

ชื่อเรื่อง การDecalcification ผิวหน้าบล็อก ด้วย 5% Nitric acid (CQI 2565)

กลุ่มงาน จุลพยาธิ

ผู้รับผิดชอบ นางสาวอาริษา แสงศรี

หลักการและเหตุผล

จากสถิติการตรวจทางพยาธิวิทยา ของสถาบันพยาธิวิทยาพบว่า ในปีงบประมาณ 2565 มีการส่งสิ่งส่งตรวจชิ้นเนื้อกระดูกที่ต้อง Decalcification(ดึงแคลเซียมออก) มีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งชิ้นเนื้อกระดูกเมื่อผ่านกระบวนการ Decalcification จากกระบวนการสลายพยาธิจนชิ้นเนื้อกระดูกอ่อนลงและนำมาเข้ากระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อจะพบว่า ชิ้นเนื้อกระดูกจะกลับแข็งขึ้นเล็กน้อย เมื่อนำมาฝังลงพาราฟินบล็อก และตัดSection จะทำให้ชิ้นเนื้อกระดูกตัดยากทำให้ได้ Section ที่ไม่สมบูรณ์ หรือตัดไม่ได้เลย เนื่องจากพาราฟินบล็อกกระเทาะ อีกทั้งยังทำให้เนื้อกระดูกแตกจนผิดรูปร่างเดิม หรืออาจต้องนำไป RE-Tissue Process เพื่อ Decalcification ซ้ำ

วัตถุประสงค์

1. สามารถนำไปใช้กับการปฏิบัติจริงได้โดยทำให้ชิ้นเนื้อกระดูกตัดง่ายขึ้นและสภาพsectionที่สมบูรณ์
- 2.ลดการส่งตัดซ้ำจากกรณีที่ใช้วิธีเดิม ซึ่งได้สไลด์ในสภาพที่ไม่สมบูรณ์
- 3.ลดระยะเวลา และทรัพยากรในกรณีที่ต้องนำชิ้นเนื้อกลับไปDecalcificationซ้ำ
- 4.จัดทำเป็นคู่มือและถ่ายทอดสู่หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

อุปกรณ์ที่ใช้

- 1.ชิ้นเนื้อกระดูกหน้าแข็งที่ผ่านการdecalcification จำนวน 10 ตัวอย่าง
- 2.น้ำยา 5 % Nitric acid
- 3.ไมโครโทมและใบมีด
- 4.อ่างลอยชิ้นเนื้อ
- 5.เครื่องย้อมสีและปิดcoverglassอัตโนมัติ
- 6.กล้องจุลทรรศน์

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงาน

1. ตัดชิ้นเนื้อกระดูกหน้าแข็งเป็นชิ้นขนาด 1X2 เซนติเมตรหนา 2 มิลลิเมตร
2. Decalcification (น้ำยา 5 % Nitric) จนชิ้นเนื้อนิ่มลง
3. นำชิ้นเนื้อกระดูกที่ได้ผ่านกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อตามปกติ
4. นำไปEmbedเป็นบล็อกพาราฟิน
5. Trim ผิวหน้าพาราฟินบล็อกด้วย Microtome จนเต็มหน้าชิ้นเนื้อ แล้วตัดเป็นsection ขนาด 3

ไมครอน

6. นำพาราฟินบล็อกด้านที่เป็นชิ้นเนื้อ แช่น้ำยา 5 % Nitric acid 5 นาที
7. Trim ผิวหน้าพาราฟินบล็อกหน้าชิ้นเนื้อออกเล็กน้อย แล้วตัดเป็นsection ขนาด 3 ไมครอน
8. ทำซ้ำ ข้อ 6-7 โดยเพิ่มเวลาแช่น้ำยา 5 % Nitric acid เป็น 10 นาที
9. ย้อมสี H&E ปิดcoverglass

จากนั้นนำสไลด์ที่ได้มาให้คณะแผนกความตัดsectionยาก,ง่าย โดยนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ 1 ท่าน และประเมินคุณภาพของสไลด์ตามหัวข้อ Nuclear staining Cytoplasmic staining และ Cell preservation โดยพยาธิแพทย์ 1 ท่าน (Blind test)

สรุป-วิจารณ์ผลการทดลอง

การแช่ผิวหน้าบล็อกด้วยน้ำยา 5 % Nitric acid ทำให้สามารถตัดชิ้นเนื้อกระดูกที่มีความแข็งมากออกได้ แช่ 5 นาที หรือ 10 นาที ก็สามารถตัดได้ง่ายเหมือนกัน และจากการเปรียบเทียบการ Decalcification ชิ้นเนื้อกระดูก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยพยาธิแพทย์พบว่า 9 จาก 10 ตัวอย่าง ได้ผลการประเมินเท่ากันทั้งในชิ้นเนื้อที่ไม่ได้แช่ และทุกระยะเวลาแช่น้ำยา 5 % Nitric acid โดย 1 ตัวอย่างที่การประเมินแตกต่างกันพบว่า ต่างที่ระยะเวลาแช่น้ำยา 5 % Nitric acid 10 นาที จึงสรุปได้ว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างชิ้นเนื้อที่แช่ และไม่ได้แช่น้ำยา 5 % Nitric acid ที่ 5 นาที

เมื่อพิจารณาจากผลการทดลอง จึงควรเลือกใช้การแช่ผิวหน้าบล็อกด้วยน้ำยา 5 % Nitric acid เป็นเวลา 5 นาที เนื่องจากประหยัดเวลากว่า และไม่รบกวนการอ่านผลของพยาธิแพทย์

แนวทางพัฒนาผลงาน

เพิ่มจำนวนตัวอย่างการทดลองเพื่อยืนยันสมมติฐาน และเผยแพร่แก่ห้องปฏิบัติการทางพยาธิวิทยาทั้งรัฐบาลและเอกชนที่สนใจ