

病 理 部 門

精度管理事業委員

加藤 浩

春日井市民病院

TEL 0568-57-0057

実務委員

鈴木利明 名古屋大学医学部附属病院
迫 欣二 厚生連加茂病院

病理検査の精度管理調査

はじめに

昨年一年間に登録された結核の患者数は、前年より約4,200人多い48,000人余りで三年連続の増加となったことが、厚生省の結核発生動向調査でわかった。人口十万人当たりの新規患者を示す罹患率も38.1で三年連続の上昇であった。オーストラリアの4.9、アメリカの6.6などと比べ、先進国の中で相変わらず突出している。同省は昨年7月、結核緊急事態宣言を行い、結核の脅威を再確認するよう呼びかけた。今回は、今話題の結核菌を染め出すチールネルゼン染色を行っていただいた。

(対象及び評価法)

1. 対象施設

参加申し込みがあった53施設のうち、回収できた49施設(回収率92%)の標本を対象とした。

2. 材料

非定型抗酸菌症(結核)の剖検例

- ・肺(菌が多数出現している)
- ・肝臓(菌がやや少ない)

3. 評価方法

精度管理委員及び病理研究班班員16名により施設名を伏せた状態で評価を行った。

(評価の項目)

① チールネルゼン染色の染色性(8点)

- ・良好(8点)
- ・薄染傾向(-1点・-2点・-3点)

染色性の強弱によって

- ・未染(-8点)

菌が全く染まっていないとき

- ・共染(-1点)

石炭酸フクシンの共染

- ・染色むら(-1点・-2点・-3点)

染まっている所と染まっていない所の面積によって

② 後染の染色性(2点)

- ・良好(2点)
- ・過染傾向(-1点)
- ・染色むら(-1点)

上記の2項目について減点方式で評価をした。

(総合判定)

精度管理委員及び病理研究班班員 16 名により、染色評価 2 項目の合計の平均点 (小数第 2 位四捨五入) で総合判定をした。

総合評価は A : 染色上、目的を十分に達している。(8 点以上)

B : 染色上、目的を達している。(5 点以上～8 点未満)

C : 染色上、目的を達しているが、今一步である。(3 点以上～5 未満)

D : 染色上、目的を達していない。(3 点未満)

E : 標本未提出のため判定不能。

以上のように判定し、寸評もつけた。

結果

1. 酸化の有無

する 3 施設

しない 46 施設

酸化を行う施設は 3 施設 (10% 過ヨウ素酸 2 施設、0.5% 過ヨウ素酸 1 施設) で、ほとんどの施設は行っていなかった。酸化は非活動型陳旧性結核病巣の結核菌 (抗酸性を失った嫌色素性菌) に有効であるとされている。しかし、この方法は非抗酸菌が染まったり、共染の原因にもなり注意が必要である。

2. 染色液

市販の染色液 32 施設 (65%)

自家製の染色液 17 施設 (35%)

市販の染色液を使っている施設は、32 施設 (65%) と自家製の染色液を使っている施設よりも多かった。市販の染色液は染色性が安定しており、長期保存が可能であり、多くの施設ため使用していると考えられる。自家製の染色液を使用している 17 施設の染色液濃度は以下のごとくであった。

a) 塩基性フクシン原液の濃度

10% 7 施設

3% 2 施設

9% 2 施設

11% 2 施設

20% 1 施設

不明 3 施設

b) 石炭酸の濃度

5% 14 施設

8% 2 施設

アニリン 1 施設

塩基性フクシン原液の濃度は 9% から 11% が 11 施設であった。この濃度は市販の染色液とほぼ同じ濃度である。しかし、3% や 20% といった濃度もあり、3% 濃度の施設は染まっている菌が少なく、評価も低かった。

石炭酸フクシン液は使用直前に濾過したものをを用いることが大切である。多くの切片を一度

に染色する時は染色バットを用いて染めると良いが、数枚の切片を染める場合は、切片上に染色液を盛り上がるように滴下して染める方が染色液量が少なくすみ、コンタミネーションも防げる。市販の染色液と自家製の染色液の評価は8.4と8.1で差を認めなかった。

3. 染色温度と時間

時間	温 度			
	室温	火で加温	マイクロウェーブ	その他
10分未満	0	2	1	0
10～29分	7	6	0	0
30～59分	19	3	1	0
60分	4	0	1	2
61分以上	3	0	0	0
合計	33	11	3	2

染色温度と時間は、室温で30分から59分が19施設と一番多く、火及びマイクロウェーブでの加温染色は、染色時間が短い施設が多かった。また、その他の2施設は60度から70度のふ卵器で60分染色していた。室温で10分から29分染色している施設は、平均が7.4と評価が低く、染まっている菌が少ない施設が多かった。

4. 染色後の水洗

する 43施設
しない 6施設

5. 水洗時間

数秒 16施設
30秒 11施設
1～3分 11施設
3分以上 5施設

水洗は、染色液を洗い流す程度でよいと考える。

6. 分別と分別時間

1%塩酸70%アルコール 39施設
5～20%硫酸水 1施設
その他 10施設
・2%塩酸70%アルコール 1施設
・3%塩酸70%アルコール 7施設
・3%塩酸95%アルコール 1施設
・ガバット液 1施設

時間	分 別 液		
	1%塩酸アルコール	5～20%硫酸水	その他
数秒	21	1	3
30秒	9	0	2
1～3分	5	0	2
3分以上	4	0	2
合計	39	1	9

分別は、1%塩酸70%アルコールで数秒が21施設と一番多かった。その他では、3%塩酸70%アルコールが7施設であった。3%塩酸70%アルコールは、細菌検査室で行うチールネルゼン染色と同じ分別液で、1%塩酸70%アルコールとの分別の差は見られなかった。組織染色で使う1%の塩酸濃度は菌以外の組織への破損を少なくするため、細菌検査室で行うチールネルゼン染色法で組織切片を染めても同じ結果がえられる。今回は行っている施設はなかったが10%酢酸水も良い染色結果がえられると言う報告もあるが、やや共染がみられる。分別は、バットで行う時は上下に、スライド上に液を盛る時はゆすりながら、切片がうす桃色に成る程度に脱色する。数秒で十分分別でき、時間が長くなれば菌の染色性も弱くなる。

6. 後染と時間

メチレンブルー	39施設	数秒	31施設
ライトグリーン	2施設	1～5分	17施設
ヘマトキシリン	6施設	6～10分	1施設
その他	2施設		
・ガベット液	1施設		
・ケルンエヒトロート	1施設		

後染は、メチレンブルーが39施設と時間は数秒が一番多かった。後染は、濃すぎると鏡検時の妨げになる。ヘマトキシリンは、菌と組織との関係がよく分かり後染に適していると思われる。

7. 脱水

エタノール	30施設
乾燥	17施設
イソプロピルアルコール	2施設

脱水は、エタノールが30施設と多かったが、脱水時間が長いと後染が薄くなる。イソプロピルアルコールは、2施設と少ないが後染の脱色が弱く良い結果が得られる。

まとめ

評価	肺	肝臓	総合評価
A	34施設	33施設	33施設 (67%)
B	13施設	13施設	12施設 (25%)
C	2施設	1施設	3施設 (6%)
D	0施設	2施設	1施設 (2%)
E	4施設	4施設	4施設
合計	53施設	53施設	53施設

今回は、抗酸菌を染めるチールネルゼン染色を行った。抗酸菌は表面がろう様物質で覆われているため、フクシン等の塩基性色素の水溶液には染まりにくいですが、石炭酸を媒染剤として加えると強く染まる。このように染まったものは水、無機酸溶液やアルコールにより脱色されにくいことを利用している。標本未提出の4施設を除く49施設のうち、A評価は33施設(67%)、B評価は12施設(25%)で、A、B合わせて45施設(92%)とおおむね満足のいく結果であった。

しかし、C評価は3施設(6%)、D評価は1施設(2%)あり、この4施設は早急に染色液と時間、分別液と時間を検討する必要があると思われる。肺と肝臓では、肝臓の点数が低い施設がおおかったが、ABC評価では、肺と肝臓が同じ施設がほとんどであった。チールネルゼン染色は塩酸アルコール等による分別時間が重要であり、この染色を行う時は必ず陽性対照を置く必要がある。今回精度管理事業に参加していただいた施設に感謝いたします。

(評価の高かった標本)

写真1

市販の染色液で火で10~29分加温染色。
分別は1%塩酸アルコール数秒。

写真2

自家調整染色液、室温30~59分染色。
分別は1%塩酸アルコール数秒。

写真3

市販の染色液、室温30~59分染色。
分別は1%塩酸アルコール数秒。

(評価の低かった標本)

写真4

自家調整染色液、室温30~59分染色。
分別は1%塩酸アルコール数秒。

写真5

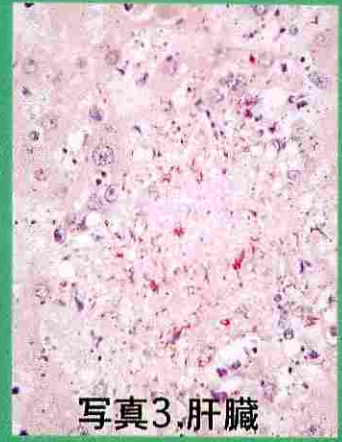
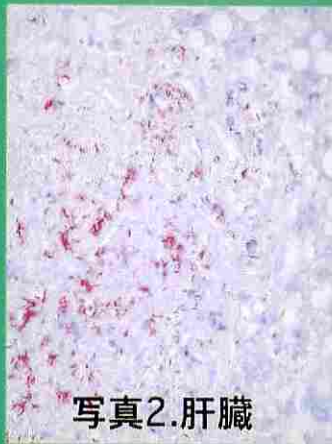
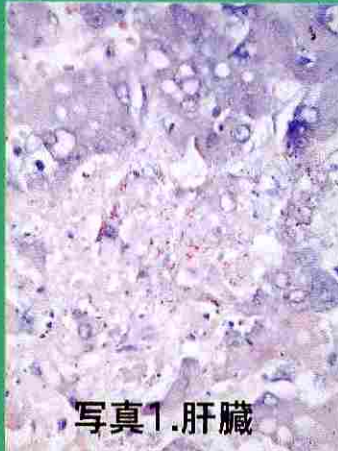
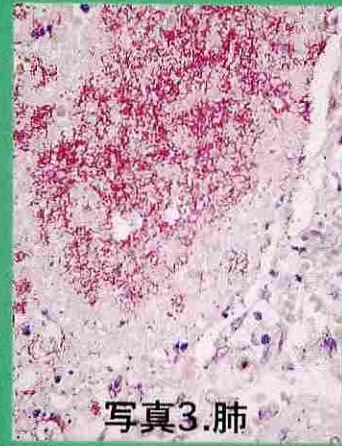
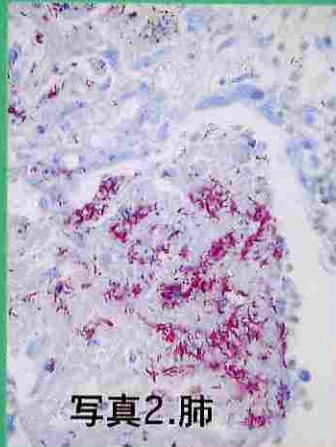
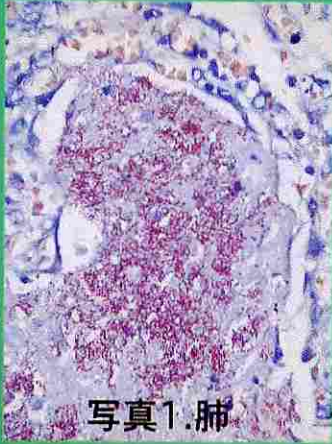
市販の染色液で室温60分染色。
分別は1%塩酸アルコール1~3分。

写真6

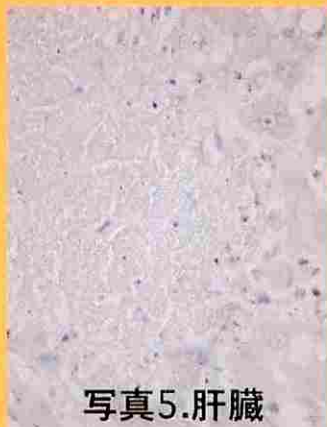
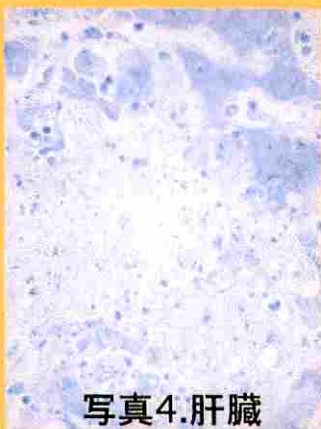
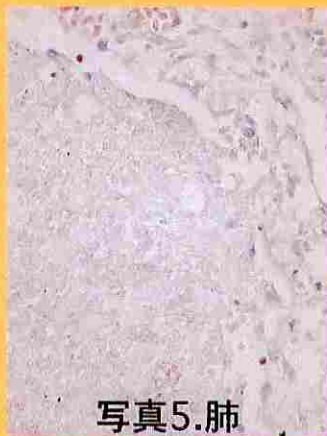
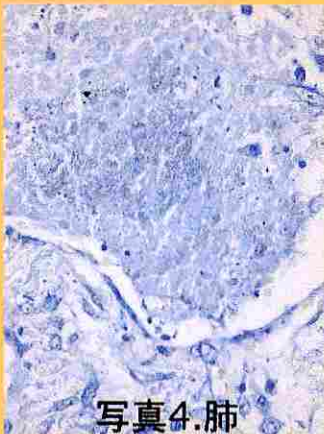
自家調整染色液、室温60分染色。
分別は1%塩酸アルコール数秒。

病理検査

評価の高かった標本



評価の低かった標本



平成12年度精度管理事業委員会

委員長（副会長）	永島 昇	東海産業医療団中央病院
事務局長（化学）	中根 生弥	厚生連加茂病院
編集担当（情報）	平井 信弘	愛知医大メディカルクリニック
編集担当（情報）	加藤 千秋	名古屋大学医学部附属病院
微生物	白石 了三	半田市医師会健康管理センター
免疫血清	酒井 昭嘉	医療法人豊田会刈谷総合病院
血液	清水 宏伸	愛知医科大学附属病院
臨床化学	藤田 孝	藤田保健衛生大学病院
病理	加藤 浩	春日井市民病院
細胞	佐藤 初代	豊川市民病院
生理	江崎 吉美	名鉄病院
一般検査	滝 賢一	愛知医科大学附属病院
輸血	丹羽 玲子	愛知医科大学附属病院
遺伝子	鬼頭 邦吉	愛知県立尾張病院
學術部長	山崎 良兼	厚生連加茂病院
会長	稲垣 勇夫	木曾川町立木曾川病院

平成12年度精度管理実務委員

微生物	多和田行男	国立名古屋病院
	内藤 淳	厚生連更生病院
免疫血清	久田 順	常滑市民病院
	内田 敦子	厚生連更生病院
血液	椎野 由裕	藤田保健衛生大学病院
	伊藤 嘉規	名古屋市立大学病院
臨床化学	中根 生弥	厚生連加茂病院
	大島 剛史	医療法人豊田会刈谷総合病院
	山田 幸司	厚生連加茂病院
病理	迫 欣二	厚生連加茂病院
	鈴木 利明	名古屋大学医学部附属病院
細胞	角屋 雅路	知多市民病院
	坪井 丈典	名古屋臨床検査センター
生理	中井 規隆	中部労災病院
	出口 恵三	厚生連渥美病院
一般検査	森光 陽一	名古屋公衆医学研究所
	遠藤けい子	国立名古屋病院
	野村 昌代	藤田保健衛生大学病院
輸血	左右田春美	医療法人豊田会刈谷総合病院
	谷川 美佳子	愛知県赤十字血液センター
情報	移川 透	聖霊病院

ご協力団体・会社名 (順不同、敬称略)

長野県松本赤十字血液センター

愛知県赤十字血液センター

愛知医科大学 寄生虫学教室

福祉・医療技術振興会

株式会社ニプロ

和光純薬工業株式会社

第一化学薬品株式会社

協和メデックス株式会社

三光純薬 (株)

平成13年3月発行

発行者 稲垣 勇夫

編集者 永島 昇 平井 信弘

発行所 名古屋市中村区名駅5-16-17花車ビル南館1階
愛知県臨床衛生検査技師会

印刷所 安城市弁天町2番9号
ニチモウ印刷株式会社