

## 探讨 HE 染色中切片脱蜡不足对临床病理诊断的影响

宋美仪

中山大学附属第一医院 广东广州

**【摘要】目的** 分析探讨常规石蜡制片中 HE 染色脱蜡不足对临床病理诊断的影响。**方法** 随机选取我科 2 例石蜡组织标本, 各切 2 张白片, 每例各取 1 张白片分别作为对照组和实验组, 对照组的切片充分脱蜡后按常规手工 HE 染色流程制片, 实验组的切片快速置于二甲苯后立马取出, 并与对照组一同进入后续的染色流程, 制片完成后在镜下观察两组切片染色效果并分析。**结果** 对照组切片染色均匀, 组织和细胞结构清楚, 有助于病理诊断, 实验组切片染色不均匀, 部分组织和细胞模糊不清或者无法显色, 严重影响病理诊断。**结论** 脱蜡作为 HE 染色法的第一个步骤, 是染好一张石蜡切片的前提, 脱蜡是否彻底决定了染色效果, 若切片脱蜡不干净, 染料和试剂都难以进入组织细胞, 导致染色效果差不利于临床病理诊断, 容易造成误诊或漏诊。

**【关键词】** HE 染色; 脱蜡; 病理诊断

**【收稿日期】** 2023 年 2 月 25 日 **【出刊日期】** 2023 年 4 月 8 日 **【DOI】** 10.12208/j.ijcr.20230157

### To explore the influence of insufficient paraffin removal in HE staining on clinical and pathological diagnosis

Meiyi Song

The First Affiliated Hospital of Sun Yat sen University, Guangzhou, Guangdong

**【Abstract】 Objective** To analyze and explore the impact of insufficient HE staining and dewaxing on clinical and pathological diagnosis in routine paraffin sections. **Methods:** Randomly select 2 paraffin tissue samples from our department, and cut 2 white slices each. Take 1 white slice from each case as the control group and the experimental group, respectively. The slices of the control group were fully dewaxed and then prepared according to the conventional manual HE staining process. The slices of the experimental group were quickly placed in xylene and immediately removed, and entered the subsequent staining process together with the control group. After the preparation was completed, the staining effects of the two groups of slices were observed under the microscope and analyzed. **Results:** In the control group, sections were evenly stained with clear tissue and cell structures, which was helpful for pathological diagnosis. In the experimental group, sections were unevenly stained, and some tissues and cells were blurred or unable to show color, which seriously affected pathological diagnosis. **Conclusion:** As the first step of HE staining, dewaxing is the prerequisite for dyeing a paraffin section. Whether the paraffin section is thoroughly dewaxed determines the dyeing effect. If the section is not dewaxed cleanly, it is difficult for dyes and reagents to enter the tissue cells, resulting in poor dyeing effect, which is detrimental to clinical and pathological diagnosis, and is prone to misdiagnosis or missed diagnosis.

**【Keywords】** HE staining; Dewaxing; pathologic diagnosis

苏木精 (hematoxylin) —伊红 (eosin) 染色法, 简称 HE 染色法, 是石蜡切片技术里最常用的一种染色方法, 现已广泛应用在临床病理诊断和实验研究中, 临床病理诊断是现目前医学诊断领域中最重要诊断方式, 同时也是临床鉴别良恶性肿瘤等疾病的诊断金标准, 具有权威、客观、准确等特点, 因此 HE 制片

的质量非常重要。一张高质量的 HE 切片是保证病理诊断准确性的决定性因素之一<sup>[1]</sup>, 其中 HE 染色效果的优劣尤为关键。临床病理诊断是通过研究疾病发生的原因以及病理机制等方面, 再利用显微镜对病灶的形态结构、功能代谢以及疾病转变等方面进行观察的过程, 在临床中作为对疾病诊治、预防等方面提供主要

的判断依据,但病理组织的切片质量和染色效果,都会因为操作人员的专业水平而受到影响,导致患者的病理诊断的难度提高,最后影响到病理诊断的准确结果<sup>[2-3]</sup>。鉴于此,本文就 HE 染色中石蜡切片脱蜡不足对临床病理诊断的影响做一探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

随机选取我院 2023 年 3 月临床送检的手术标本 2 例,其中 1 例为诊断明确的肝细胞癌组织标本,另 1 例为正常的淋巴结组织标本。标本均已经过 10%中性福尔马林固定及常规脱水、透明、浸蜡和包埋。该实验所用切片样本为临床病理诊断后剩余的石蜡组织标本。

### 1.2 主要试剂

二甲苯,无水乙醇,95%乙醇,80%乙醇,改良 Lillie 苏木精染液,1%盐酸乙醇,Scott 促蓝液,0.5%伊红水溶液,中性树脂。其中 80%乙醇、改良 Lillie 苏木精染液、Scott 促蓝液和 0.5%伊红水溶液均由科室自配。

### 1.3 方法

按常规石蜡切片标准,2 例石蜡组织标本各连续切片 2 张,切片厚度 3 $\mu$ m,其中肝细胞癌组织切片标记为 1A、1B,淋巴结组织切片标记为 2A、2B,用烤台充分烤片后在每例标本中各取 1 张切片分别作为对照组(1A/2A)和实验组(1B/2B)。先将对照组切片置于二甲苯(I)中脱蜡 5 分钟,然后在二甲苯(II)继续脱蜡 5 分钟,实验组切片快速置于二甲苯(I)后立马取出,并与对照组一同进入脱二甲苯步骤,即按照乙醇浓度由高到低的顺序,无水乙醇-95%乙醇-80%乙醇依次脱去二甲苯,流水冲洗 1~2 分钟后将两组切片置于改良 Lillie 苏木精染液中浸染 8 分钟,流水洗去余液,用浓度为 1%的盐酸乙醇溶液分化 2 秒,然后用流水冲洗 2 分钟,再放入 Scott 促蓝液中返蓝 3 秒,流水冲洗 5 分钟,置于 0.5%伊红水溶液染色,染色时间 30 秒,流水稍洗去余液,再按照 80%乙醇-95%乙醇-无水乙醇由低到高浓度梯度顺序脱水,时间均 1~2 秒,最后再过两缸无水乙醇,每缸时间 5~10 秒,常规二甲苯透明,中性树脂封片。

## 2 结果

对照组切片染色均匀而鲜艳,透明度好,组织和细胞结构清楚,细胞核与细胞质染色红蓝分明,对比清晰,肝细胞癌切片的 HE 染色可见癌细胞大小不一,形态各异,细胞核深染,部分可见核仁,可诊断为肝

细胞癌梁索型 II 级(图 1A),淋巴结切片的 HE 染色可见生发中心,淋巴结结构完整,正常髓质结构清晰,未见淋巴滤泡增生和癌细胞浸润(图 2A)。实验组中肝细胞癌切片和淋巴结切片的 HE 染色均出现不同程度的着色不均匀区域,镜下可见部分组织和细胞染色尚可,部分模糊不清甚至无法显色(图 1B、2B),实验组切片镜下无法对肝癌分型和分级,淋巴结组织无法观察完整结构和有无癌细胞浸润。

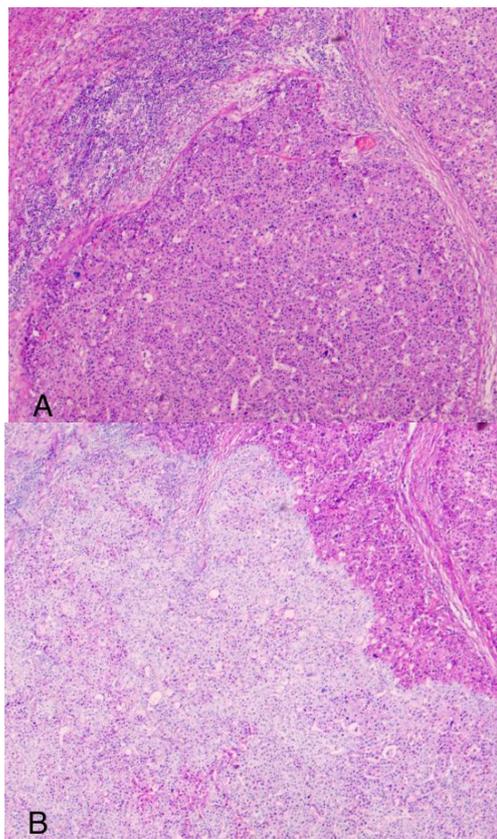


图 1 肝细胞癌 HE 染色效果对比 A, 对照组(常规脱蜡) 40X; B, 实验组(脱蜡不足) 40X

## 3 讨论

常规 HE 染色是病理学制片技术最基本的方法,HE 制片是临床病理诊断的基本手段和重要依据,临床病理诊断是现目前医学诊断领域中最重要、最重要的诊断方式,为临床上多种疾病诊断中的“金标准”,病理制片的质量直接影响着临床病理诊断的准确性<sup>[4-6]</sup>。HE 染色是病理制片过程中十分重要的环节,脱蜡作为 HE 染色法的第一个步骤,是染好一张石蜡切片的前提,脱蜡是否彻底决定了染色效果,HE 制片质量的好坏很大程度上直接关系到病理医师诊断<sup>[7-8]</sup>。就目前而言,HE 染色是临床病理诊断中使用最为广泛的一种制片技术,主要是通过利用苏木精染液和伊红染液的酸碱特性分别将嗜碱性的细胞核染成蓝色,将嗜酸性的细胞质、

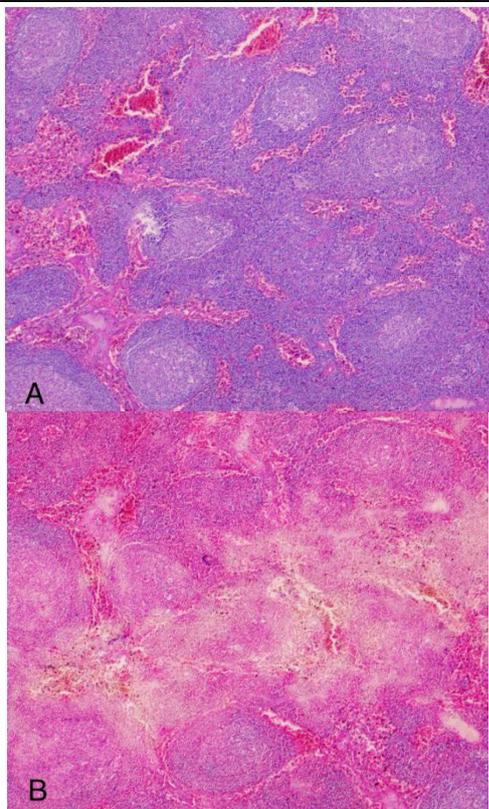


图2 淋巴组织 HE 染色效果对比 A, 对照组(常规脱蜡) 40X; B, 实验组(脱蜡不足) 40X

肌纤维、胶原纤维和红细胞等染成深浅不同的红色，染色后的切片在显微镜下观察时，达到核质清楚、染色鲜艳、红蓝对比清晰，才算是优质的 HE 制片，助于在临床病理诊断过程中清晰展示病理组织的细胞形态和结构，便于观察判断病变位置及程度，帮助诊断医生们提高对诊断患者的临床诊断率。HE 染色是一种多步骤、多因素作用的染色方法，无论是全自动染色机处理还是手工操作，均存在许多影响因素，比如染色时的温度、染色时间、试剂和染料是否新鲜等。古语有云：千里之行，始于足下，在 HE 染色过程中苏木精染细胞核与伊红染细胞质这两个染色步骤固然重要，但石蜡切片染色前必须先经过二甲苯溶解脱蜡后染料和试剂才能进入组织细胞中，从而达到染色目的，切片脱蜡干净是后续染色步骤的前提条件，若切片脱蜡不彻底，染料和试剂都难以进入组织和细胞，导致切片染色不均匀，部分组织和细胞模糊不清或者完全无法显色，呈深浅不一一条带状或地图状，这样的染色效果在显微镜下难以辨别组织和细胞的结构，更无法观察其细微的形态改变，容易造成误诊或漏诊，大大降低了临床病理诊断的准确性，优质的 HE 染色切片是病理医师作出正确病理诊断的关键。本次实验中，

对照组脱蜡彻底的切片染色鲜艳，透明度好，组织和细胞结构清楚，细胞核与细胞质染色红蓝分明，对比清晰，肝细胞癌切片 HE 染色可见癌细胞大小不一，形态各异，细胞核深染(图 1A)，诊断明确，淋巴组织切片 HE 染色生发中心清晰可见，淋巴结结构完整，无淋巴滤泡增生，淋巴结未见癌(图 2A)。实验组脱蜡时间过短，切片仍有部分石蜡残留附着在组织上，所以肝细胞癌切片和淋巴组织切片的 HE 染色均出现不同程度的着色不均匀区域，镜下可见部分组织和细胞模糊不清或无法显色(图 1B、2B)，难以诊断和分型。

综上所述，常规石蜡制片中 HE 染色脱蜡不足直接导致染料无法对组织细胞染色，影响染色效果，增加了病理医师病理诊断读片难度，因此 HE 染色脱蜡尤为重要，染色前应保证二甲苯新鲜，并根据使用频率定期更换，冬季室温低时，二甲苯脱蜡力度降低，脱蜡时间也要相应延长，以保证充分脱蜡。

#### 参考文献

- [1] 李金龙, 陈婷婷, 王高飞, 等. 基于常规 HE 染色的组织最佳核染时间探索[J]. 临床与实验病理杂志, 2018, 34(6): 697-699.
- [2] 刘微. HE 染色在临床病理诊断中的应用价值研究[J]. 中国实用医药, 2022, 17(19): 106-108.
- [3] 段瑞敏. 分析临床病理诊断中 HE 染色方法的应用[J]. 世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊), 2020, 20(92): 110-111.
- [4] 梁英杰, 凌启波, 张威. 临床病理学技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 68.
- [5] 中华医学会. 临床技术操作规范. 病理分册[J]. 北京: 人民军医出版社, 2004: 11.
- [6] 郭羽, 梁攀, 李昌虎, 等. 白族药千斤坠粗提物急性毒性初步研究[J]. 2021, (6).
- [7] 曾志刚. 前列腺鳞癌 PDX 模型构建及化疗药物干预初步研究[D]. 2020.
- [8] 王玲玲. 东北红豆杉中紫杉醇的提取与多孔淀粉基口服递送系统研究[D]. 2020.

**版权声明:** ©2023 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS