

病理組織学的検査

はじめに

平成9年度、病理組織学的検査における精度管理調査は、抗酸菌染色を実施した。

一般的に、組織検査において微生物を検出する方法には、メチレン青、グラム染色、抗酸菌染色、スピロヘータの染色、グロコット染色、HBs染色などがあり、菌を同定する染色法は少ないが、組織診断をくらす上で必要不可欠な検査法であることは言うまでもない。本年は、以上の染色方法のなかでも唯一、組織内における抗酸菌の存在を証明できる染色方法を取り上げた。

1. 材料及び実施方法

1] 材料

臓器はリンパ節で、摘出後ただちに20%ホルマリソ固定し、パラフィン包埋標本を4~5 μ mで薄切、63℃のフラン器で一晩乾燥した未染色標本1枚を配布した。標本は連続切片を作成しあらかじめ10枚おきに染色し、菌の存在と、菌量を確認した。

2] 検査方法

組織標本における結核菌染色を日常、実施している施設は、結核菌を検出して下さい。染色方法は、色素を用いた方法、免疫組織化学的方法など問いません。但し、蛍光法を除くこととした。

本例は、細菌学的検査により定型結核菌が証明され、またDNAポリメラーゼ反応により、ヒト型結核菌のDNAが陽性を示した。

2. 対象施設及び回収結果

		解答率
登録衛生検査所	8施設	(100%)
一般参加病院	37施設	(100%)

計45施設について実施した。

3. 判定方法及び判定結果

1] 判定方法

- ①標本の保持が適切に行われている。
- ②鏡検による細菌の観察に用いられる倍率
(対物 $\times 40$, $\times 100$ 油浸)で明瞭に観察でき、染色濃度が適切である。
- ③菌量が十分に染色されている。
- ④脱色、後染色が適切に行われている。

以上の項目に判定基準を置き、4段階評価とした。

Aクラス；標本(切片)の保存が適切で、菌体、菌量の確認が鮮明で、十分である(判定項目が全て良好な結果である)

Bクラス；菌体の確認は可能であるが不鮮明で、菌量も不十分である。

Cクラス；菌体が極くわずかしき、染色されず診断に支障をきたす標本。

Dクラス；陰性標本

2] 判定結果 (図1)

判定	登録衛生検査所	一般参加病院
Aクラス	4	26
Bクラス	1	10
Cクラス	0	1
Dクラス	0	0

3] アンケート結果 (図2、3、4)

4. 総評

組織学的検査における抗酸菌の確認の意義は、結核腫に類似する類上皮細胞性肉芽腫や肺炎などの疾患の鑑別に用いられる。

検査方法も簡便で主に石炭酸を用いたフクシン、ピクトリア青の色素法が主流で、1施設が免疫染色であった。(図2)

判定結果について、施設間で陽性菌数にばらつきが見られた。各施設とも、年間の染色枚数が少なく、試薬開封後の劣化による染色むらや、後染色が強すぎて陽性菌があるにもかかわらず鏡検しづらい標本と判定された。(図5、6、7)

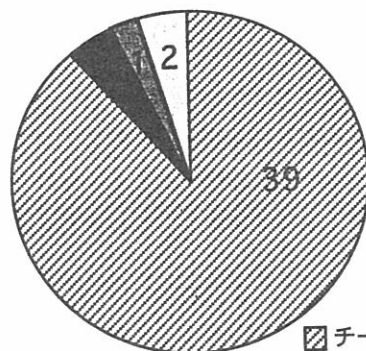
開封後、長期間使用していない染色液の使用には十分注意が必要である。また、脱パラフィンに用いる溶媒については26施設がキシレンを用いているがオイルキシレンの使用を試みることも一案と考える。適切なコントロール標本、前処理、分別操作の安定などの細かい手技の重要性を再確認し、染色性の向上を切望する。

施設No	判定結果	施設No	判定結果	施設No	判定結果
1	A	72	B	101	B
2	A	74	A	102	A
7	B	75	C	105	A
20	A	76	B	107	B
23	A	77	A	108	A
25	/	78	B	109	A
27	A	82	A	113	A
51	A	83	A	115	B
56	A	84	A	116	A
58	B	86	A	122	A
60	A	90	A	124	A
61	A	91	A	160	B
66	/	94	A	167	A
68	A	99	A	176	B
70	B	100	A	178	A

施設No 1~27 登録衛生検査所
 施設No51~178 一般参加病院
 (/) 未実施

図1

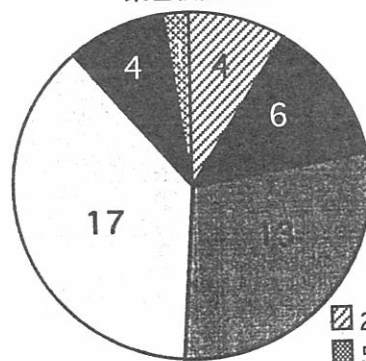
染色方法



チール、ネルゼン
 石炭酸ビクトリア青
 免疫染色法
 その他

図2

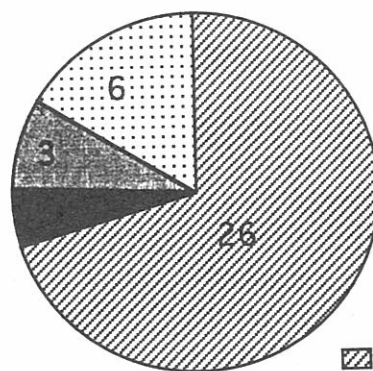
染色枚数(年)



200枚以上
 51~100枚
 101~200枚
 50枚以下
 未回答
 未実施

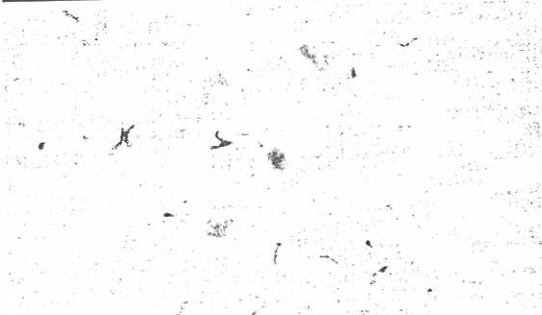
図3

脱パラフィン



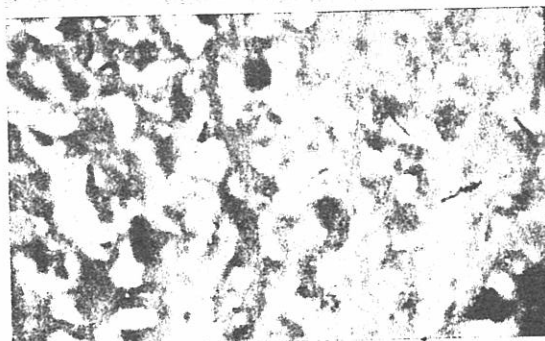
キシレン
 オイルキシレン
 他
 無回答

図4



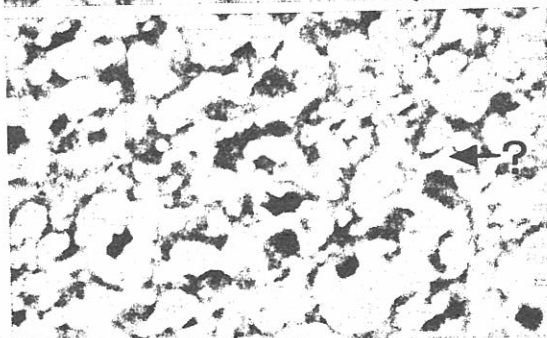
判定(A)

図5



判定(B)

図6



判定(C)

図7

平成9年度一般検査精度管理報告書

下記の要領をよく読んで間違いのないように記入して下さい。

1. 配布試料：試料1、試料1の溶解液、試料2、試料3(フォトサーベイ用写真)
2. 試料の調製方法：試料1は添付の溶解液全量を、試料2は蒸留水または精製水10mlを加え、約20分静置後ゆっくり混和し完全に溶解して下さい。溶解した試料は光によって変性しやすいので、溶解当日中に測定して下さい。
3. 試料の測定：溶解した試料1及び試料2について、日常用いている方法で尿定性・定量検査に関する以下の項目を測定して下さい。なお、尿定量検査においては、両検査項目とも単位はmg/dlで記入して下さい。
4. 試料3は、フォトサーベイ(図1～図8)の設問を読んだうえ成分名をコード表より選択し記入して下さい。

検査実施日	月 日	施設番号	
-------	-----	------	--

A. 尿定性検査(試料1, 2)

項目	試料1	試料2	方法・試験紙名	試験紙メーカー	目視・機器名
比重					
pH					
蛋白					
ブドウ糖					
ケトン体					
潜血					

B. 尿定量検査(試料1, 2)

	試料1	試料2	方法	試薬名・メーカー	機器名・メーカー
蛋白定量(mg/dl)					
糖定量(mg/dl)					

C. フォトサーベイ(試料3)

図	コード
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

問い合わせ先

小田原市立病院 病理・臨床検査科 高橋 信一
〒250 小田原市久野46 ☎ 0465-34-3175 (456)

平成9年度 精度管理実施要項 病理組織検査 試料No 20

本年度の精度管理は下記の通り実施致します。御協力御願い申し上げます。

1. 臓器はリンパ節です。摘出後ただちに20%ホルマリン固定しパラフィン包埋標本を4~5 μ mで薄切、63℃のフラン器で一晩乾燥した未染色標本1枚です。
本例は、結核菌に感染しています。DNAポリメラーゼ反応で、ヒト型結核菌が陽性です。

2. 検査方法

- 1) 日常、結核菌染色を行っている施設は、結核菌を検出して下さい。
染色方法は問いません。(例：Ziel-Neelsen、免疫染色など)但し、蛍光法を除く。

※組織検査において細菌の染色を行っていない施設は、日常の染色方法でお願いします。

標本、標本ケースには必ず施設番号又は、施設名を記入し、返送して下さい。

3. 調査用紙

上記の検査方法について、貴施設の検査方法、検査手技、使用試薬について具体的に記入して下さい。

4. 報告の締め切り及び宛先

締め切り：10月31日 必着

宛先：〒243-01 厚木市 七沢1304

七沢リハビリテーション病院脳血管センター 検査部 小山 郁郎 宛

TEL&FAX 0462-49-2846

5. 結果報告

平成9年度精度管理調査報告会、並びに研修会資料(神奈川県衛生部発行)をもって報告と致します。

尚、搬送などによる標本の破損や、検査に関して不明な点がありましたら下記まで御連絡下さい。

昭和大学藤が丘病院 病院病理科 中川信廣

TEL 045(974)6631(直)

FAX 045(972)6242

調査用紙 病理組織検査

施設No

施設名

1. 貴施設では組織による結核菌染色は行われていますか。 はい いいえ
2. (はい) と解答の施設は約何枚位の結核菌染色をしますか。 _____枚/月, 年
3. パラフィン標本における細菌の検出には、どの様な検査方法を行っていますか。

4. 今回の染色方法について具体的に記入して下さい。

染色方法 _____

1) 脱パラフィン、脱キシロール操作

2) 水洗

3) 染色試薬、処方及び染色時間を具体的に記載して下さい。

5. 今回の検査を担当された方に伺います。

- | | | | | |
|-------------------------|-------|-----|----|-----|
| ①資格従事者ですか？ | はい | いいえ | 常勤 | 非常勤 |
| ②病理検査は専任ですか？ | はい | いいえ | | |
| (いいえ) と解答された方に、ローテーションは | 定期的 (| | |) |
| | 不定期 (| | |) |
| ③病理検査の経験年数 | (| | |) |
| 6. 染色性のチェックはされましたか？ | はい | いいえ | | |

御協力有り難うございました。

病理組織学的検査

はじめに

平成10年度、病理組織学的検査における精度管理調査は、ヘマトキシリン・エオジン染色（以下HE染色と略記）と鍍銀染色（以下Ag染色と略記）を実施した。

1. 材料及び実施方法

1] 材料

臓器は肝臓で、摘出後ただちに20%ホルマリン固定し、パラフィン包埋標本を5~6 μ mで薄切、63℃のフラン器で一晩乾燥した未染色標本2枚を配布した。

2] 検査方法

1) HE染色

2) 鍍銀染色

鍍銀染色については染色方法、染色液の調整法、試薬についてのアンケート調査を行った。

2. 対象施設及び回収結果

		解答率
登録衛生検査所	8施設	(100%)
一般参加病院	37施設	(100%)
計45施設について実施した。		

3. 判定方法及び判定結果

1] 判定基準

- ①標本の保持が適切に行われている。
- ②染色態度（共染、全体の染色むら）
- ③好銀線維（細網線維）の染色むら
- ④膠原線維などと鑑別が容易である。
- ⑤後染（核染色）

以上の項目に判定基準を置き、4段階評価とした。

- Aクラス；標本（切片）の保存が適切で、判定項目が全て良好な結果である。
- Bクラス；目的は達しているが膠原線維との染色性が明瞭でない。後染がやや不十分である。
- Cクラス；好銀線維の染色が不十分である。
- Dクラス；目的を達していない。

詳細は《別紙》参照

2] 判定結果（図1）

	登録衛生検査所		一般参加病院	
	HE染色	鍍銀染色	HE染色	鍍銀染色
A	8	4	33	22
B	0	2	4	9
C	0	0	0	3
D	0	0	0	1
未実施	0	2	0	2

3] 判定表及びアンケート結果

(図2、3、4)

4. 総評

ヘマトキシリン・エオジン染色は各施設、良好な結果が得られた。

鍍銀染色は現在、主に渡辺変法とN・F法があるが、アンモニア銀液の調整が異なる以外、大きな相違点はない。共に染色工程が複雑でアンモニア銀液や還元液は染色時に調整が必要となるが、染色態度に大きな影響を与える点として次のことが上げられる。①酸化還元時間②アンモニア銀液③塩化金処理④シュウ酸などの処理時間などが上げられる。過マンガン酸処理は背景の共染をおさえる事が出来るが、酸化時間が長いと（10分以上）全体の染まりが悪くなる。アンモニア銀液の反応時間は、どの方法においても3分~15分となっているが短時間の反応ではやや不十分で、30分以上の反応では銀顆粒の付着が増し鏡検し難い標本となる。10分~15分が良好である。塩化金処理は還元液により黒褐色に変化した銀錯体の色調を安定させ黒色と褐色調のコントラストを鮮明にするが長時間の浸漬は切片の剥離を招く（1日以上）。シュウ酸は褐色調の膠原線維をより赤褐色調をにし好銀線維とのコントラストを良くするが、10分以上の反応では黒色調が強くなり線維の区別が困難になる。アンケートによると2%の濃度で2分~5分が適切と思われる。

各施設においては、背景の共染の強いもの、膠原線維の色調の違い、好銀線維の細部まで検出できなかった施設が見られたが、概ね良好な結果が得られた。一般参加病院では3施設がCクラス、1施設がDクラス（目的を達していない）の判定結果となったが、上記のごとく前処理の方法、目的、アンモニア銀の調整、後処理方法の再確認が必要と思われる。