

## BÀI BÁO NGHIÊN CỨU GÓC

# Đánh giá chất lượng nhuộm màu và một số yếu tố ảnh hưởng đến quy trình kỹ thuật nhuộm Hematoxylin Eosin (H.E) tại Trung tâm xét nghiệm, Trường Đại học Y tế công cộng

Lê Thị Linh<sup>1</sup>, Hoàng Thị Quỳnh Anh<sup>1</sup>, Đặng Trà My<sup>1</sup>, Lê Thị Thu Hào<sup>1</sup>, Nguyễn Mạnh Cường<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Bích Thùy<sup>1</sup>, Phùng Thị Thu Phương<sup>1</sup>, Lê Văn Thu<sup>1</sup>, Dương Hồng Quân<sup>\*</sup>

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Đánh giá chất lượng nhuộm màu của một số loại mô bằng kỹ thuật nhuộm Hematoxylin Eosin (H.E) theo quy trình đang được thực hiện và xác định một số yếu tố ảnh hưởng tại Trung tâm xét nghiệm, Trường Đại học Y tế công cộng.

**Phương pháp nghiên cứu:** Thiết kế nghiên cứu thực nghiệm trên 500 tiêu bản nhuộm H.E cắt từ 50 khối nền bệnh phẩm với tám loại mô gồm da, dạ dày, thận, gan, lách, tụy, tuyến ức, và tử tại Trung tâm xét nghiệm, Trường Đại học Y tế công cộng.

**Kết quả:** Kỹ thuật nhuộm H.E theo quy trình thực hiện tại Trung tâm xét nghiệm, Trường Đại học Y tế công cộng kết quả cho 92% mẫu đạt yêu cầu. Bên cạnh đó, các yếu tố ảnh hưởng như thời gian nhuộm, loại mô và kỹ thuật thực hiện có mối liên hệ chặt chẽ với kết quả nhuộm H.E ( $P < 0.05$ ).

**Kết luận:** Thời gian nhuộm Hematoxylin 5 phút và Eosin 3 phút cho kết quả tối ưu. Chất lượng nhuộm H.E chịu ảnh hưởng đáng kể bởi các yếu tố như thời gian, loại mô và kỹ thuật thực hiện. Do đó, việc tuân thủ chặt chẽ quy trình nhuộm, tối ưu hóa các thông số kỹ thuật và đảm bảo kiểm soát chất lượng là cần thiết. Cần nâng cao năng lực chuyên môn cho kỹ thuật viên đóng vai trò quan trọng trong việc cải thiện độ chính xác và tính đồng nhất của kết quả nhuộm.

**Từ khóa:** Mô bệnh học, Hematoxylin Eosin (H.E), Yếu tố ảnh hưởng, Trung tâm xét nghiệm.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Giải phẫu bệnh học là môn khoa học về các tổn thương, hình thái học, và có đối chiếu với lâm sàng để tìm hiểu cơ chế bệnh sinh, góp phần nâng cao chất lượng chẩn đoán, điều trị, tiên lượng và góp phần đề ra phương pháp phòng bệnh (1). Trong khoảng ba thập niên trở lại đây, với sự phát triển nhanh của khoa học công nghệ trong lĩnh vực thăm dò chẩn đoán như nội soi, siêu âm, chụp cắt lớp vi tính, chụp cộng hưởng từ, nuôi cấy tế bào, bảo quản và ghép mô... nhưng mô bệnh học vẫn có giá trị quan trọng trong chẩn đoán,

tiên lượng (2). Trong các phương pháp giúp chẩn đoán xác định thì xét nghiệm mô bệnh học luôn được đề xuất. Xét nghiệm mô bệnh học thường được tiến hành theo một chuỗi kỹ thuật liên hoàn nhiều bước gồm i) Lấy bệnh phẩm, cắt lọc; ii) Cố định bệnh phẩm; iii) Chuyển bệnh phẩm; iv) Vùi bệnh phẩm; v) Cắt và dán mảnh; vi) Nhuộm; vii) Đọc kết quả (1). Mỗi bước đều có những yêu cầu riêng và liên quan rất mật thiết với nhau, ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả chẩn đoán mô bệnh học. Trong các bước kể trên thì bước lấy bệnh phẩm, cắt lọc và đọc kết quả được thực hiện bởi các bác sĩ chuyên khoa, các bước còn lại đều được



Địa chỉ liên hệ: Dương Hồng Quân

Email: [dhq@huph.edu.vn](mailto:dhq@huph.edu.vn)

<sup>1</sup>Trường Đại học Y tế công cộng

Ngày nhận bài: 02/10/2024

Ngày phản biện: 22/4/2025

Ngày đăng bài: 30/6/2025

Mã DOI: <https://doi.org/10.38148/JHDS.0903SKPT24-108>

thực hiện bởi kỹ thuật viên giải phẫu bệnh (2). Phương pháp nhuộm Hematoxylin Eosin (H.E) được coi là phương pháp nhuộm tiêu chuẩn để kiểm tra đặc điểm mô học giúp nhận biết các loại mô khác nhau cũng như những thay đổi về hình thái tạo thành nền tảng cho chẩn đoán ung thư hiện đại (3). Quy trình nhuộm này không thay đổi trong hơn 150 năm (4). Với đặc tính bắt màu tương phản đặc trưng cho các cấu trúc mô học và tế bào không những giúp nhà giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học biết được đặc điểm chi tiết tế bào mà còn thấy được cấu trúc của mô do các tế bào tạo ra cũng như mối tương quan giữa mô đệm và mô chủ, đặc biệt, trong mô ung thư (5). Tuy nhiên, hiện nay chất lượng của các tiêu bản nhuộm H.E bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như chất lượng hóa chất, thời gian nhuộm, loại mô, tay nghề kỹ thuật viên,... Mặc dù đã có những cải tiến về thiết bị cho cả quá trình xử lý mô và nhuộm màu đều mang lại lợi ích nhưng những hạn chế về thuốc nhuộm được sử dụng luôn phải được xem xét (6). Trung tâm Xét nghiệm, Trường Đại học Y tế công cộng hiện là cơ sở đào tạo sinh viên chuyên ngành xét nghiệm, trong đó có nội dung thực hành kỹ thuật nhuộm H.E. Tuy nhiên, kỹ thuật nhuộm H.E tại Trung tâm mới chỉ dừng ở mức giảng dạy cơ bản, chưa triển khai theo điều kiện thực tế trong phòng xét nghiệm ở môi trường bệnh viện. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá chất lượng nhuộm H.E hiện tại, xác định các yếu tố ảnh hưởng đến quy trình kỹ thuật, và đề xuất các giải pháp tối ưu hóa quy trình nhuộm H.E tại Trung tâm xét nghiệm, Trường Đại học Y tế công cộng từ đó góp phần chuẩn hóa kỹ thuật nhuộm H.E trong công tác đào tạo, giúp sinh viên tiếp cận được kỹ năng thực hành đúng chuẩn, nâng cao chất lượng đào tạo và chuẩn bị tốt hơn cho công việc chuyên môn sau khi ra trường.

## PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**Thiết kế nghiên cứu:** Phương pháp thực nghiệm.

**Địa điểm và thời gian nghiên cứu:** Nghiên cứu được thực hiện tại Trung tâm xét nghiệm,

Trường Đại học Y tế công cộng từ tháng 11 năm 2023 đến tháng 8 năm 2024.

**Đối tượng nghiên cứu:** 500 tiêu bản nhuộm H.E tại Trung tâm xét nghiệm đáp ứng các tiêu chuẩn lựa chọn gồm bệnh phẩm đóng khối paraffin có ghi đầy đủ thông tin và có độ dày không quá 5mm và tiêu chuẩn loại trừ gồm bệnh phẩm đóng khối paraffin có khoảng trắng bao xung quanh bệnh phẩm, có khoảng trống và bệnh phẩm không đặt đúng chiều.

**Cỡ mẫu và phương chọn mẫu:** 500 tiêu bản nhuộm H.E cắt từ 50 khối paraffin bệnh phẩm thu thập từ các mô cơ quan khác nhau như mô da, lách, thận, tụy, tuyến ức, gan, dạ dày và trĩ.

**Biến số/chỉ số/ nội dung/chủ đề nghiên cứu:** Chỉ số kết quả nhuộm màu (màu nhân tế bào, màu bào tương, màu hồng cầu, màu sợi tạo keo), chỉ số thời gian nhuộm (với các tổ hợp thời gian Hematoxylin và Eosin khác nhau: 3 phút – 1 phút, 3 phút – 3 phút, 5 phút – 1 phút, 5 phút – 3 phút), chỉ số loại mô (gan, da, dạ dày, thận, tụy, tuyến ức, trĩ) và chỉ số kỹ thuật (có lỗi như rách mô, mất mô, gấp nếp mô, mô nhăn... hoặc không có lỗi).

**Kỹ thuật, công cụ và quy trình thu thập số liệu:** Số liệu được tiến hành thu thập từ 500 tiêu bản nhuộm H.E, cắt từ 50 khối nên bệnh phẩm thuộc 8 loại mô khác nhau bao gồm gan (28 khối), thận (18 khối), da (12 khối), trĩ (12 khối), tụy (12 khối), tuyến ức (6 khối) và dạ dày (6 khối). Mỗi khối nên bệnh phẩm được cắt thành 10 tiêu bản để tiến hành nhuộm và đánh giá chất lượng tại Trung tâm xét nghiệm, Trường Đại học Y tế công cộng.

**Tiêu chí đánh giá:** Chất lượng tiêu bản nhuộm H.E được phân loại thành hai nhóm. Tiêu bản đạt chất lượng khi hình ảnh nhuộm H.E có độ tương phản màu sắc rõ rệt, nhân tế bào bắt màu xanh đậm đến xanh đen, bào tương bắt màu hồng đến đỏ, hồng cầu bắt màu hồng đậm và sợi tạo keo bắt màu hồng nhạt (1). Tiêu bản không đạt chất lượng nếu hình ảnh nhuộm không có độ tương phản màu sắc rõ rệt giữa nhân và bào tương, hoặc khi các thành phần nhuộm bị nhạt màu, không bắt màu; đồng thời tiêu bản mắc

nhiều lỗi kỹ thuật nghiêm trọng như rách mô, xước mô, gấp nếp mô hoặc mất mô (1).

**Xử lý và phân tích số liệu:** Số liệu được thu thập sẽ được nhập trên phần mềm excel, sau đó xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0. Các biến định tính được mô tả bằng thống kê thường quy, đối chiếu mối liên quan giữa các biến số và so sánh tỷ lệ. Các kiểm định chi bình phương và Fisher Exact được sử dụng với mức ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$  và độ tin cậy 95%.

**Đạo đức trong nghiên cứu:** Nghiên cứu tuân thủ các quy định đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Hội đồng đạo đức trường Đại học Y tế công cộng và đã được phê duyệt theo quyết định số 35/2024/YTCC-HD3 ngày 29/02/2024.

## KẾT QUẢ

### Đặc điểm chung của các đối tượng nghiên cứu

**Bảng 1. Đặc điểm chung (n=500)**

Đặc điểm		Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	
Quy trình	Trung tâm xét nghiệm: Hematoxylin (5phút), Eosin (2 phút)	100	20	
	Hematoxylin (3phút), Eosin (1 phút)	100	20	
	Hematoxylin (3phút), Eosin (3 phút)	100	20	
	Hematoxylin (5phút), Eosin (1 phút)	100	20	
	Hematoxylin (5phút), Eosin (3 phút)	100	20	
Loại mô	Da	60	12	
	Dạ dày	30	6	
	Gan	140	28	
	Lách	30	6	
	Thận	90	18	
	Trĩ	60	12	
	Tụy	60	12	
	Tuyến ức	30	6	
Nhân tế bào	Xanh đến xanh đen	442	88,4	
	Nhạt màu	58	11,6	
Bào tương	Hồng đến đỏ	430	86	
	Nhạt màu	70	14	
Chất lượng nhuộm màu	Hồng đậm	249	49,8	
	Hồng cầu	Không bắt màu	9	1,8
		Không có	144	28,8
		Nhạt màu	98	19,6
	Sợi tạo keo	Hồng nhạt	427	85,4
Không bắt màu		2	0,4	
Không có		50	10	
Nhạt màu		21	4,2	
Lỗi kỹ thuật	Có lỗi	266	53,2	
	Không có lỗi	234	46,8	

Nghiên cứu được thực hiện trên 500 mẫu xét nghiệm tại trung tâm xét nghiệm, sử dụng phương pháp nhuộm H.E với năm quy trình nhuộm khác nhau, mỗi phương pháp chiếm 20% tổng số mẫu. Các mẫu nghiên cứu bao gồm nhiều loại mô, trong đó gan chiếm tỷ lệ cao nhất 28%. Bên cạnh đó, tủy xương 18% và tuyến ức 12%, các loại mô khác như da 12%, dạ dày 6% và lách 6% có số lượng ít hơn nhưng vẫn đáng kể. Chất lượng nhuộm được đánh giá dựa trên ba tiêu chí chính: màu nhân tế bào, màu bào tương, hồng cầu và sợi tạo keo. Kết quả cho thấy 88,4% mẫu có nhân tế bào nhuộm xanh đến xanh đen, trong khi 11,6% mẫu có nhân nhạt màu. Đối

với bào tương, 86% mẫu có màu hồng đến đỏ, trong khi 14% có mẫu nhạt màu. Hồng cầu có 49,8% mẫu có màu hồng đậm, nhạt màu chiếm 19,6%, không bắt màu 1,8% và còn lại không tìm thấy hình ảnh hồng cầu 28,8% . Sợi tạo keo 85,4% tiêu bản có màu hồng nhạt, trong khi 2% mẫu không có màu và 4,2% tiêu bản nhạt màu. Đáng chú ý, tỷ lệ lỗi kỹ thuật lên đến 53,2%, cho thấy vẫn còn những hạn chế cần cải thiện trong quá trình nhuộm H.E (Bảng 1).

### Khảo sát nhuộm màu Hematoxylin Eosin (H.E) theo quy trình của Trung tâm xét nghiệm

**Bảng 2. Khảo sát nhuộm màu H.E theo quy trình của Trung tâm xét nghiệm (n=100)**

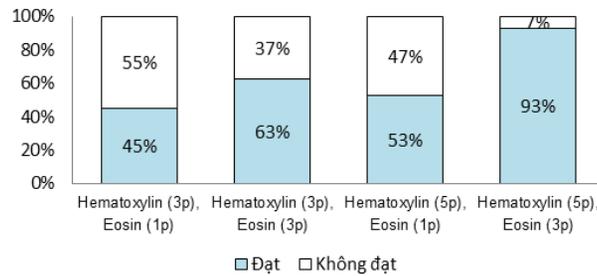
	Đặc điểm	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Màu nhân tế bào	Xanh đến xanh đen	99	99
	Nhạt màu	1	1
Màu bào tương	Hồng đến đỏ	96	96
	Nhạt màu	4	4
Màu hồng cầu	Hồng đậm	37	37
	Nhạt màu	4	4
	Không có	59	59
Màu sợi tạo keo	Hồng nhạt	56	56
	Nhạt màu	0	0
	Không có	44	44
Kết quả	<b>Đạt</b>	<b>92</b>	<b>92</b>
	<b>Không đạt</b>	<b>8</b>	<b>8</b>

Theo kết quả khảo sát Bảng 2, nhuộm H.E theo quy trình của Trung tâm xét nghiệm, Trường Đại học Y tế công cộng cho thấy hiệu quả nhuộm tốt khảo sát màu tỷ lệ “Đạt” chiếm 92%. Màu nhân và bào tương đạt chất lượng nhuộm rất cao lần lượt là 99% và 96%. Tuy nhiên, màu hồng cầu

và sợi tạo keo có sự biến động với tỷ lệ lần lượt là 37% và 56% đạt màu chuẩn.

### Một số yếu tố ảnh hưởng đến quy trình kỹ thuật nhuộm Hematoxylin Eosin (H.E)

#### *Yếu tố thời gian*



**Hình 1. Mối liên hệ giữa yếu tố thời gian và kết quả nhuộm H.E**

Kết quả thể hiện tại Hình 1 cho thấy quá trình nhuộm đạt kết quả tốt nhất là quy trình nhuộm “Hematoxylin (5p), Eosin (3p)” chiếm 93% tiêu bản “Đạt” và tiêu bản không đạt chiếm 7%. Quy trình nhuộm “Hematoxylin (3p), Eosin (3p)” đạt kết quả trung bình với tiêu bản “Đạt” chiếm 63% và tiêu bản “Không đạt” chiếm 37%. Hematoxylin (5p), Eosin (1p) tiêu bản “Đạt” chiếm 53% và tiêu bản

“Không đạt” chiếm 47%. Chiếm tỷ lệ đạt thấp nhất là quy trình Hematoxylin (3p), Eosin (1p) tiêu bản “Đạt” chiếm 45% và tiêu bản “Không đạt” chiếm 55%. Hơn nữa, có mối liên hệ chặt chẽ giữa thời gian nhuộm và chất lượng tiêu bản nhuộm H.E có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

***Yếu tố loại mô***

**Bảng 3. Mối liên hệ giữa loại mô và kết quả nhuộm H.E**

Loại mô	Đạt	Không đạt
Da	56,3%	43,7%
Dạ dày	54,2%	45,8%
Gan	55,4%	44,6%
Lách	54,2%	45,8%
Thận	69,4%	30,6%
Trĩ	79,2%	20,8%
Tụy	85,4%	14,6%
Tuyến ức	41,7%	58,3%

Kết quả thể hiện tại Bảng 3 cho thấy mô tụy có tỷ lệ “Đạt” cao nhất chiếm 85,4% và tỷ lệ “Không đạt” thấp nhất 14,6%; Mô trĩ có 79,2% “Đạt” và có 20,8% “Không đạt”; Mô Thận có 69,4% “Đạt” và có 30,6 % “Không đạt”; Mô da có 56,3% “Đạt” và có 43,7% “Không đạt”; Mô gan có 55,4% “Đạt” và

có 44,6% “Không đạt”; Mô dạ dày và lách đều có 54,2% “Đạt” và có 45,8%; Tỷ lệ thấp nhất là tuyến ức có 41,2% “Đạt” và có 58,3% “Không đạt. Hơn nữa, có mối liên hệ chặt chẽ giữa loại mô và chất lượng tiêu bản nhuộm H.E có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

***Yếu tố kỹ thuật***

**Bảng 4. Mối liên hệ giữa yếu tố kỹ thuật và kết quả nhuộm H.E**

Kỹ thuật	Đạt	Không đạt
Có lỗi	21%	20.75%
Không có lỗi	42.5%	15.75%

Khảo sát 400 mẫu tiêu bản cho thấy có 63,5% mẫu đạt yêu cầu, trong đó 42,5% mẫu đạt và không có lỗi, còn 21% mẫu đạt nhưng có lỗi (Bảng 4). Bên cạnh đó có 36,5% mẫu không đạt, bao gồm 15,75% mẫu không đạt nhưng không có lỗi và 20,75% mẫu không đạt và có lỗi (Bảng 4). Hơn nữa, có mối liên hệ chặt chẽ giữa kỹ thuật nhuộm và chất lượng tiêu bản nhuộm H.E có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

## BÀN LUẬN

### Khảo sát nhuộm màu Hematoxylin Eosin (H.E) theo quy trình của Trung tâm xét nghiệm

Nghiên cứu về quy trình nhuộm H.E tại Trung tâm xét nghiệm, Trường Đại học Y tế công cộng cho thấy tỷ lệ tiêu bản đạt yêu cầu khá cao, với kết quả tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Văn Minh, trong đó, tiêu bản “Tốt” chiếm 26.9%, “Đạt” đạt 68.9% trong khi tỷ lệ “Không đạt” chỉ chiếm 4.2% (7). Điều này chứng minh rằng quy trình nhuộm H.E hiện tại đang được thực hiện hiệu quả, đảm bảo chất lượng tiêu bản đáp ứng yêu cầu chất đoán. Tuy nhiên, chất lượng tiêu bản nhuộm H.E vẫn còn tồn tại một số hạn chế, bao gồm tình trạng tiêu bản bị gấp, xước, mảnh cắt dày, cũng như độ tương phản màu sắc giữa các thành phần chưa rõ ràng. Theo College of American Pathologists (CAP) và National Society for Histotechnology (NSH), tiêu bản nhuộm H.E đạt chất lượng tốt khi nhân nhuộm có màu “xanh đến đen-xanh của hematoxylin”, chromatin sắc nét và tế bào chất hiển thị rõ ràng với sắc thái “eosin triton”, giúp phân biệt các loại tế bào khác nhau (8). Nhưng, vẫn còn hiện tượng nhuộm nền yếu, điều này

gây khó khăn trong việc đọc và đánh giá kết quả nhuộm. Hơn nữa, những lỗi kỹ thuật nghiêm trọng như cố định mảnh mô không đảm bảo, cắt tiêu bản quá dày, mất mô, rách mô hoặc lỗi trong quá trình nhuộm có thể ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng nhuộm màu (9). Các tiêu bản nhuộm quá đậm hoặc quá nhạt làm giảm độ rõ nét của các thành phần tế bào, gây khó khăn trong việc nhận định kết quả chẩn đoán và tiềm ẩn nguy cơ sai sót. Vì vậy, cần tiến hành rà soát nguyên nhân của các tiêu bản không đạt và áp dụng biện pháp khắc phục phù hợp để đảm bảo chất lượng tiêu bản, từ đó phục vụ tốt hơn cho công tác chẩn đoán (10).

### Một số yếu tố ảnh hưởng đến quy trình kỹ thuật nhuộm Hematoxylin Eosin (H.E)

**Yếu tố thời gian:** Trong nghiên cứu của chúng tôi khi thay đổi thời gian nhuộm cho thấy tỷ lệ quy trình Hematoxylin (5p), Eosin (3p) đạt kết quả tốt nhất với tỷ lệ “Đạt” lên đến 93%. Kết quả cho thấy tỷ lệ tiêu bản “Đạt” cao tương đồng với quy trình của Trung tâm xét nghiệm, Trường Đại học Y tế công cộng và lớn hơn 1%. Trong bốn mức thời gian chúng tôi nghiên cứu khác nhau cho ra kết quả hoàn toàn khác nhau. Theo Đặng Hoàng Minh, nhuộm quá đậm hoặc quá nhạt thường là do không tuân thủ thời gian của quy trình nhuộm (11), vì vậy, để đạt được kết quả nhuộm tốt nhất cần tuân thủ đúng thời gian nhuộm hợp lý phù hợp với từng phòng xét nghiệm riêng biệt. Chất lượng thuốc nhuộm/hóa chất nhuộm H.E sẽ có sự khác nhau giữa các hóa chất mà hãng cung cấp và mỗi lô sản xuất của cùng một hãng cũng có sự khác nhau. Việc sử dụng là phụ thuộc vào điều kiện mỗi phòng xét nghiệm. Trong các thử nghiệm để xác định thời gian nhuộm tối

ưu cần sử dụng tất cả các hóa chất mới trong quá trình nhuộm. Khoảng thời gian nhuộm sẽ phụ thuộc vào cường độ màu mong muốn. Kiến nghị thời gian nhuộm thu thập từ tài liệu tham khảo, sách chuyên khảo hay hướng dẫn của nhà sản xuất. Khi sửa chữa bất kỳ lỗi nào trong tiêu bản nhuộm cần ghi lại mỗi thay đổi và kết quả trước khi thực hiện nhằm đảm bảo chất lượng của kết quả xét nghiệm (10).

**Yếu tố loại mô:** Các mô cơ quan khác nhau có chất lượng nhuộm H.E khác biệt; Với mô tụy đạt tỷ lệ cao nhất (85,5%), tiếp theo là mô trĩ (79%), thận (69,4%), da (56,3%), gan (55,4%), lách và dạ dày (54,2%). Sự khác biệt này do đặc tính bắt màu và cấu trúc mô học riêng của từng cơ quan (12). Gan chủ yếu gồm tế bào gan, nhân có hạt nhân nhỏ, tế bào chất màu hồng nhạt tương phản với collagen quanh mạch máu (10). Lách chứa tế bào plasma gần động mạch, nội mô lót xoang có nhân hình hạt đậu, tế bào lympho nhuộm đen, bào tương hồng (13). Da bao gồm tế bào vảy, tuyến bã nhờn, tuyến mồ hôi, melanocytes, dây thần kinh, collagen, hiển thị các sắc thái đỏ-hồng khác nhau (13). Thận chứa nhiều loại tế bào, từ cầu thận đậm đặc chất nhuộm sắc đến tế bào biểu mô ống thu ít nhuộm sắc hơn, trong đó tế bào ống lượn gần có hạt ái toan rõ, còn ống lượn xa ít hạt hơn (13). Tụy gồm tế bào acinar có nhân tối, hạt nhân minh bạch, tế bào ống có bào tương từ không bắt màu đến hồng nhạt, tế bào tiểu đảo có bào tương nhạt hơn, khác biệt màu sắc do glucagon (13). Tuyến ức chứa tế bào T quan trọng cho miễn dịch, nhân bắt màu xanh-xanh đen, bào tương hồng-đỏ, vùng vỏ đậm màu hơn vùng tủy (14). Mô trĩ bao gồm tiểu động mạch, tĩnh mạch, cơ trơn, mô liên kết có biểu mô lót, nhân tế bào bắt màu xanh-xanh đen, bào tương hồng, hồng cầu đỏ, sợi collagen hồng nhạt (14).

**Yếu tố kỹ thuật:** Có ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng nhuộm H.E, với tỷ lệ mẫu đạt yêu cầu ở nhóm không có lỗi kỹ thuật (42,5%) cao hơn đáng kể so với nhóm có lỗi (21%). Nghiên cứu của Larson và cộng sự đã chỉ ra rằng việc

áp dụng kỹ thuật nhuộm không chính xác có thể dẫn đến việc không thể quan sát và phân biệt chi tiết vi mô, từ đó ảnh hưởng đến kết quả chẩn đoán. Khi không thực hiện đúng cách, quá trình nhuộm có thể dẫn đến các tiêu bản bị nhuộm quá đậm hoặc quá nhạt, làm giảm độ rõ nét của các thành phần tế bào, từ đó gây khó khăn trong việc nhận định kết quả chẩn đoán. Tỷ lệ lỗi trong quá trình nhuộm H.E có thể đạt mức cao do một số yếu tố tác động trong suốt quy trình chuẩn bị và nhuộm (14). Các lỗi kỹ thuật chủ yếu bao gồm rách mô, mất mô, gấp nếp mô, và mô nhăn. Những lỗi này chủ yếu phát sinh trong giai đoạn cắt tiêu bản từ bệnh phẩm đóng khối paraffin và trong quá trình nhuộm, ảnh hưởng đến độ rõ ràng và độ chính xác của hình ảnh nhuộm. Rách mô xảy ra khi tiêu bản không được cắt đúng cách hoặc quá cứng trong quá trình cắt, khiến mô bị rách, không thể phân tích chính xác (12). Mất mô là tình trạng mô bị mất trong quá trình chuẩn bị hoặc xử lý mẫu, điều này gây ra việc thiếu các khu vực mô quan trọng trong tiêu bản nhuộm (12). Gấp nếp mô là khi mô không được xử lý đúng cách, dẫn đến các nếp gấp hoặc nhăn lại, làm giảm độ chính xác của phân tích (15). Mô nhăn có thể xảy ra khi bệnh phẩm không được cố định đúng cách, hoặc trong quá trình nhuộm, mô không được giữ nguyên dạng ban đầu, dẫn đến hình ảnh không sắc nét (4). Tỷ lệ lỗi cao có thể do yếu tố kỹ thuật như kinh nghiệm và sự cẩn thận của kỹ thuật viên, cũng như chất lượng của các hóa chất và thiết bị được sử dụng trong quy trình nhuộm. Mặc dù các tiến bộ công nghệ giúp cải thiện một phần chất lượng nhuộm, nhưng các yếu tố này vẫn có thể gây ảnh hưởng đáng kể đến kết quả cuối cùng (14). Ngoài các yếu tố (thời gian, loại mô, kỹ thuật) còn nhiều yếu tố khác như nguồn nước, độ pH, điều kiện khí hậu và tay nghề kỹ thuật viên cũng có thể tác động. Để đảm bảo kết quả nhuộm ổn định, cần tuân thủ quy trình kỹ thuật, sử dụng hóa chất chất lượng cao, kiểm tra thiết bị định kỳ và nâng cao tay nghề kỹ thuật viên nhằm cải thiện chất lượng xét nghiệm mô bệnh học (12).

## KẾT LUẬN

Qua 500 mẫu tiêu bản nghiên cứu có 100 mẫu tiêu bản được khảo sát theo quy trình của Trung tâm xét nghiệm, Trường Đại học Y tế công cộng cho kết quả nhuộm màu đạt chất lượng với 92% tiêu bản đạt chất lượng và 8% tiêu bản không đạt chất lượng. Hơn thế nữa, nghiên cứu trên 400 mẫu tiêu bản để đánh giá yếu tố ảnh hưởng cho thấy các yếu tố “Thời gian”, “Loại mô”, “Kỹ thuật” có mối liên hệ với kết quả nhuộm màu H.E có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ). Trong đó, thời gian nhuộm Hematoxylin (5p) và Eosin (3p) có tỷ lệ tiêu bản đạt cao nhất với 93% đạt, trong số các loại mô, mô tùy cho tỷ lệ tiêu bản đạt cao nhất với 85,4% đạt.

**Khuyến nghị:** Để nâng cao chất lượng tiêu bản nhuộm H.E, cần tối ưu hóa thời gian nhuộm phù hợp với từng loại mô, kiểm soát chất lượng hóa chất, chuẩn hóa quy trình xử lý mô và tăng cường đào tạo kỹ thuật viên nhằm giảm thiểu lỗi kỹ thuật.

*Lời cảm ơn:* Công trình nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Y tế công cộng trong đề tài mã số 888/ĐHYTCC do Lê Thị Linh làm chủ nhiệm. Đặc biệt, chúng tôi xin chân thành cảm ơn Trung tâm xét nghiệm, Trường Đại học Y tế công cộng tạo điều kiện thuận lợi cho nhóm trong suốt quá trình thực hiện đề tài.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Giải phẫu bệnh – Tế bào học. Nhà xuất bản y học Hà Nội, 2016:245-250.
2. Thái Duy Kiên. Đánh giá một số yếu tố ảnh hưởng tới chất lượng nhuộm mảnh cắt mô bằng

- kỹ thuật peridic acid schiff (PAS). Luận văn Thạc sĩ Y học, 2020.
3. Chan JKC. The wonderful colors of the Hematoxylin–Eosin stain in diagnostic surgical pathology. *Int J Surg Pathol.* 2014;22(1):12-32.
4. Falkeholm L, Grant CA, Magnusson A, et al. Xylene-free method for histological preparation: a multicentre evaluation. *Lab Invest.* 2001;81(9):1213-1221.
5. Tạ Hồng Hải Đăng. Tổng quan về phương pháp nhuộm Hematoxylin & Eosin trong kỹ thuật giải phẫu bệnh học. Khóa luận tốt nghiệp cử nhân Kỹ Thuật Y học, 2014.
6. Feldman AT, Wolfe D. Tissue processing and hematoxylin and eosin staining. *Methods Mol Biol.* 2014;1180:31-43.
7. Nguyễn Văn Minh. Đánh giá chất lượng kỹ thuật vi thể trên tiêu bản nhuộm H&E ở 1 số cơ sở Giải Phẫu Bệnh trên địa bàn Hà Nội. Khóa luận tốt nghiệp cử nhân Kỹ Thuật Y Học, 2011.
8. Kohl SK, Lewis SE, Tunnicliffe J, et al. The college of American pathologists and national society for histotechnology workload study. *Arch Pathol Lab Med.* 2011;135(6):728-736.
9. Alturkistani HA, Tashkandi FM, Mohammedsaleh ZM. Histological stains: A literature review and case study. *Glob J Health Sci.* 2015;8(3):72-79.
10. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. 10th ed. Elsevier;2020.
11. Đặng Hoàng Minh. Các lỗi kỹ thuật giải phẫu bệnh thường gặp và cách giải quyết. *Y học TP Hồ Chí Minh.* 2017;21(4):27-36.
12. Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD. Bancroft’s theory and practice of histological techniques. 7th ed. Churchill Livingstone Elsevier;2012.
13. Cardiff RD, Miller CH, Munn RJ. Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections. *Cold Spring Harb Protol.* 2014;2014(6):655-658.
14. Larson K, Ho HH, Anumolu PL, et al. Hematoxylin and eosin tissue stain in Mohs micrographic surgery: A review. *Dermatol Surg.* 2011;37(8):1089-1099.

## **Evaluation of staining quality and some factors affecting the technical process of Hematoxylin Eosin (H.E) staining at the Laboratory Center, Hanoi University of Public Health**

*Le Thi Linh<sup>1\*</sup>, Hoang Thi Quynh Anh<sup>1</sup>, Dang Tra My<sup>1</sup>, Le Thi Thu Hao<sup>1</sup>,  
Nguyen Manh Cuong<sup>1</sup>, Nguyen Thi Bich Thuy<sup>1</sup>,Phung Thi Thu Phuong<sup>1</sup>,  
Le Van Thu<sup>1</sup>, Duong Hong Quan<sup>1</sup>*  
*<sup>1</sup>Hanoi University of Public Health*

### **ABSTRACT**

**Objective:** This study evaluates the staining quality of different tissue types using the Hematoxylin Eosin (H.E) technique currently applied at the Laboratory Center, Hanoi University of Public Health and explores factors influencing its effectiveness. **Methods:** An experimental study was conducted on 500 H.E-stained slides cut from 50 FFPE tissue blocks with eight different tissue types including skin, stomach, kidney, liver, spleen, pancreas, thymus and hemorrhoids at the Laboratory Center, Hanoi University of Public Health. **Results:** The H.E staining technique according to the procedure performed at the Laboratory Center, Hanoi University of Public Health yielded satisfactory results in 92% of the samples. In addition, influencing factors such as staining time, tissue type and staining technique are significantly related to H.E staining results ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The optimal staining time for Hematoxylin is 5 minutes and for Eosin is 3 minutes. The quality of H.E staining is significantly influenced by various factors such as staining time, tissue type and technique. Therefore, strict adherence to the staining procedure, optimization of technical parameters and ensuring quality control are very necessary. In addition, improving the professional competence of technicians plays an important role in enhancing the accuracy and uniformity of H.E staining results. However, this study is limited to a single center and does not account for variations in chemical reagent quality and technician expertise.

**Keywords:** *Histopathology, Hematoxylin Eosin (H.E), influencing factors, Laboratory Center.*