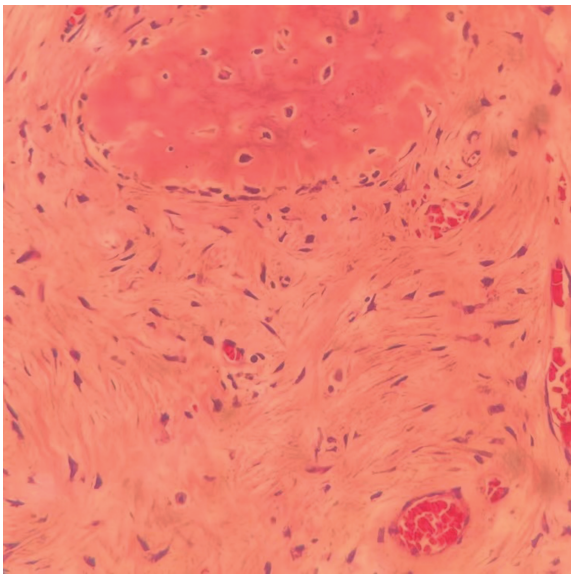
组别	n	满意	不满意
对照组	100	57(57.0)	43(43.0)
研究组	100	85(85.0) ^a	15(15.0)

注:与对照组比较,^a $P<0.05$ 。



注:核质对比分明,染色鲜艳。

图 3 二次脱钙法(HE 染色,40×)



注:核质对比不够鲜明,染色较淡。

图 4 常规脱钙法(HE 染色,40×)

2.3 2 组切片优良率比较 研究组切片中评价为优的切片 62 张,评价为良的切片 27 张,切片优良率为 89.0%。对照组切片中评价为优的切片 16 张,评价为良的切片 33 张,切片优良率为 49.0%。研究组切片优良率明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 2 组切片优良率比较[n(%)]

组别	n	优	良	差	优良
对照组	100	16(16.0)	33(33.0)	51(50.0)	49(49.0)
研究组	100	62(62.0)	27(27.0)	11(11.0)	89(89.0) ^a

注:与对照组比较,^a $P<0.05$ 。

3 讨 论

近年来,骨组织疾病发病率一直处于上升阶段,因此,学者加强了对骨组织疾病的相关研究^[9]。在常规骨组织 HE 制片过程中一种良好的脱钙方法不仅能保证组织结构和组织抗原不被破坏,还能保证良好的 HE 染色效果^[10]。

本研究中对照组切片采用常规脱钙法,其组织结构完整率为 25.0%,HE 染色满意度为 57.0%,切片优良率为 49.0%。研究组切片采用二次脱钙法,其组织结构完整率为 81.0%,HE 染色满意度为 85.0%,切片优良率为 89.0%。二次脱钙法 HE 制片后组织结构完整性、HE 染色满意度、切片优良率均高于常规脱钙法,差异均有统计学意义($P<0.05$)。表明二次脱钙法在骨组织制片中较常规脱钙法具有更高的应用价值及意义。

在本研究中,常规脱钙法采用甲酸-甲醛复合型脱钙液,相比目前多数实验室使用的盐酸、硝酸等强酸,

骨组织经甲酸-甲醛复合型脱钙液脱钙后,组织损失较小,结构较完整,HE 染色对比度较高,染色鲜艳较且均匀,但缺点是完全脱钙所需时间较长^[11]。一般钙化组织在甲酸-甲醛复合型脱钙液中脱钙 7~8 h 即可,而坚硬的骨组织则选择过夜脱钙。常规脱钙结束后脱钙时间过短不可避免地会出现脱钙不足、钙化灶和砂砾体的情况^[5]。因此,在常规脱钙结束后再次对制成的蜡块采用表面脱钙法,在粗修后的蜡块表面敷 20% 盐酸液,敷 1 min 左右即可将蜡块表面的钙质处理干净。因表面脱钙法脱钙时间短,所以,要使用比甲酸脱钙能力更强的盐酸液^[11]。

与国内大多数脱钙方法比较,二次脱钙法能保证骨组织结构的完整性,提高 HE 染色的红蓝对比度,使染色鲜艳且均匀。此外,二次脱钙法大大缩短了脱钙时间,从取材到 HE 制片完成、钙化组织只需要 2 d,坚硬的骨组织最多需要 3 d。采用此方法可制作出优质的骨组织切片,并能将其运用在多种染色方法上,对临床病理诊断工作具有十分重要的意义。

综上所述,二次脱钙法在骨组织 HE 制片中有较高的应用价值,使用二次脱钙法制片能保证切片组织结构完整性、提高骨组织切片优良率和 HE 染色满意度。此外,二次脱钙法可大大缩短组织脱钙时间,且操作方法简单、快捷,值得推广应用。

参考文献

[1] 邢延青. 病理技术 HE 染色在病理诊断中的应用效果观察[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19 (42): 191-193.

[2] 朱灵华, 刘庆宏. 三种脱钙液对骨组织表面脱钙

效果的比较[J]. 临床与实验病理学杂志, 2023, 39(1): 117-118.

[3] 陈余朋, 王行富, 张真真, 等. 表面脱钙法在骨髓组织病理诊断中的应用[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(11): 1366-1368.

[4] 祁宏枝, 罗添友, 唐涛. 不同成分脱钙液对骨组织脱钙效果的比较[J]. 成都医学院学报, 2020, 15 (3): 349-352.

[5] 程宇. 探讨蜡块脱钙法在常规病理技术制片中的应用[J]. 智慧健康, 2019, 5(28): 12-13.

[6] 姚馨悦, 吉佳乐, 叶双慧, 等. 不同条件下四种脱钙液脱钙效果的对比分析[J]. 临床与实验病理学杂志, 2022, 38(8): 1010-1012.

[7] 张旭乾, 蒋君燕. 不同脱钙方法的骨组织对免疫组化染色结果的影响[J]. 人人健康, 2020(12): 43-46.

[8] 林秋月, 黄汉兴, 吴海燕. 蜡块脱钙法在常规病理技术制片中对组织染色效果及切片优良率的价值[J]. 中国医药指南, 2022, 20(35): 85-88.

[9] 吕飞飞, 张强. 改良快速骨组织脱钙法在骨肿瘤临床病理诊断中的价值[J]. 饮食科学, 2019, 20 (12): 10-15.

[10] 沈吟芳, 王谦, 郭凌川. 石蜡包埋中骨髓标准化脱钙的应用[J]. 临床与实验病理学杂志, 2021, 37(7): 867-868.

[11] 方捷迪, 王晓星, 李争艳, 等. 骨组织脱钙方法探讨[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(5): 670-672.

(收稿日期: 2023-06-01 修回日期: 2023-08-20)

(上接第 408 页)

[15] 张国英, 夏学红. 4 605 例临床微生物送检标本不合格原因分析[J]. 重庆医学, 2013, 42(9): 1061-1062.

[16] 史庆丰, 胡必杰, 崔扬文, 等. 2016—2019 年上海市 101 所医院发热病例血培养标本送检调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(16): 2401-2405.

[17] CURTIS C E, ALBAHAR F, MARRIOTT J F. The effectiveness of computerised decision support on antibiotic use in hospitals: A sys-

tematic review[J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0183062.

[18] 张洁, 徐笑, 乔甫, 等. 783 家医院抗菌药物治疗前病原学送检相关微生物室仪器设备及信息系统功能现状调查[J]. 华西医学, 2023, 38(3): 380-386.

[19] 刘善善, 李家树, 史家欣, 等. 综合干预对病原微生物标本送检的临床效果评价[J]. 中国感染控制杂志, 2018, 17(2): 160-164.

(收稿日期: 2023-07-10 修回日期: 2023-08-19)