

# 平成27年度愛知県精度管理調査 病理検査部門

精度管理事業部員・報告者

橋本克訓

(名古屋大学大学院)

**【項目】** チール・ネルゼン(Ziehl-Neelsen)染色サーベイ

**【参加施設数】** 52施設(評価施設は51施設)

**【試料】** 抗酸菌が認められた剖検検体の肝臓と脾臓のホルマリン固定・パラフィンブロックからそれぞれの組織の小片を切り出し、再包埋後、厚さ3 $\mu$ mで薄切した未染色切片。

**【評価方法】** 染色標本を愛臨技病理細胞検査研究班の班員23名による鏡検結果をスコア化して評価した。

## 【評価ポイント 1】

以下に示す4項目について3段階で評価点を採点した(20点満点)

### (1) 抗酸菌の染色性

- 良 : 13点 良好に染色されている
- 可 : 6点 染色が薄いですが抗酸菌を検出できる
- 不可: 0点 染色不良で抗酸菌の検出が困難

### (2) 共染の有無

- 良 : 2点 共染なし
- 可 : 1点 共染を多少認めるが鏡検に支障がない
- 不可: 0点 強い共染があり鏡検に支障がある

## 【評価ポイント 2】

### (3) 後染色の染色性

- 良 : 2点 陽性所見を妨げない染色性
- 可 : 1点 陽性所見を妨げている、または、染色性が悪いものの診断に支障はない
- 不可 : 0点 陽性所見を妨げている、または、染色性が悪く診断に支障がある

### (4) 全体的な標本の仕上がり(以下の2項目の合計とした)

- 染色ごみの有無
  - 良 : 2点 染色ごみはない
  - 可 : 1点 多少認めるが診断に支障がない
  - 不可 : 0点 大きなごみがあり診断に支障がある
- 切片の剥がれ
  - 可 : 1点 剥がれはない
  - 不可 : 0点 大きな剥がれがあり鏡検に支障がある

## 【評価判定（A-D）】

◎以下に示す評価点（20点満点）の基準をもとにA-Dの評価を行った。  
（平均点は18.34点であった）

A評価（染色上目的を十分に達している）

- 総合評価点が15点以上、抗酸菌の染色性が9点以上

B評価（染色上目的を達しているが、更なる向上が望まれる）

- 総合評価点が10点以上、15点未満、抗酸菌の染色性が9点未満

C評価（染色上目的を達しておらず、改善の必要がある）

- 総合評価点が7点以上10点未満

D評価（染色上目的を達しておらず診断に支障をきたす可能性がある）

- 総合評価点が7点未満。

## 【評価結果】

◎52施設中、1施設がチール・ネルゼン染色以外の抗酸菌染色を実施、提出したため評価対象から除外し、51施設を評価対象とした。

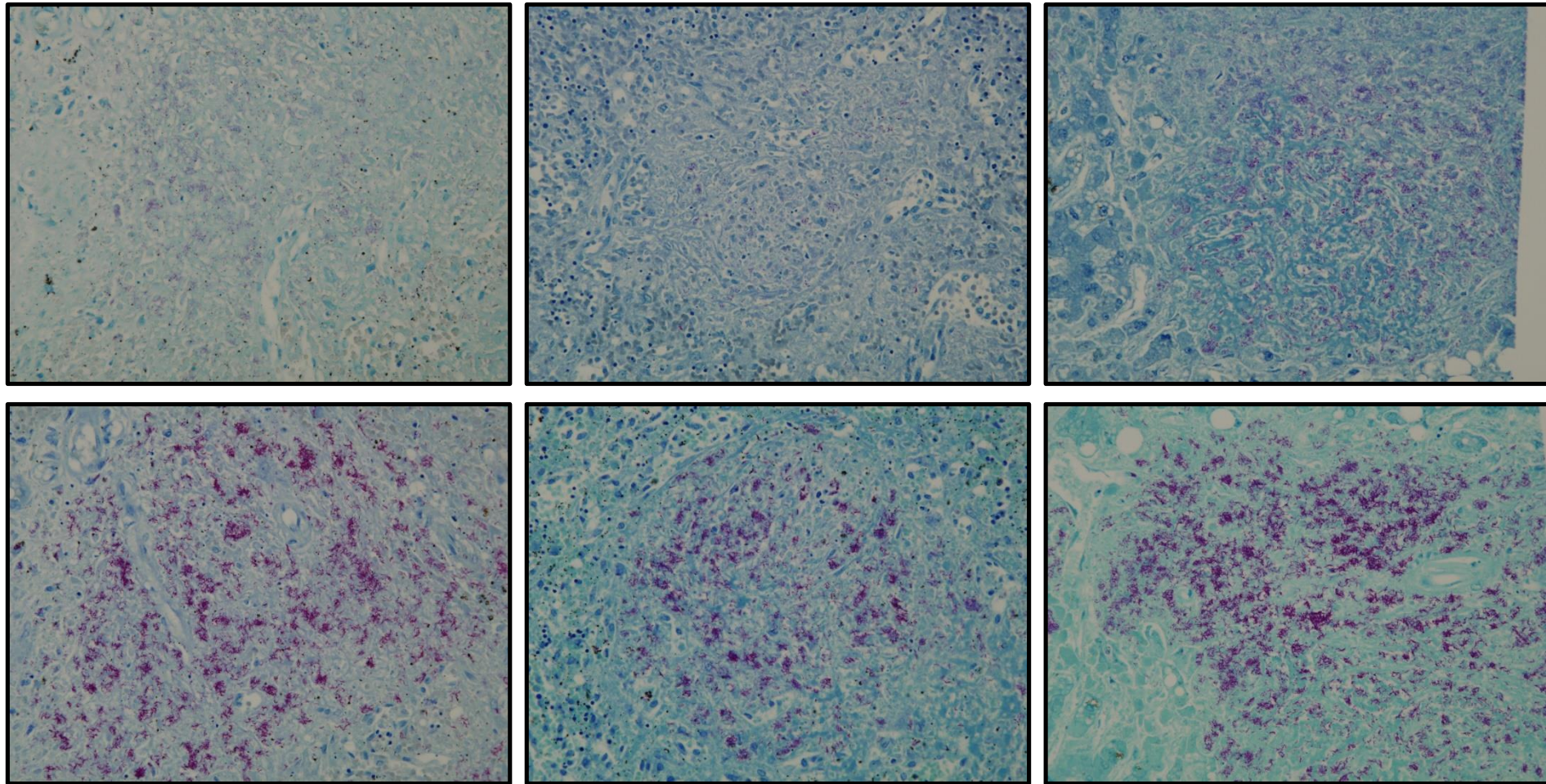
評価	A	B	C	D	計
施設数 (%)	46 (90.2)	4 (7.8)	1 (2.0)	0 (0)	51 (100)

## 【染色結果】

次スライドに染色結果を供覧する

B評価、C評価の染色とA評価の染色を比較

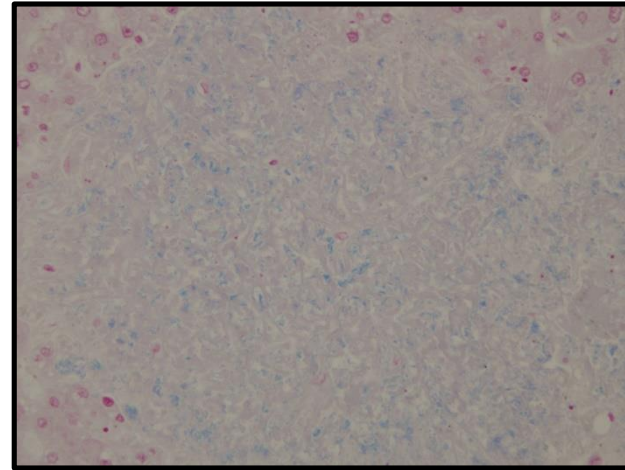
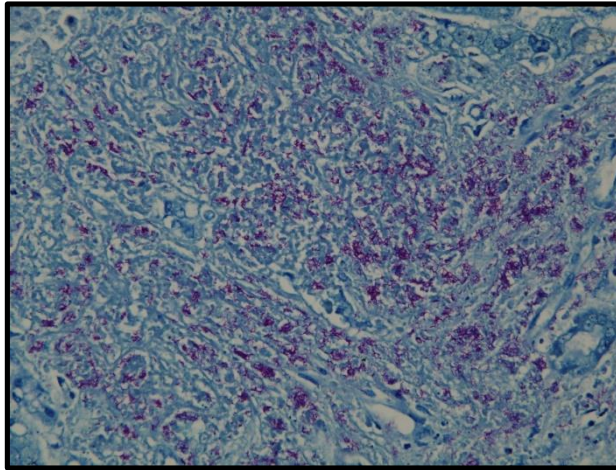
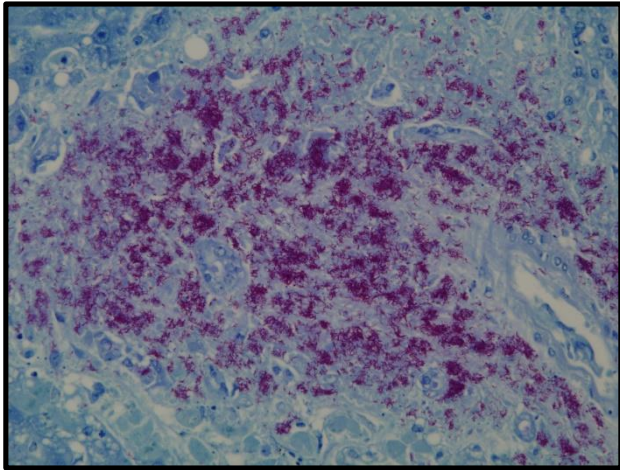
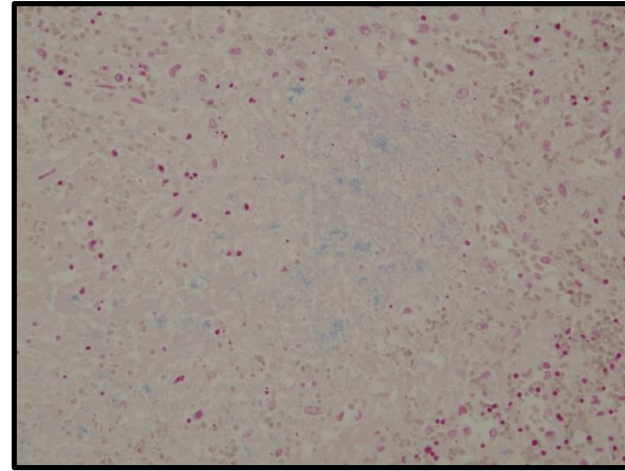
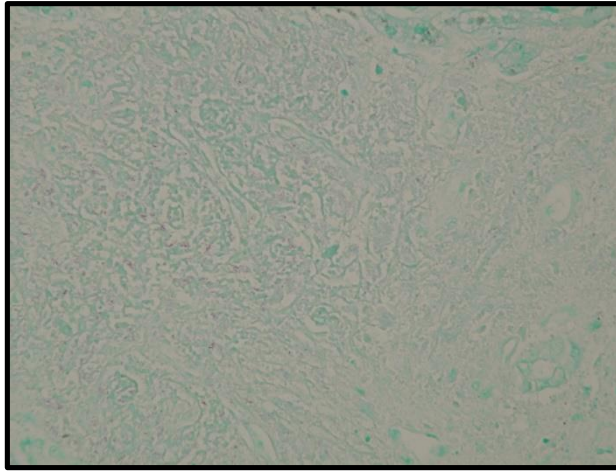
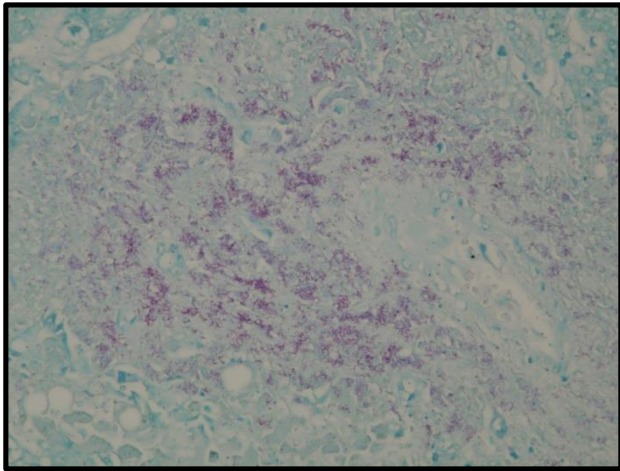
【染色結果 対物 x40】



上段：B評価施設の染色結果

下段：A評価施設の染色結果（上段の近接切片）

【染色結果 対物 x40】



上段左：B評価

上段中：C評価

上段右：石炭酸ビクトリア青（脾）

下段左：A評価

下段中：A評価

下段右：石炭酸ビクトリア青（肝）

（上段の近接切片）

（上段の近接切片）



染色工程アンケートから染色実施状況を調査し  
評価結果との関連性の解析を試みた。

## ◎チール・ネルゼン染色工程の概略

1.脱パラフィン

2.石炭酸フクシンで抗酸菌を染色

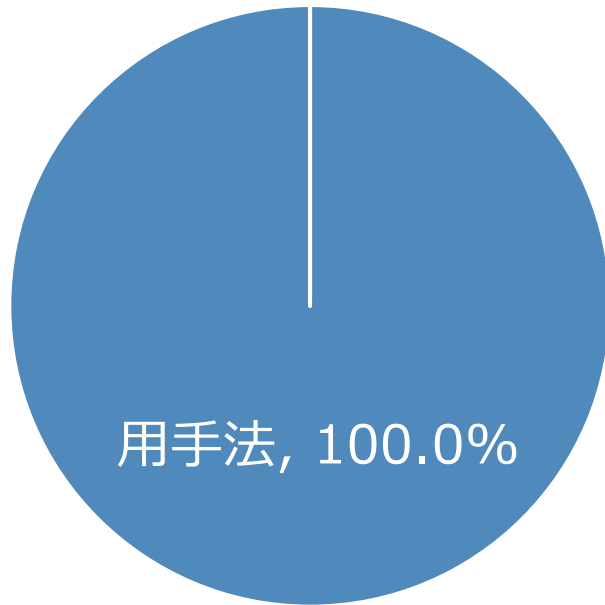
3.石炭酸フクシンの分別

4.後染色

# 【染色方法】

## 染色方法

機械法, 0.0%

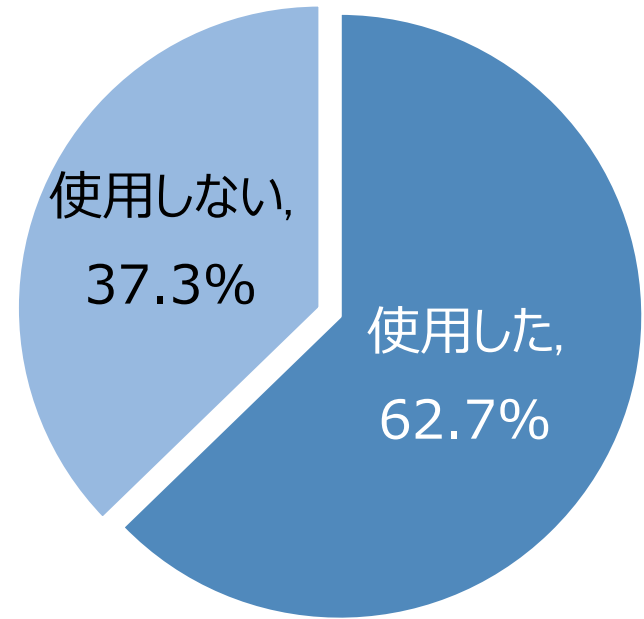


■ 用手法

■ 機械法

## 陽性コントロール使用の有無

使用しない,  
37.3%



■ 使用した

■ 使用しない

- ・51施設すべて(100%)が用手法で染色した。
- ・陽性コントロールを用いた施設は32施設(62.7%)であった。

## 【染色工程 脱パラフィンの方法】

脱パラフィンの方法	総合評価(施設数)				評価
	A	B	C	計	抗酸菌の染色性
<b>Fite法</b>	10	1	0	11 (21.6)	12.42
<b>非Fite法</b>	36	3	1	40 (78.4)	11.76
<b>計</b>	46	4	1	51 (100)	11.90 (平均)

- ・Fite法(オイルキシレン)で実施した施設の方が染色性の評価点が若干高い

## 【染色工程 染色試薬】

石炭酸 フクシン	総合評価(施設数)				評価点
	A	B	C	計(%)	抗酸菌の 染色性
市販染色液	40	3	1	44 (86.3)	11.85
<b>自家調製</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>7</b> <b>(13.7)</b>	<b>12.22</b>
計	46	4	1	51 (100)	11.90 (平均)

- ・石炭酸フクシン液を自家調製した施設の方が染色性の評価点が若干高い。
- ・前回調査(平成12年度)に比べ市販染色液を使用した施設の割合が21ポイント上昇した(前回の調査では65.3%)。

## 【染色工程 染色試薬】

試薬メーカー	石炭酸フクシン	総合評価(施設数)			
		A	B	C	計
武藤化学	染色液	26	2	0	28
シグマ	染色液	10	0	0	10
	色素	2	0	0	2
関東化学	染色液	2	0	0	2
	色素	3	0	0	3
メルク	染色液	0	0	1	1
	色素	1	0	0	1
和光純薬	染色液	1	1	0	2
クローマ	色素	0	1	0	1
片山化学	染色液	1	0	0	1
計		46	4	1	51

- ・武藤化学株の市販染色液を使用した施設が最多(28施設;54.9%)であった。

## 【染色工程 分別】

分別液	総合評価(施設数)			
	A	B	C	計(%)
0.5%塩酸70%アルコール	6	0	0	6(11.8)
<b>1%塩酸70%アルコール</b>	<b>27</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>31(60.8)</b>
3%塩酸70%アルコール	7	0	1	8(15.7)
0.15%塩酸80%アルコール	1	0	0	1(2.0)
3%塩酸95%アルコール	1	0	0	1(2.0)
1%硫酸水	2	0	0	2(3.9)
15%硫酸水	1	0	0	1(2.0)
1%硫酸70%アルコール	1	0	0	1(2.0)
計	46	4	1	51(100)

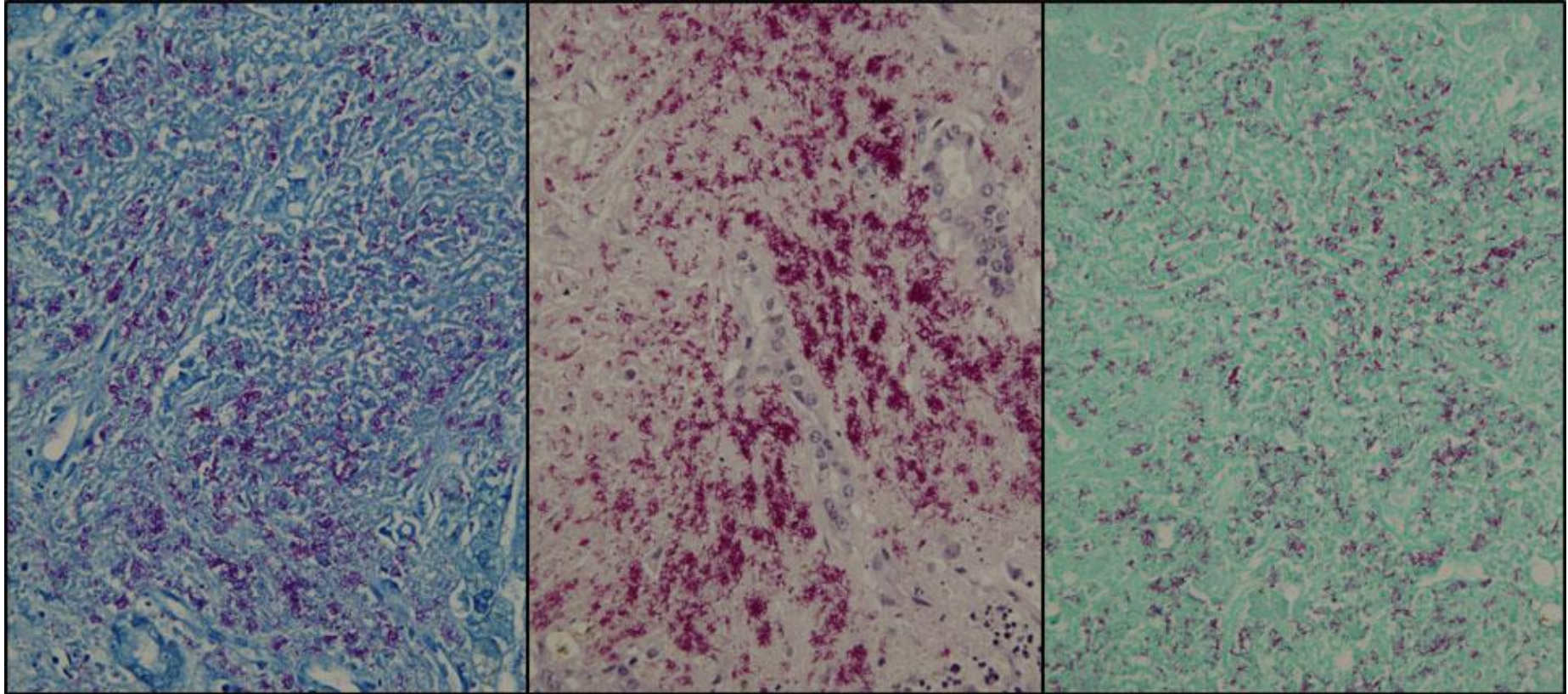
- ・1%塩酸70%アルコールで分別する施設が最多(31施設)であった。
- ・塩酸アルコール系試薬を使用する施設が47施設(92.1%)を占めた。

## 【染色工程 後染色液】

染色液の種類	総合評価(施設数)				評価点
	A	B	C	計(%)	後染色の 染色性
メチレン青	39	4	0	43(84.3)	1.65
ヘマトキシリン	4	0	0	4(7.8)	1.43
ライト緑	3	0	0	3(5.9)	1.71
マラカイト緑	0	0	1	1(2.0)	1.61
計	46	4	1	51(100)	1.62 (平均)

- ・後染色液の染色性の評価点はライト緑、メチレン青、マラカイト緑、ヘマトキシリンの順で高かった。

## 【染色工程 後染色液】



メチレン青

ヘマトキシリン

ライト緑

- ・後染色は陽性所見(色)を対比、強調する色で行う。
- ・陽性色である赤の補色は緑/青系である。
- ・ヘマトキシリンの紫の色相は緑/青より赤に近い。



## 【ま と め】

- ・評価対象の51施設中、90.2%がA評価となり、概ね良好な結果であった。
- ・脱パラフィンにFite法を用いた施設は21.6%であった。  
Fite法の方が若干、抗酸菌の染色性が高かった。
- ・86.3%の施設が市販染色液を使用しており、市販染色液の導入が進んでいる現状が把握できた。
- ・分別液は92.2%の施設が塩酸アルコール系試薬を使用していた。
- ・後染色として4種類の染色液が使用されており、染色結果は多様であった。
- ・陽性コントロール切片と同時に染色する施設は62.7%に留まった。

## 【総括】

- ・染色試薬、時間など、染色工程は様々であった。後染色液は4種類の染色液が使用されており、染色態度は多様であった。  
また、抗酸菌染色としてチール・ネルゼン染色以外の染色を実施している施設があることが把握できた。
- ・チール・ネルゼン染色などの病原性微生物の検出を目的とした染色は、染色結果が病理診断に直結するため、より高い精度が要求される。染色精度を保証するための陽性コントロール切片と同時に染色することを強く推奨する。
- ・陽性コントロールを使用した施設が62.7%に留まったのは、陽性コントロールブロックの入手が難しいことが原因であると推測する。
- ・自施設の染色結果を他施設と比較するする機会は少ない。  
今回のサーベイのような外部精度管理に積極的に参加して、自施設の染色性を確認し、染色技術の向上に役立てていただきたい。