

平成23年2月5日(土)

千葉大学医学部附属病院 3階講堂

平成22年度 千臨技病理検査研究班 精度管理調査報告

(社) 千葉県臨床検査技師会 病理検査研究班

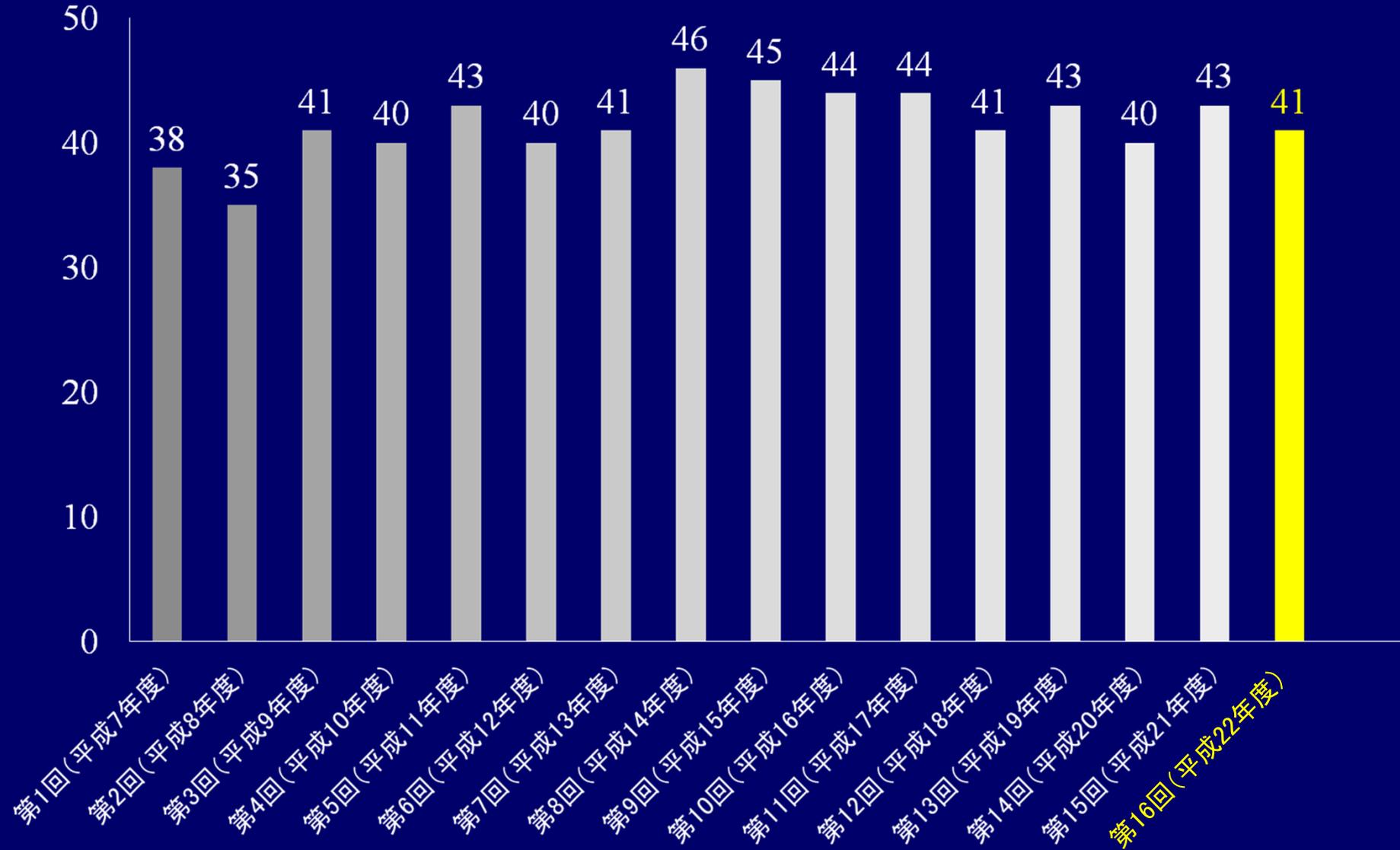
○田島 秀昭 三橋 涼子 鈴木 学 青柳 正則
東 和彦 永田 雅裕 中村 和昭 小野寺清隆

【目的】

- ① HE染色ならびに特殊染色を実施し,染色態度を評価することで,基本的な染色技術の再確認をする.
- ② 基本的な病理組織の所見を理解し,適切な特殊染色を選択できるようにする.

【精度管理調査概要 I】

施設数



【精度管理調査概要Ⅱ】

【材料】

剖検時の組織（15%緩衝ホルマリン固定）で
標本Aは下部消化管組織, 標本Bは真菌感染症
のある肺組織を用いた.

【方法】

3 μ mに薄切した未染色標本をそれぞれ4枚配布

標本A: HE染色とEVG染色を実施

標本B: HE染色を行い, 標本を観察した上で必要
と考えられる特殊染色を実施

【精度管理調査概要Ⅲ】

＜評価方法＞

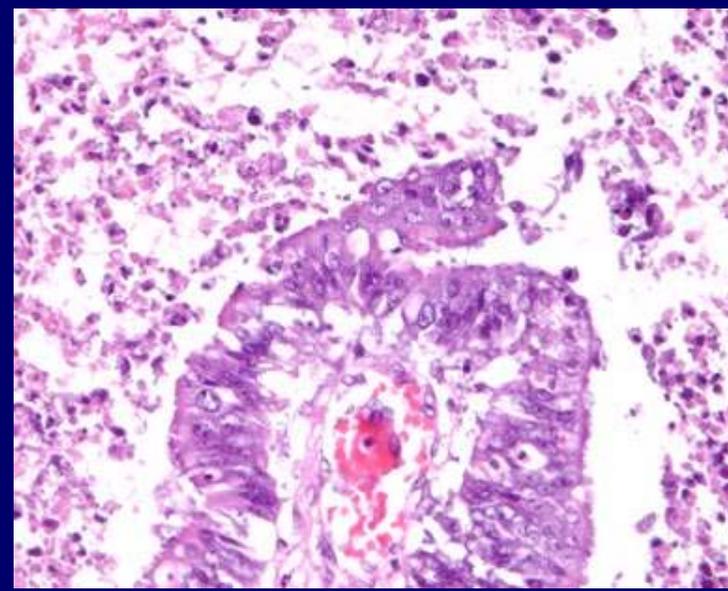
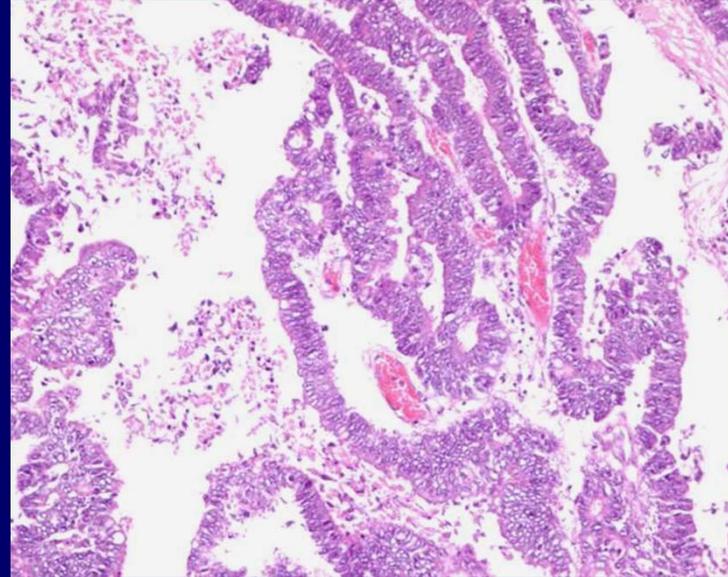
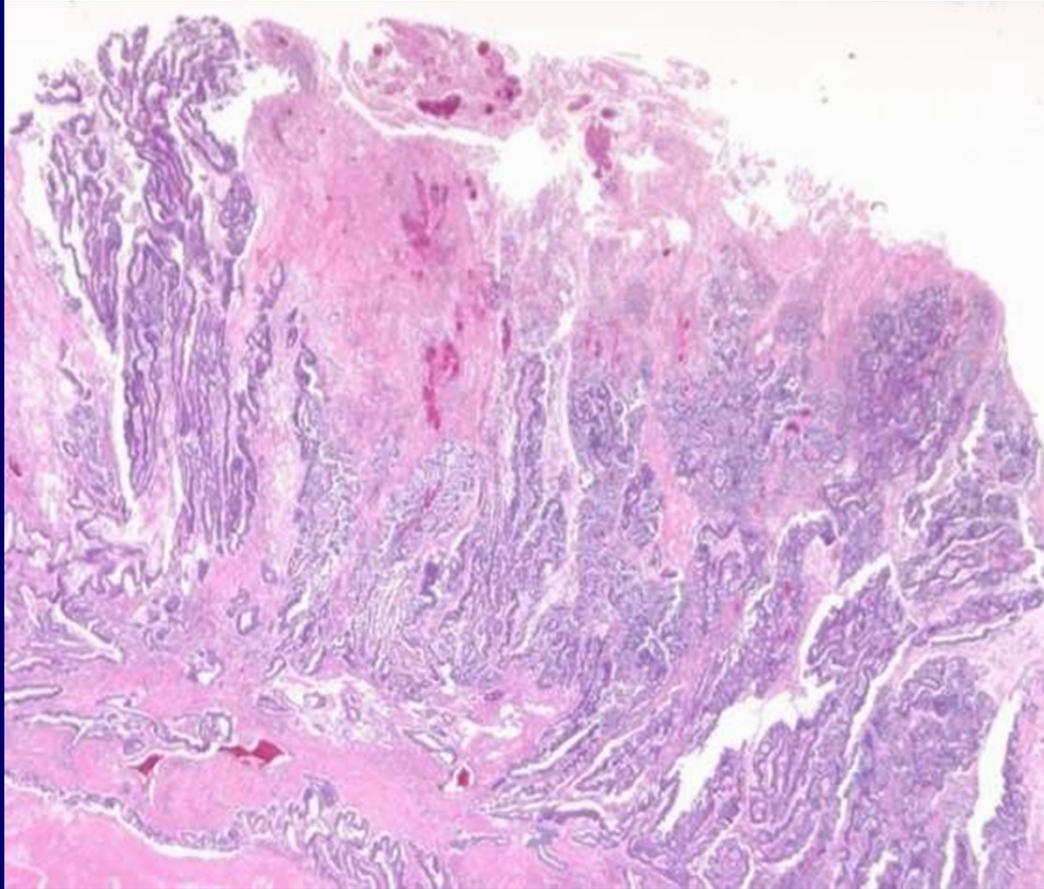
標本A: HE染色・EVG染色(それぞれ7項目)

- ・各項目 良(2点), 可(1点), 不可(0点)
- ・総合 A: 染色上, 目的を十分に達成している. (12-14点)
B: 染色上, 目的を達成している. (7-11点)
C: 染色上, 目的を達成していない. (6点以下)

標本B

- ・HE染色標本を観察した上で必要と考えられる特殊染色を実施・選択できている.(○), 実施・選択できていない.(×)
- ・実施された染色(Grocott染色)に関しては設定した各項目において分類した.

【精度管理検体：標本A】



下部消化管組織
高～中分化腺癌

病理染色標本評価表

(標本A:HE染色)

HE染色	配点
スライドガラスの汚れ	2
染色むら	2
共染の有無	2
切片の剥離	2
ヘマトキシンの染色性	2
エオジンの染色性	2
核と細胞質のコントラスト	2
合計	14

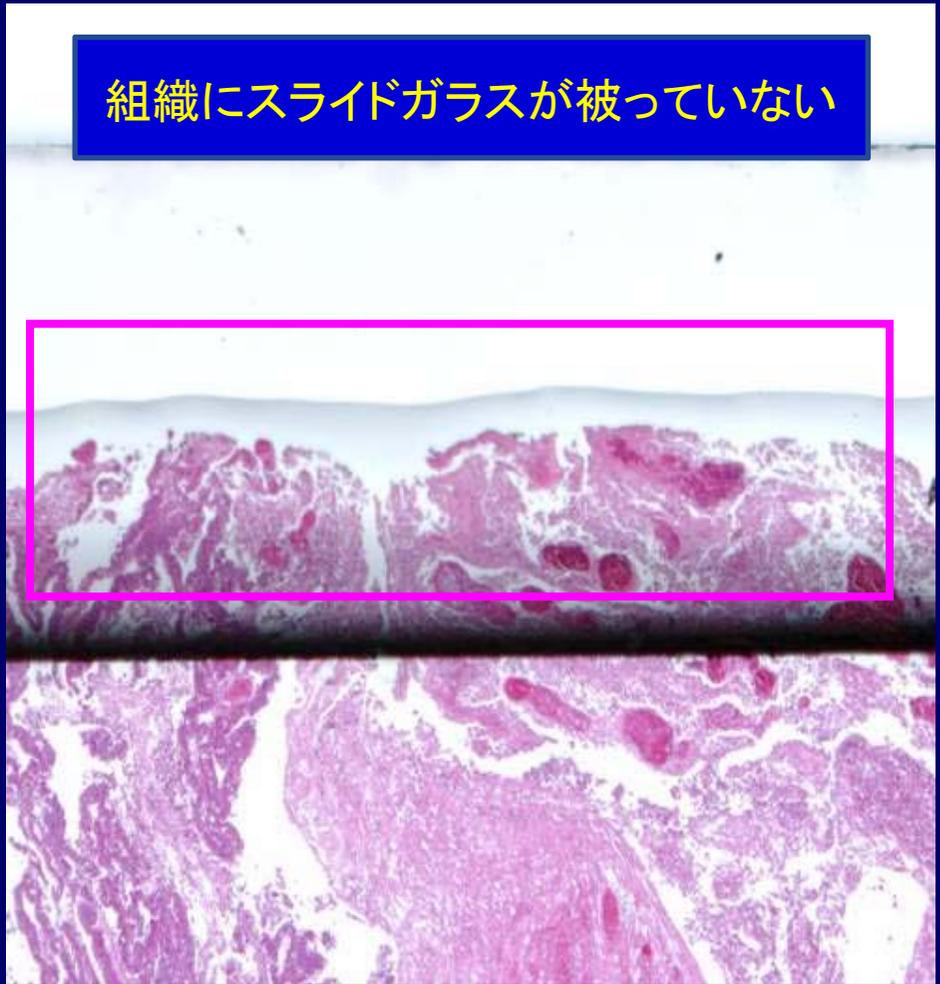
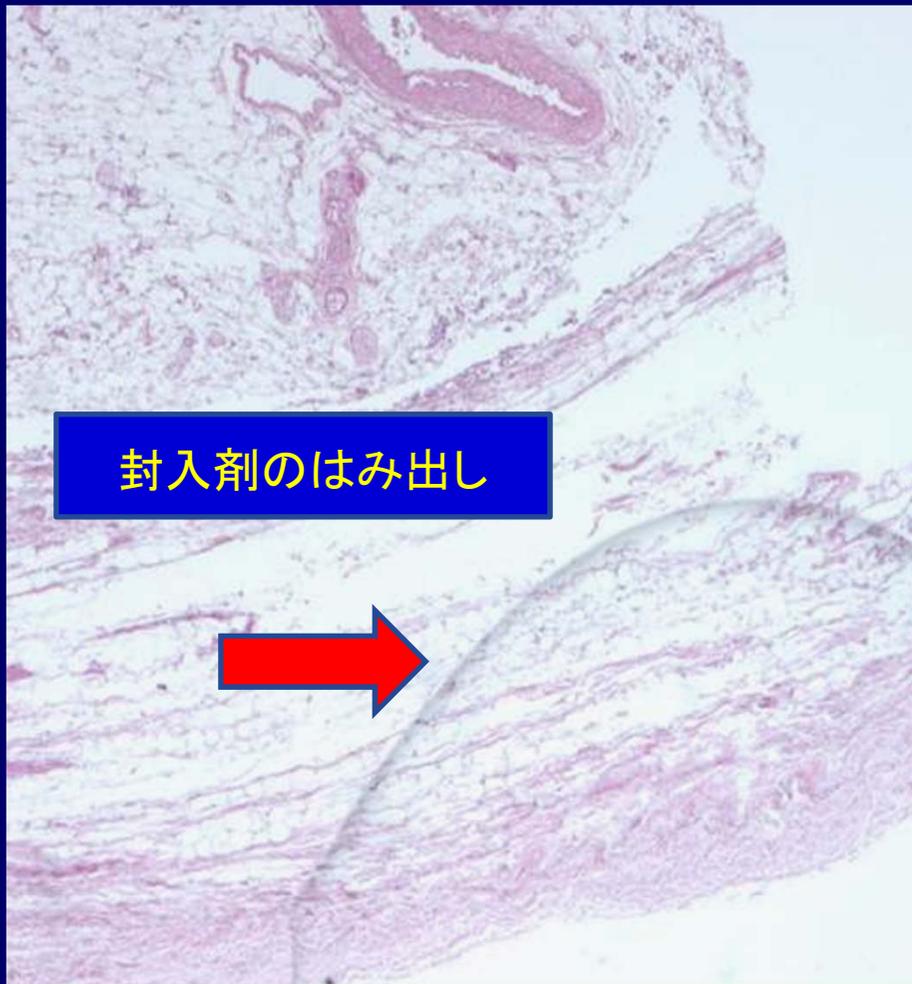
病理染色標本評価表

(HE染色)

総合評価	点数
A 評価	12～14
B 評価	7～11
C 評価	0～6

病理染色標本評価(HE染色)

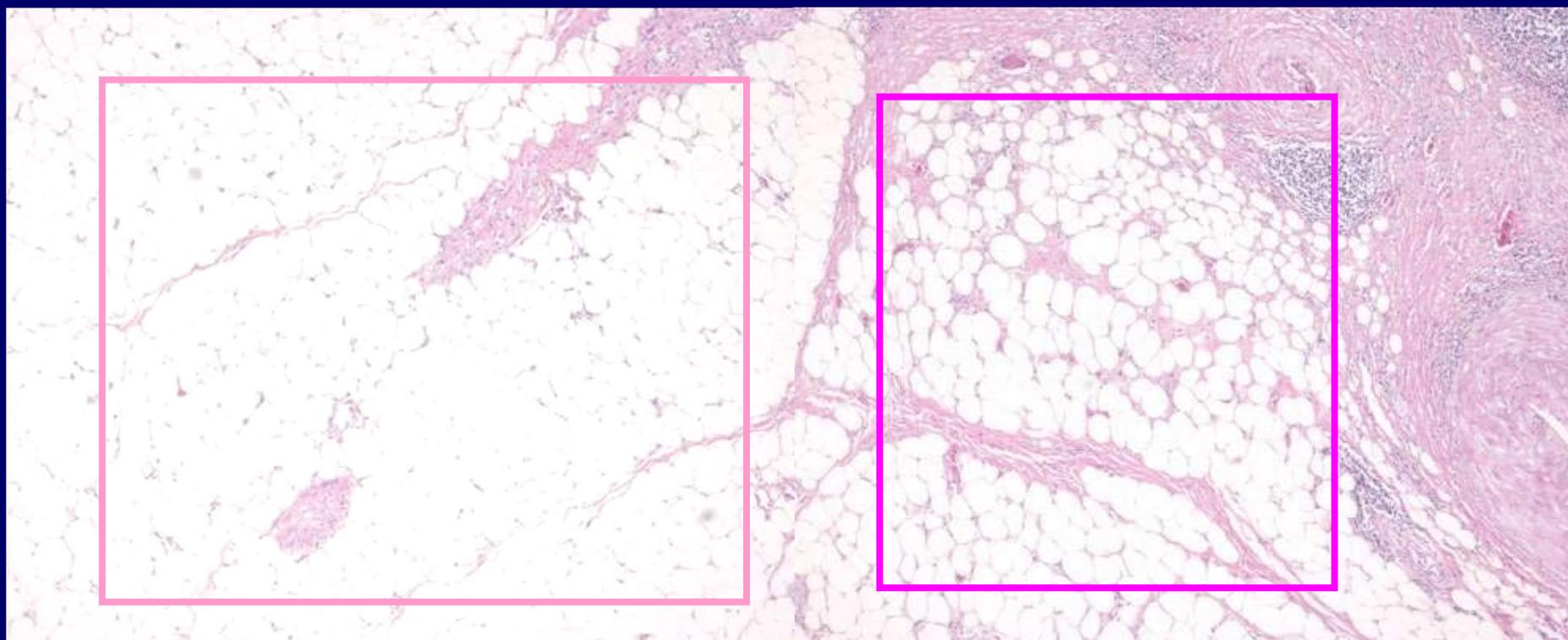
▶ スライドガラスの汚れ(2施設/41施設)



病理染色標本評価(HE染色)

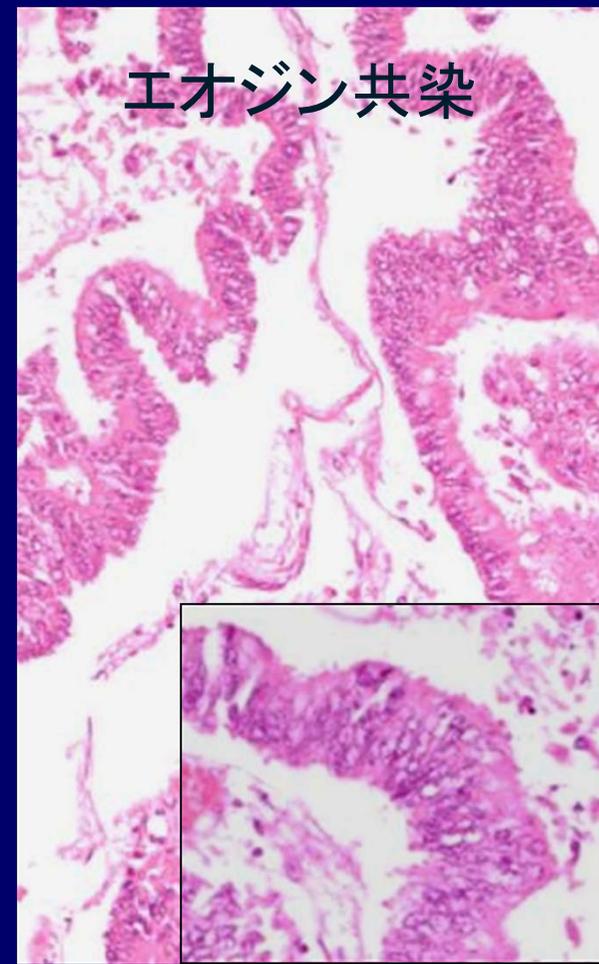
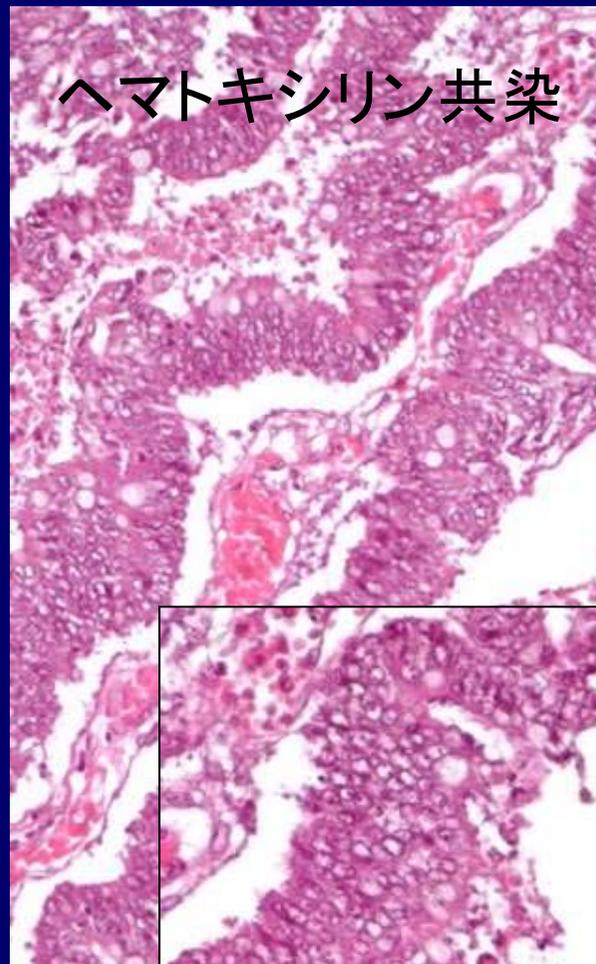
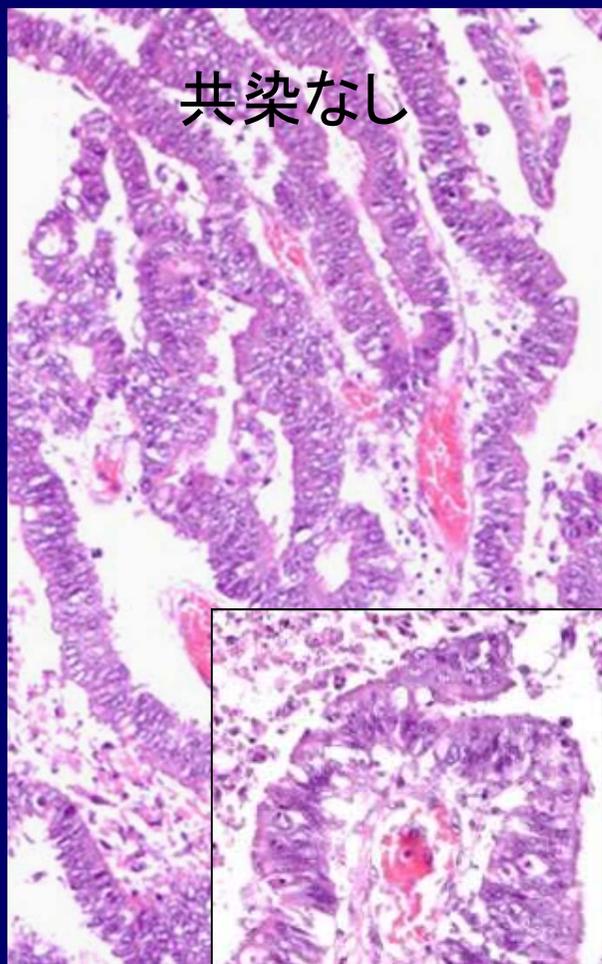
▶ 染色むら(1施設/41施設)

標本内で染色態度に強弱を認める



病理染色標本評価(HE染色)

▶ 共染の有無 (15施設/41施設)

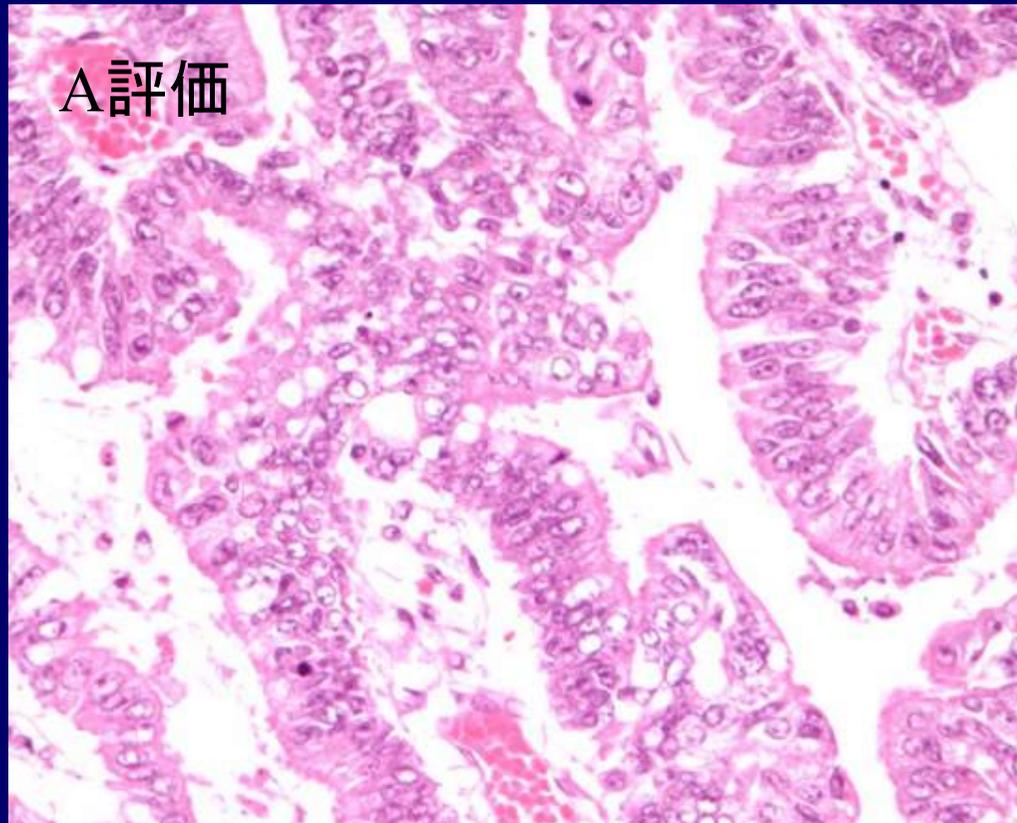


(6施設/41施設)

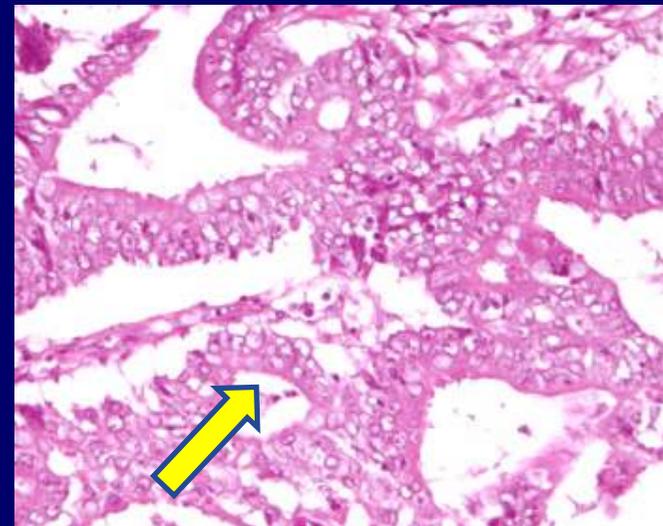
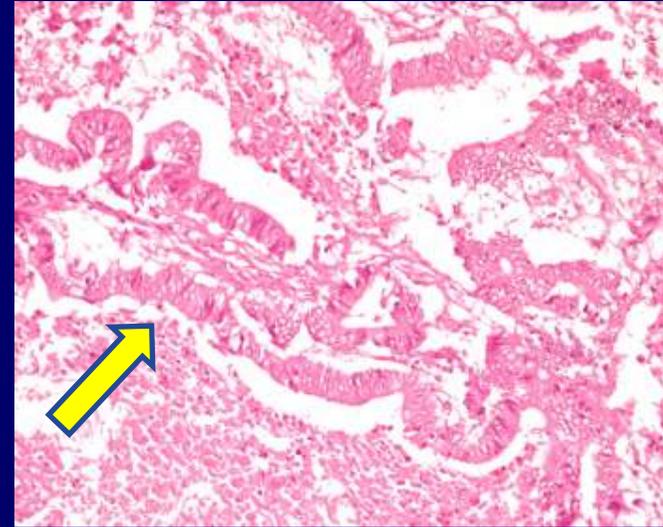
(9施設/41施設)

病理染色標本評価(HE染色)

▶ ヘマトキシリンの染色性 (3施設/41施設)

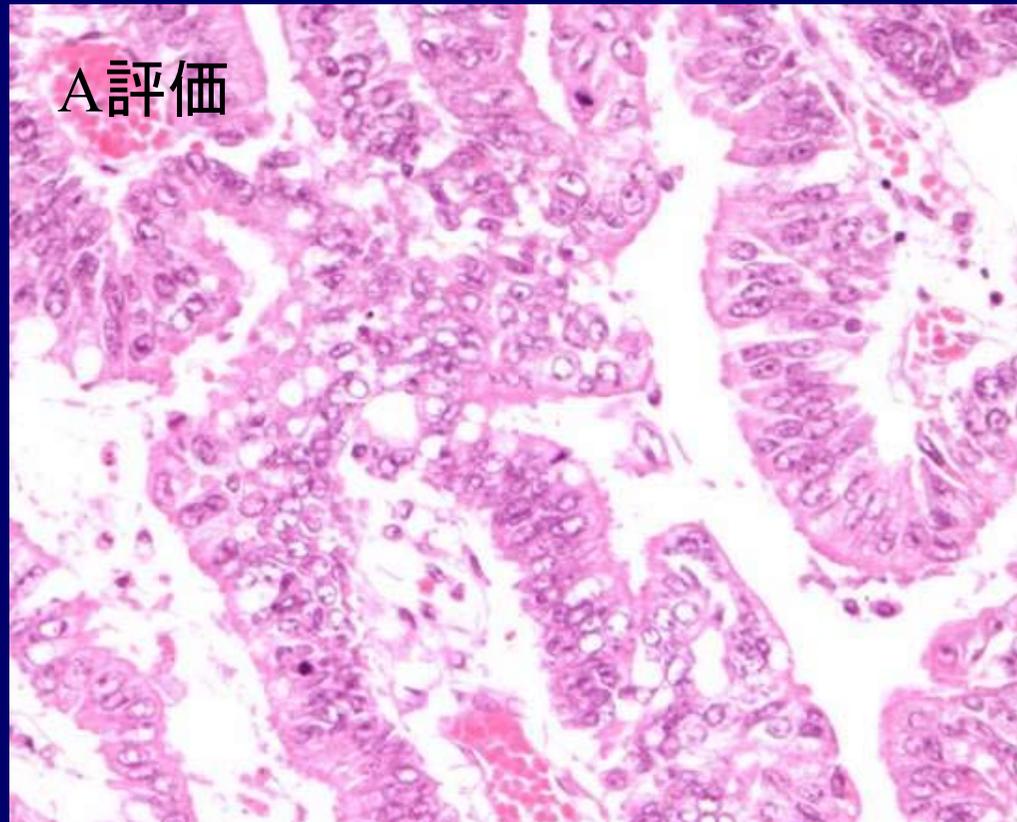


核の染色性が弱く、クロマチンの状態が観察しづらい。

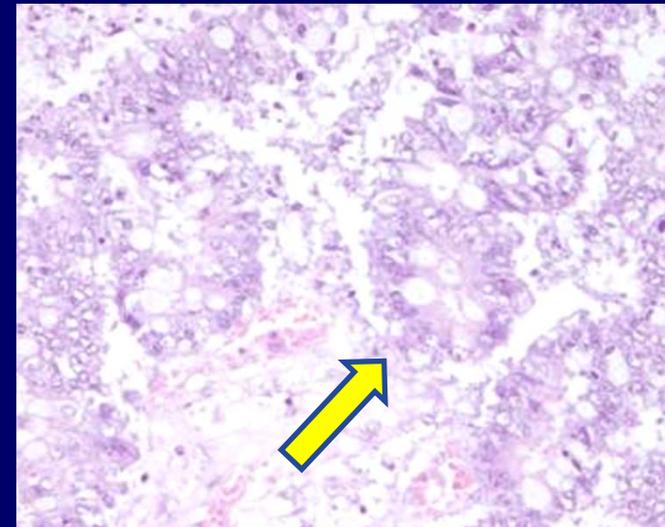
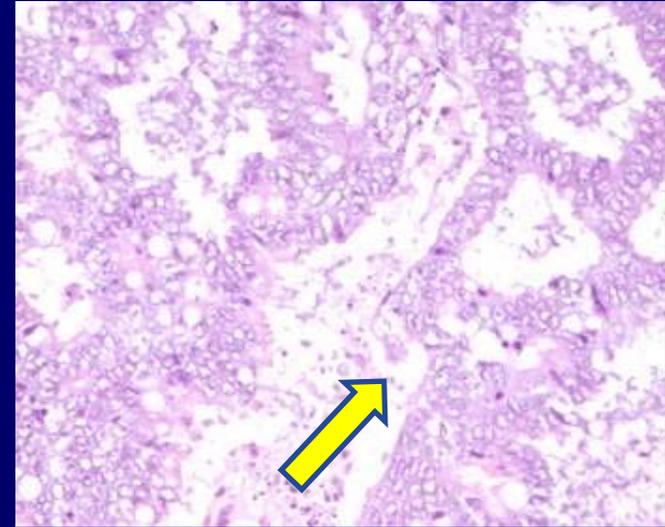


病理染色標本評価(HE染色)

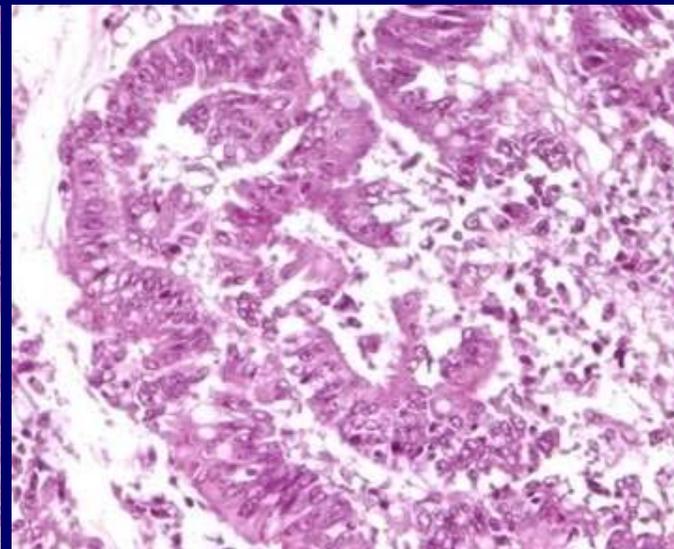
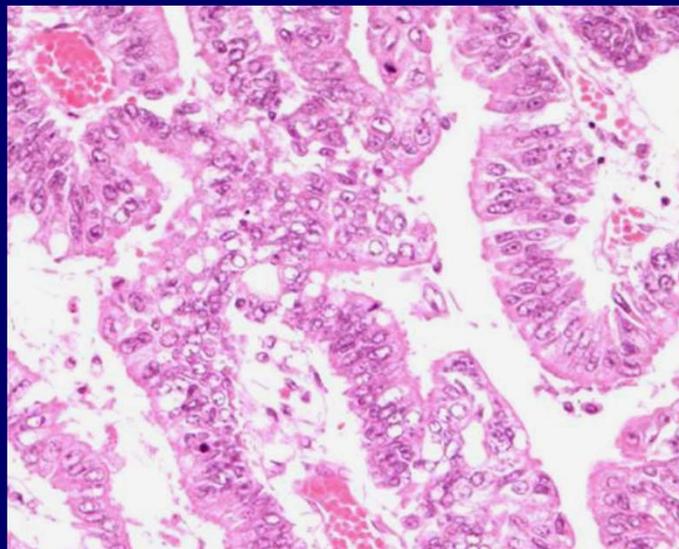
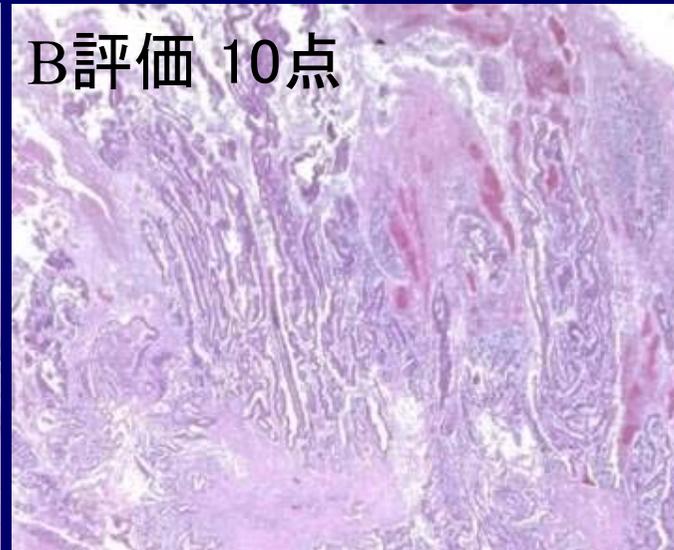
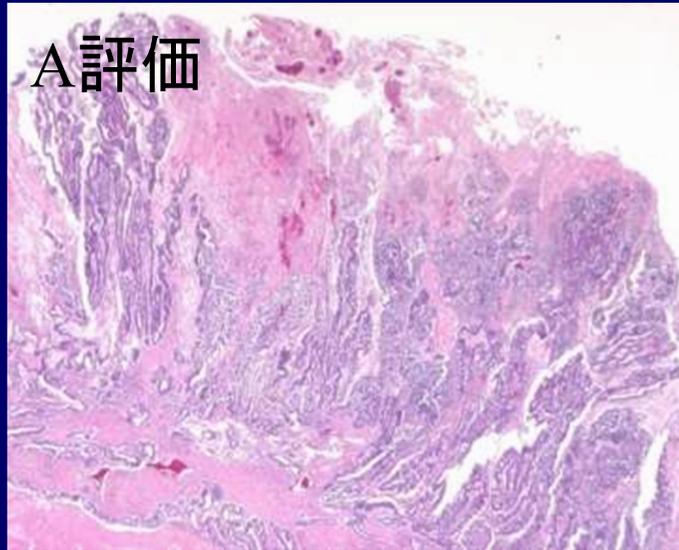
▶ エオジンの染色性 (5施設/41施設)



細胞質の染色性が弱く、細胞質の状態
(染色性や質感)などが観察しづらい。



病理染色標本評価(HE染色)



- ・用手法
- ・マイヤー15分
(分別なし)
- ・水溶性エオジン7分
(酸性添加物なし)

<コメント>

全体に小豆～茶色
染色手技,試薬管理等
の確認をお願いいたします.

病理染色標本評價表 (HE染色)

総合評価

施設数[41施設]

点数分布(41施設)

A 評価

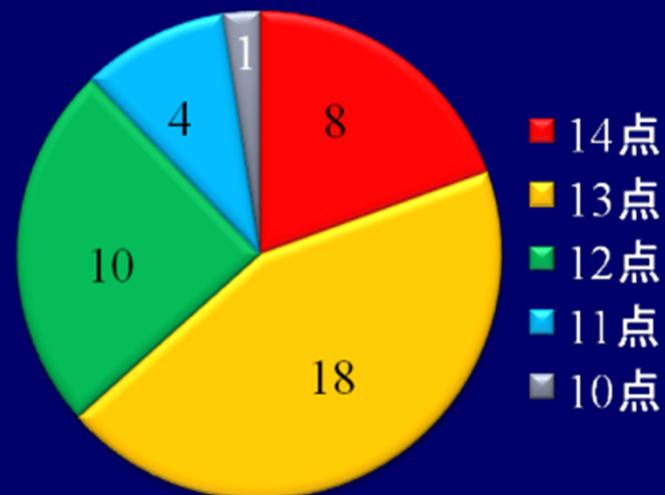
36 (87.8%)

B 評価

5 (12.2%)

C 評価

0 (0.0%)

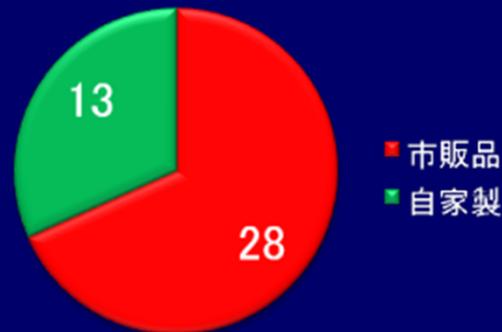


HE染色アンケート結果①

染色方法について



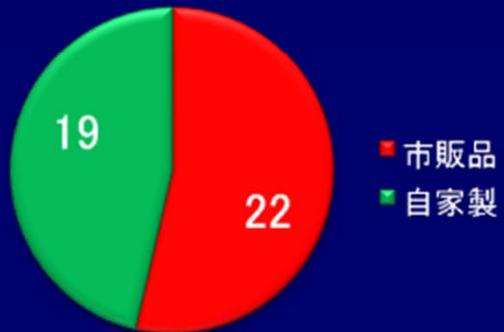
使用ヘマトキシリンについて①



使用ヘマトキシリンについて②



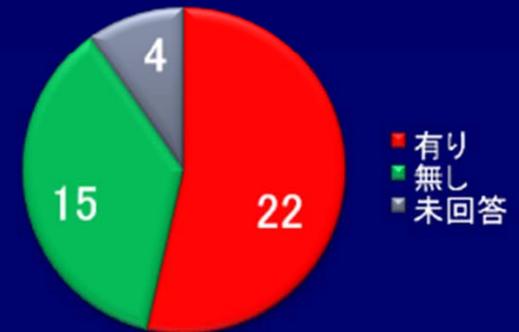
使用エオジンについて①



使用エオジンについて②



酸性添加剤の有無



HE染色アンケート結果②

<染色操作のポイントや工夫>

- ・解剖例の標本だったためヘマトキシリンの染色性が悪く,通常よりも長めに核染色を行った.
- ・色だしはお湯で行う.染色液は半分捨てて,半分注ぎ足す.
AL,キシレン系列は,一層/日交換する.
- ・水溶性エオジンを使用しているため,エオジン後の70%,95%での分別の際は,エオジンの落とし過ぎや分別不足に注意を要する.
- ・核染色では,核内構造が確認出来ることを第一に染色をしています.
鏡検を行いながら分別を行い,被りが無いように確認をしています.
後染色では,核に被らないことを念頭に全体のコントラストに留意しながら鏡検確認を行いました.
- ・今年から自動染色機を使用している.用手法のようにファジーな調整はできないため,毎日コントロール切片を一緒に染め,内部精度管理を行っている.

病理染色標本評価表

(標本A:EVG染色)

EVG染色	配点
スライドガラスの汚れ	2
染色むら	2
共染の有無	2
切片の剥離	2
弾性線維の染色性	2
筋・膠原線維の染色性	2
核と細胞質の染色性	2
合計	14

病理染色標本評価表 (EVG染色)

総合評価	点数
A 評価	12～14
B 評価	7～11
C 評価	0～6

※但し目的である弾性線維の染色性が不可である場合は、他の項目の点数に係わらず、C評価とすることとした。

病理染色標本評価

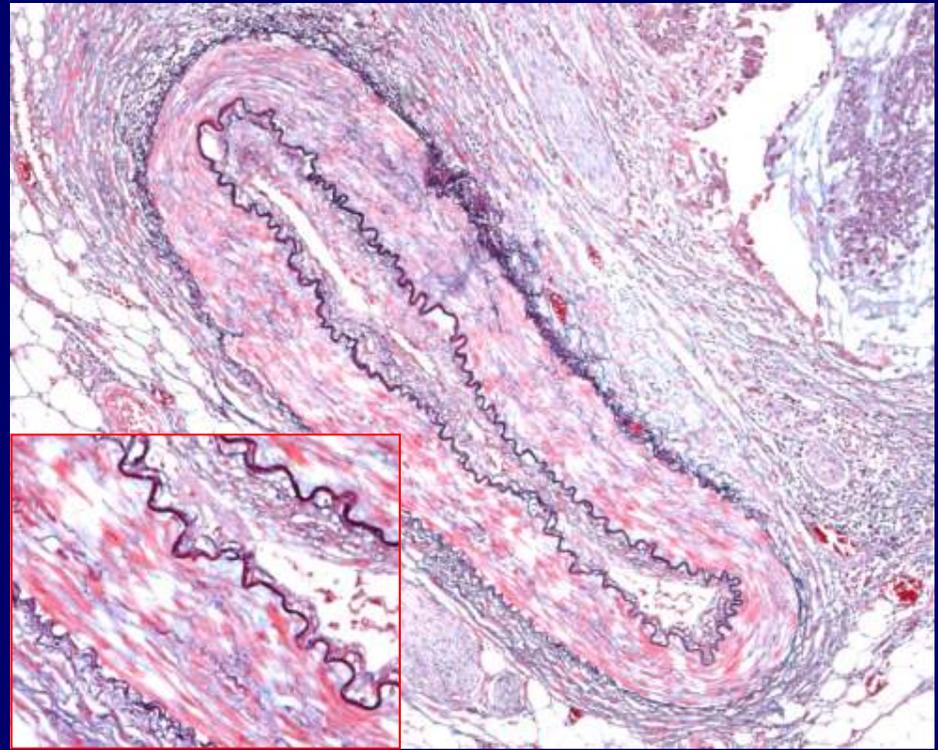
参加施設の弾性線維染色

EVG染色

EM(エラスチカ・マッソン)染色



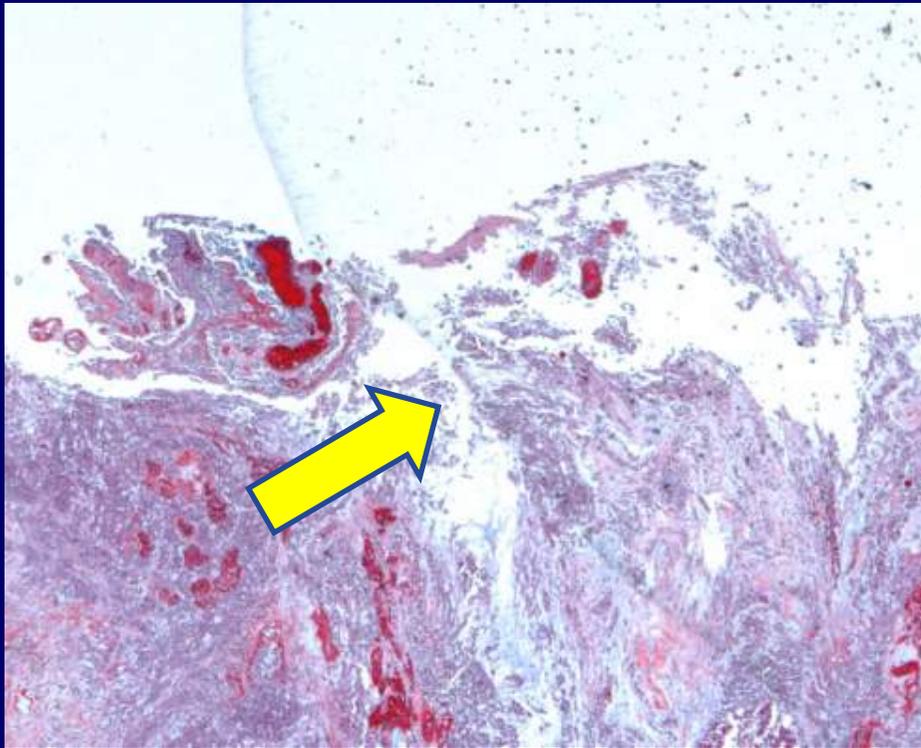
38 施設



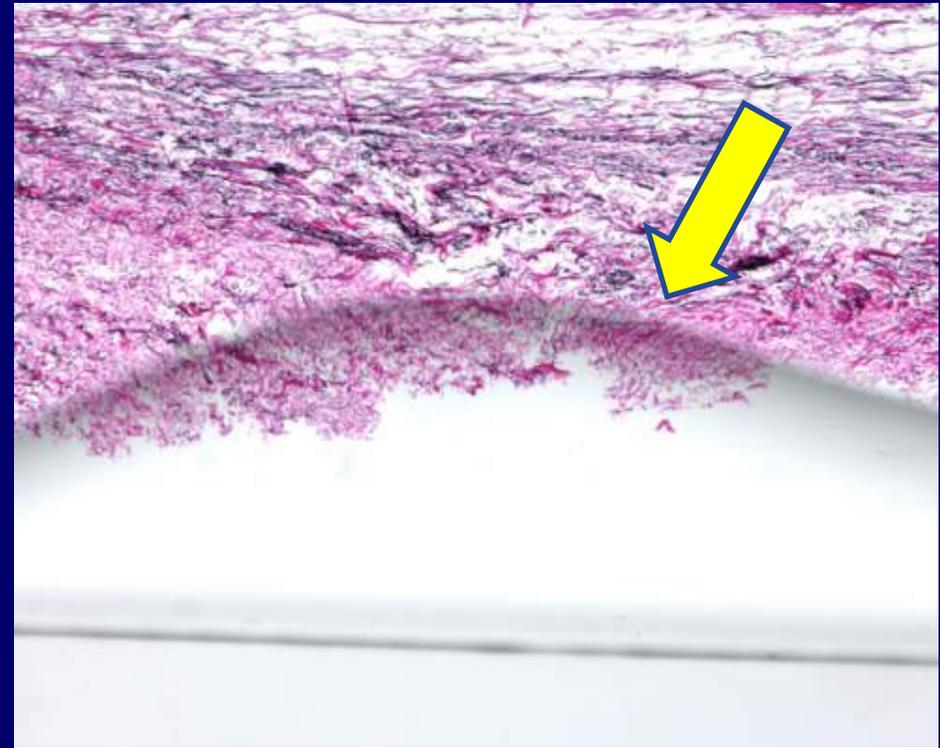
1 施設

病理染色標本評価(EVG染色)

▶ スライドガラスの汚れ (3施設/39施設)

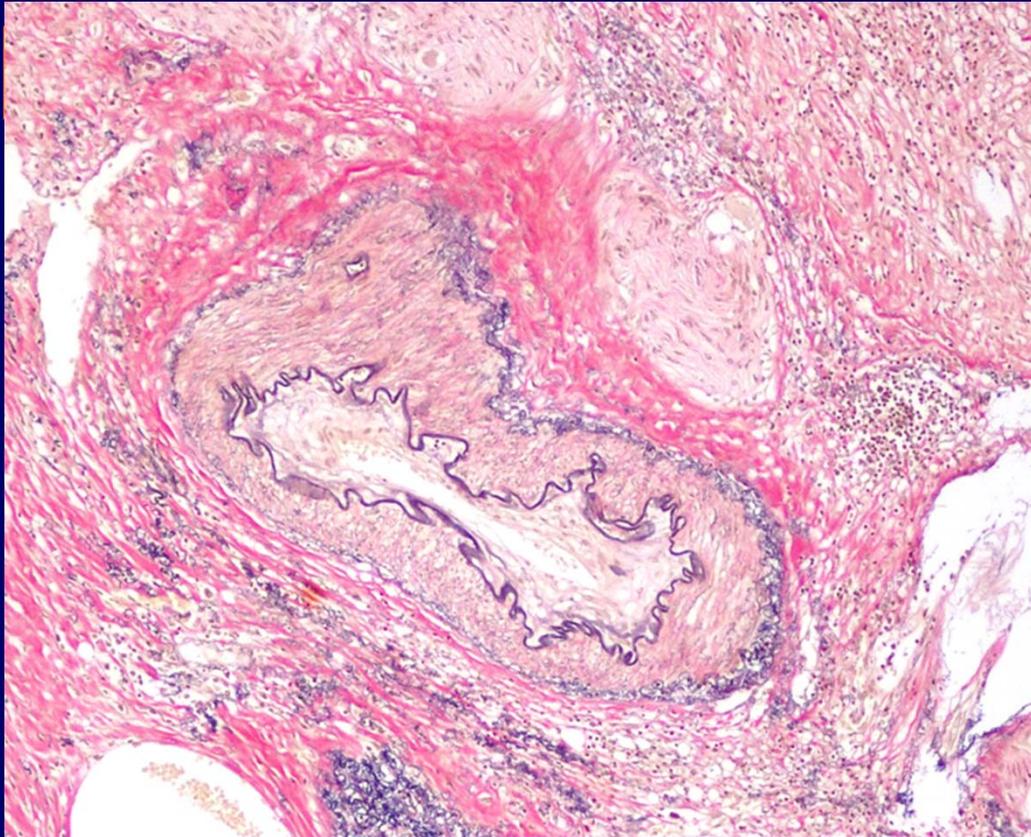


封入剤のはみ出しを認める



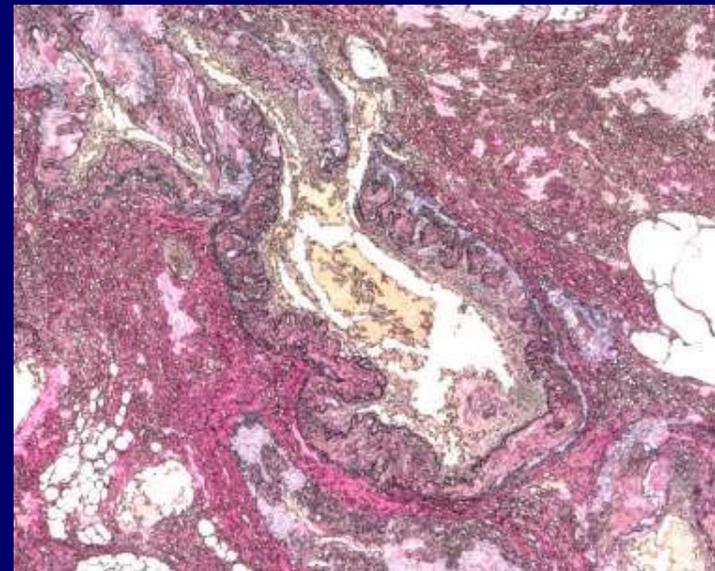
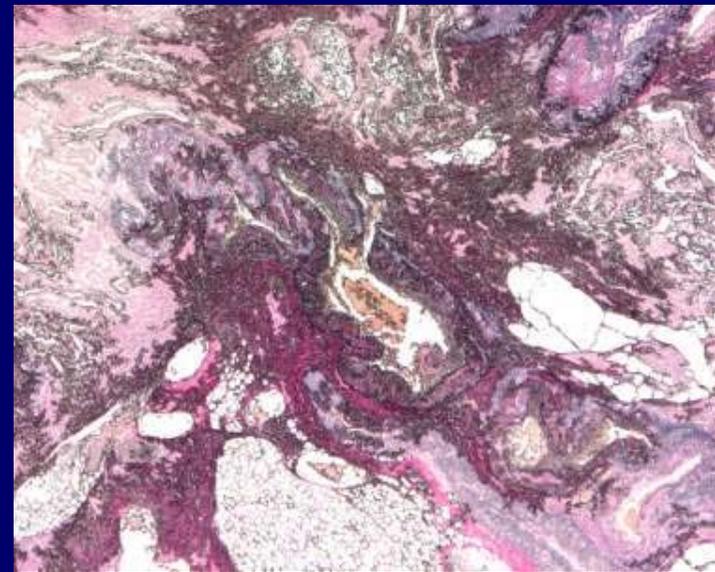
封入剤に気泡が見られる

病理染色標本評価(EVG染色)



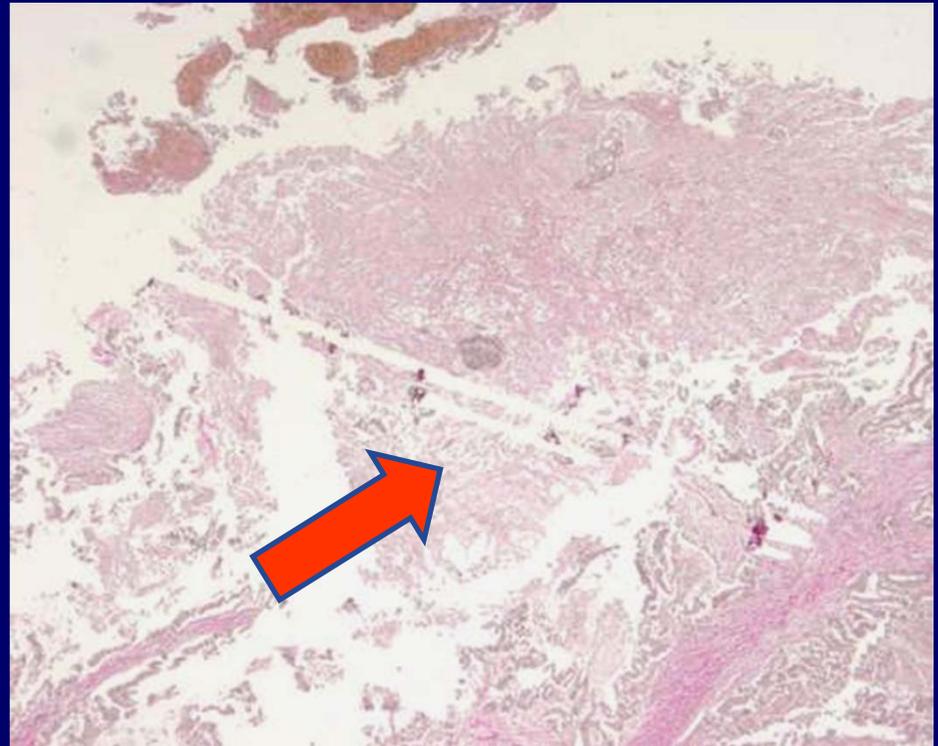
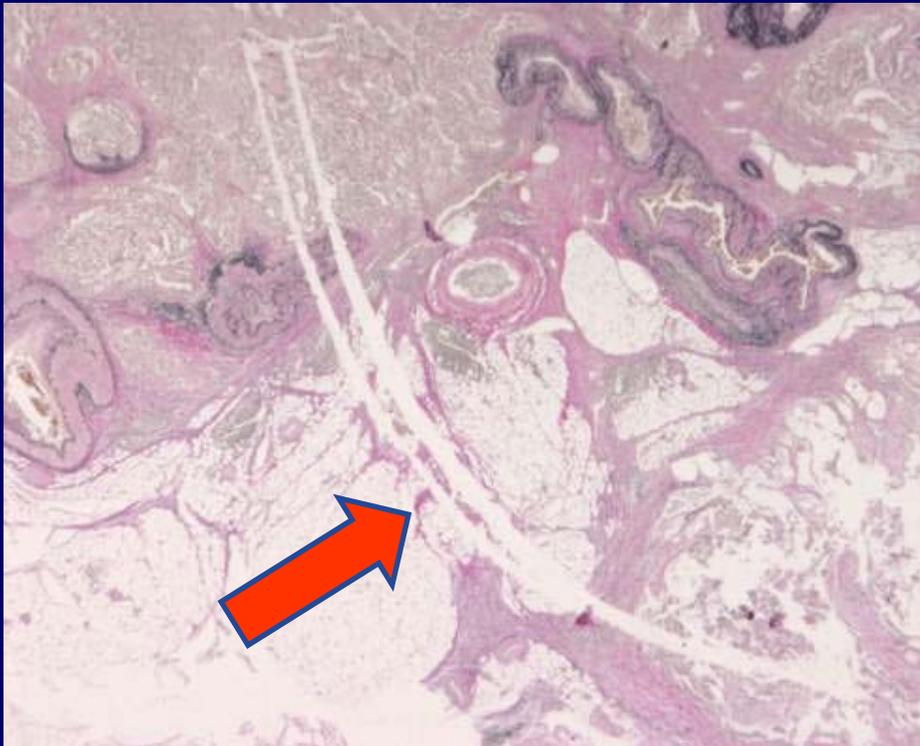
封入剤不足・多量の気泡のため
本来のEVG染色の色調ではない

➡ 二次サーベイの実施



病理染色標本評価(EVG染色)

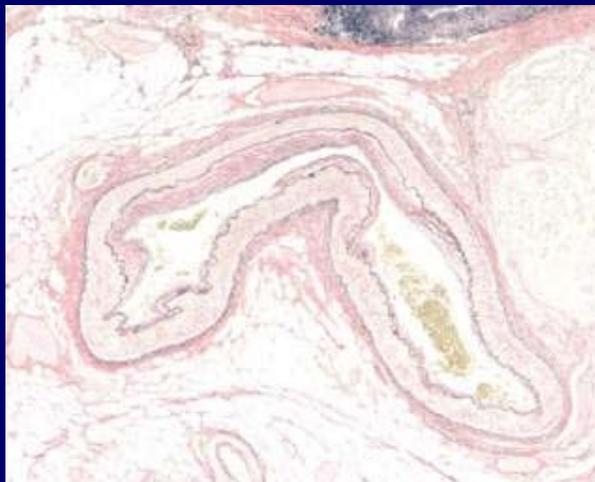
▶ 切片の傷 (1施設/39施設)



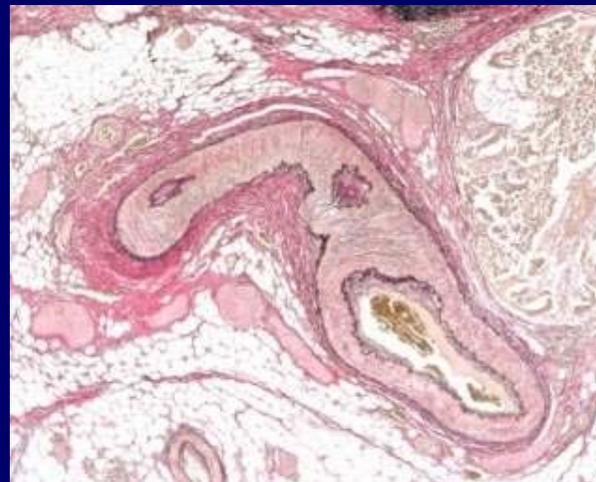
切片に数か所傷を認める

病理染色標本評価(EVG染色)

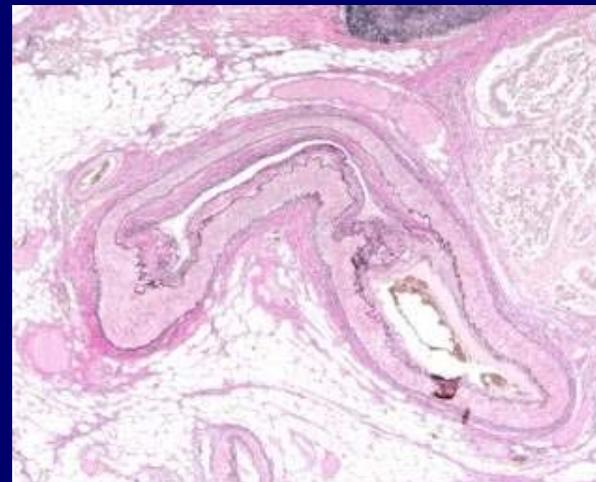
▶ 筋・膠原線維の染色性 (18施設/39施設)



酸フクシンが弱い
(11施設/39施設)



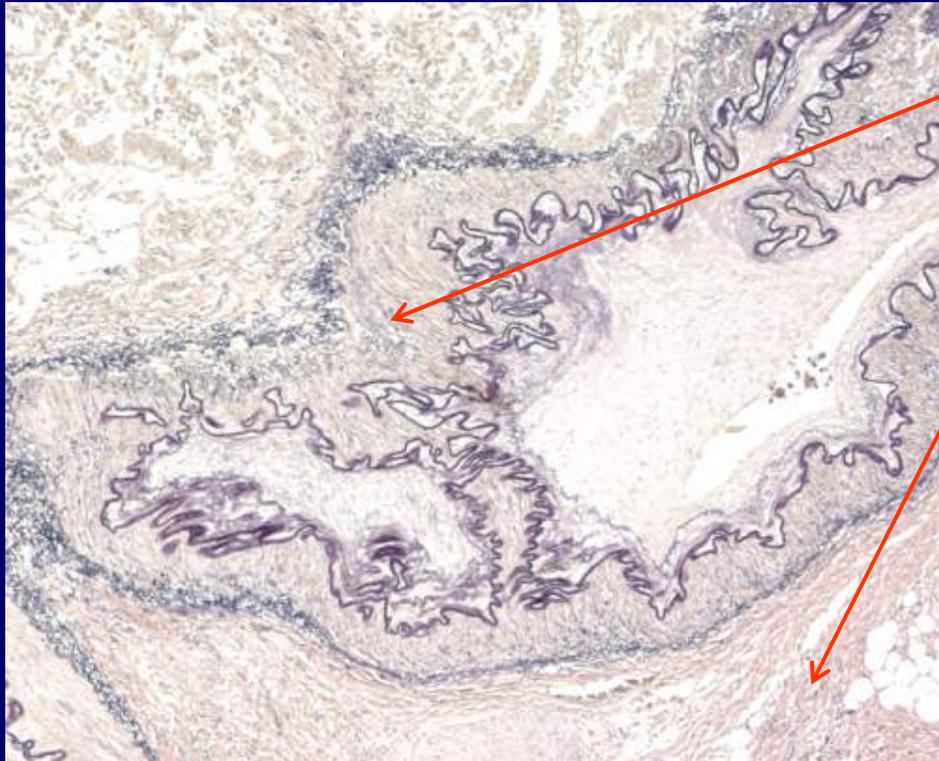
良好



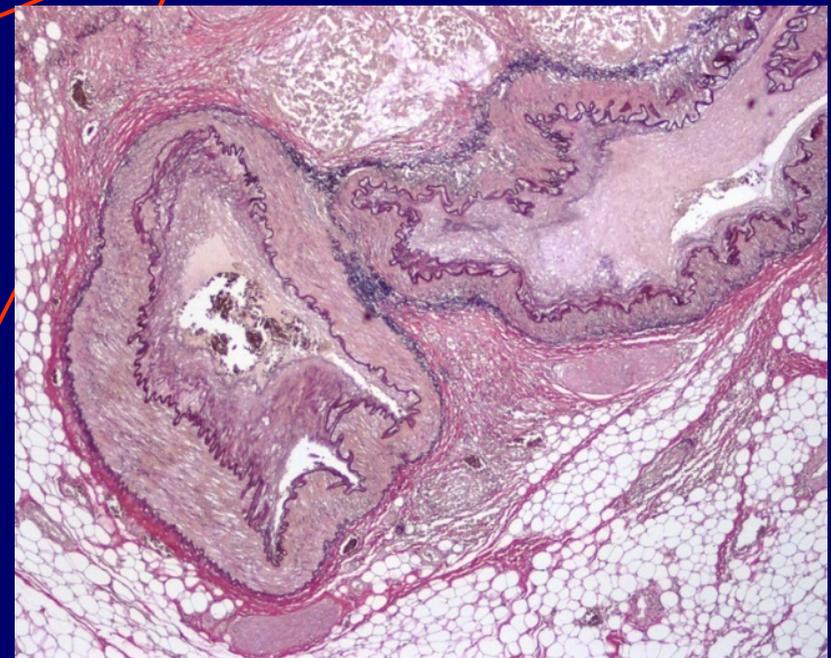
ピクリン酸が弱い
(7施設/39施設)

病理染色標本評価(EVG染色)

▶ 「筋・膠原線維の染色性」にて評価 0



酸フクシンが非常に弱い



・全体的に黄土色で、ワンギーソン液の染色性が非常に悪い

➡ 二次サーベイの実施

<用手法>

週に1回程度

前田変法レゾルシンフクシン 60分

自家製鉄ヘマトキシリン 15分

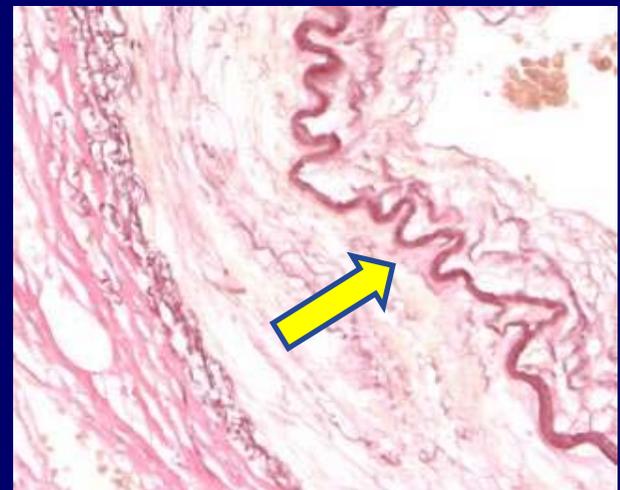
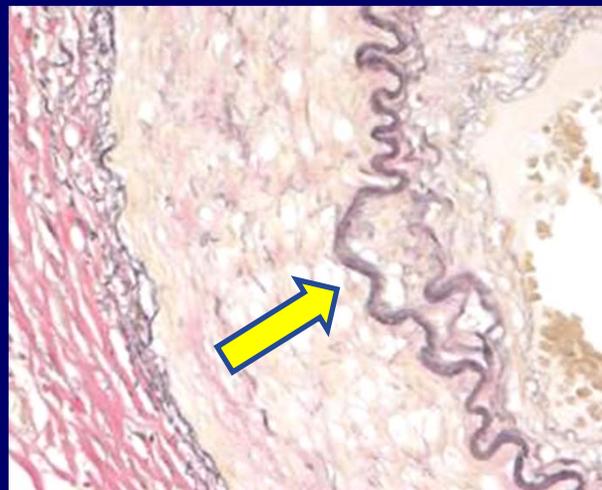
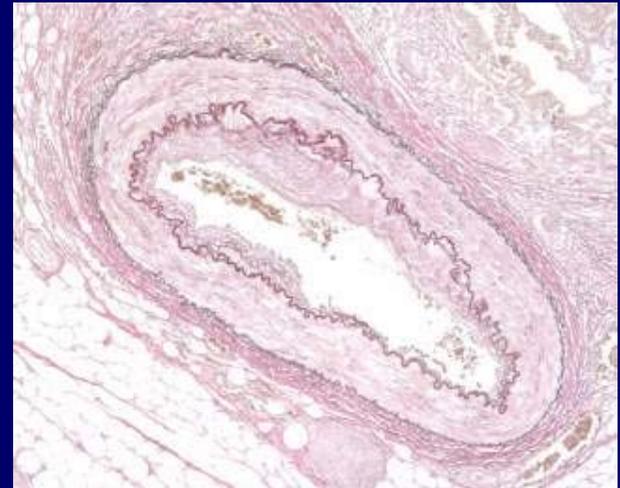
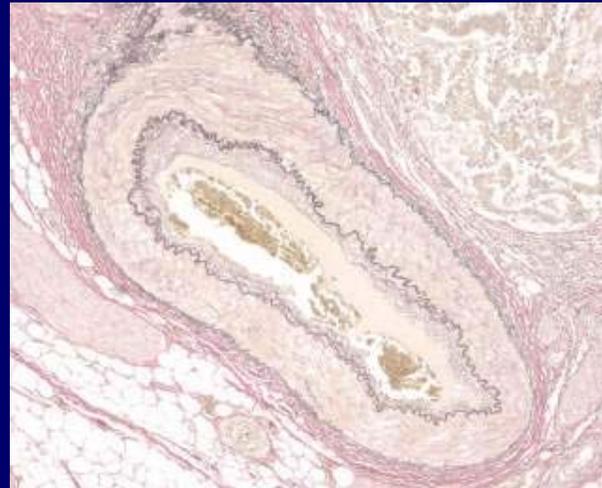
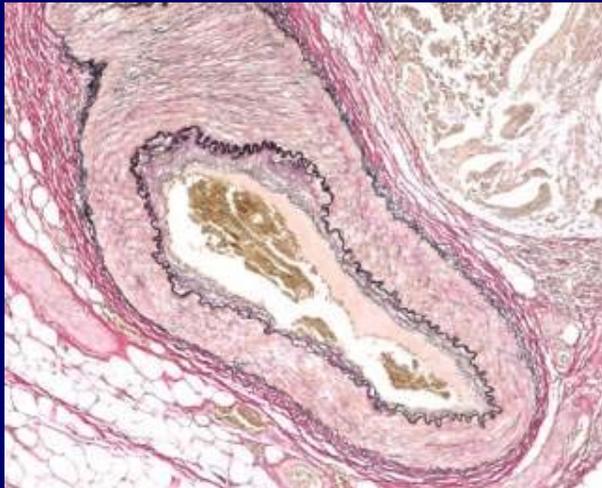
自家製ピクリン酸+酸フクシン 1分

病理染色標本評価(EVG染色)

▶ 弾性線維の染色性 (3施設/39施設)

A評価

薄い



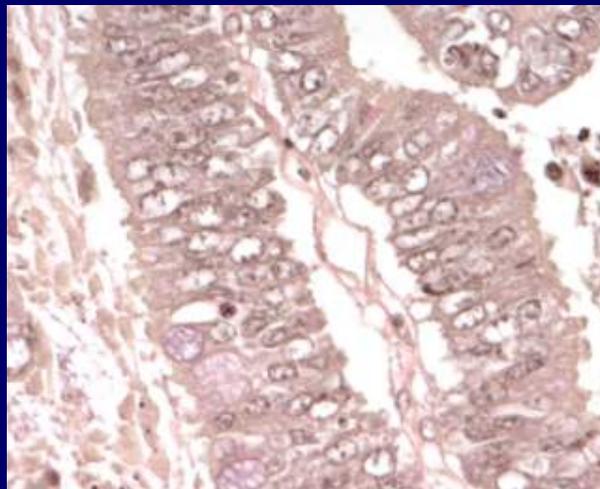
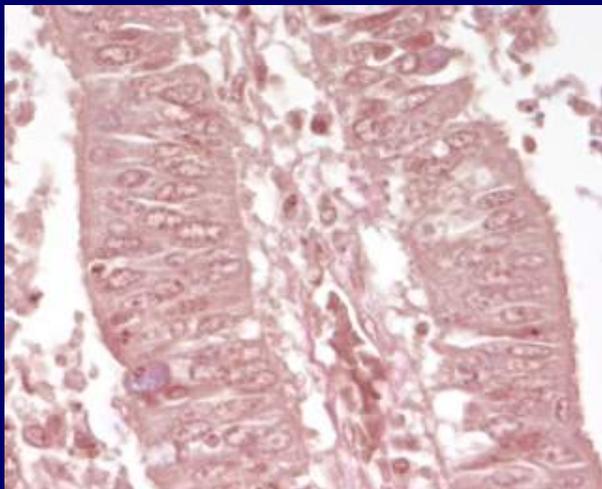
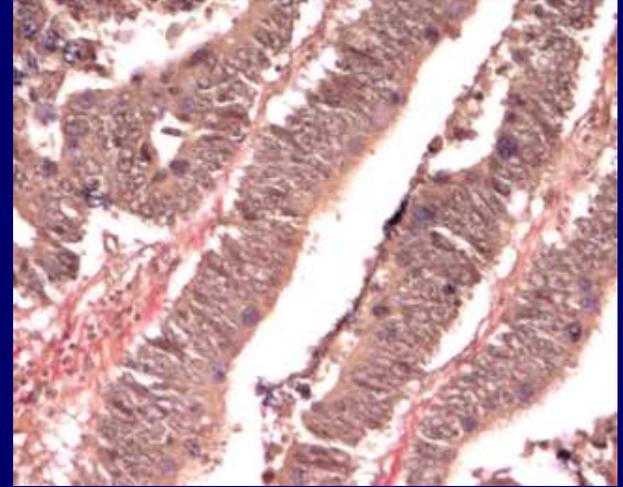
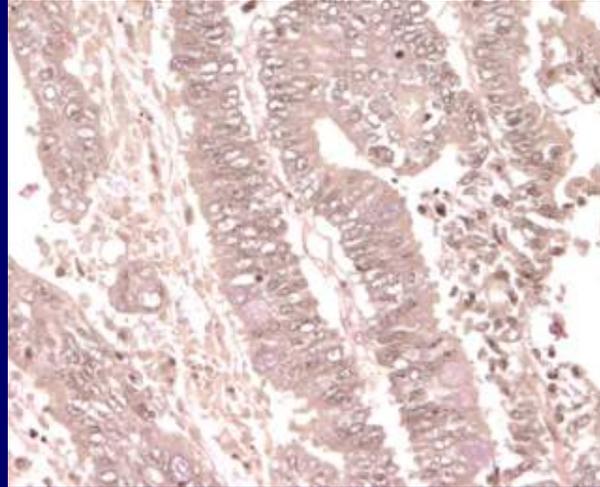
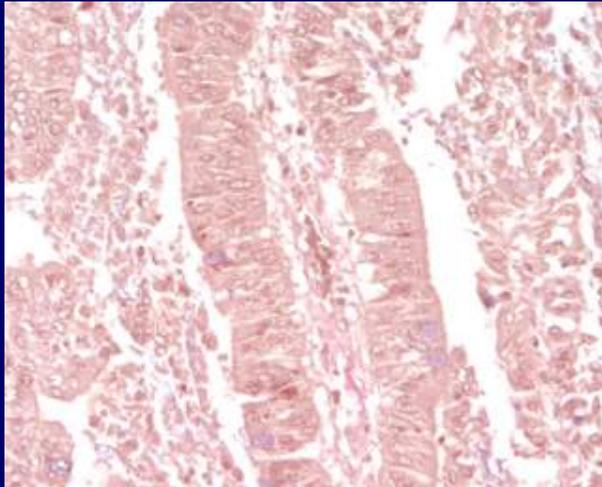
病理染色標本評価(EVG染色)

▶ 核・細胞質の染色性 (6施設/39施設)

弱い

A評価

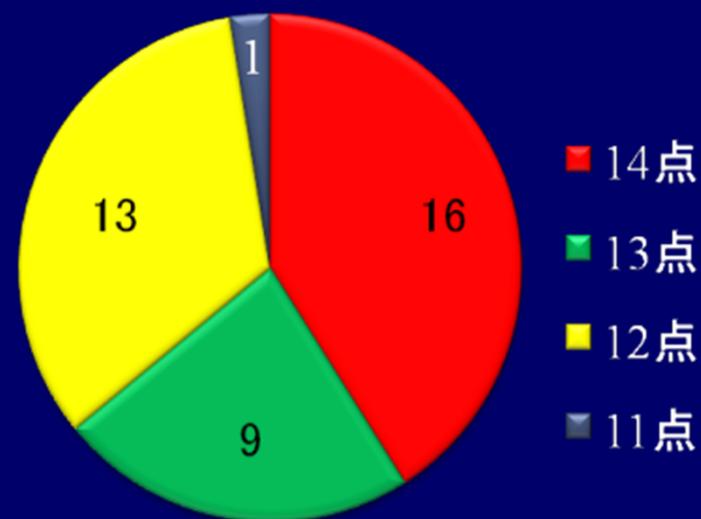
強く共染



病理染色標本評価表 (EVG染色)

総合評価	施設数[39施設]
A 評価	38 (97.4%)
B 評価	1 (0.6%)
C 評価	0 (0.0%)

点数分布(39施設)



* EMを含む

* 二次サーベイ実施の施設に関しては再評価を行い最終結果とした。

EVG染色アンケート結果①

染色方法について



レゾルシン・フクシン液について



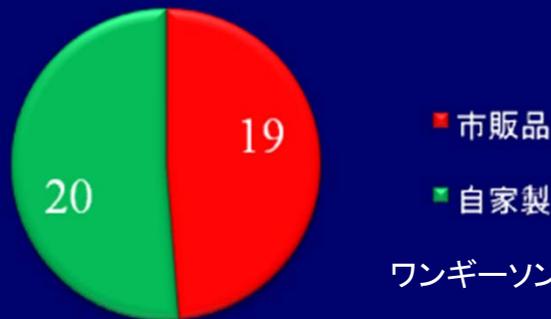
前田変法レゾルシンフクシン

核染色について



鉄ヘマトキシリン

ワンギーソン液について①



ワンギーソンA/B液

ワンギーソン液について②



EVG染色アンケート結果②

<染色操作のポイントや工夫>

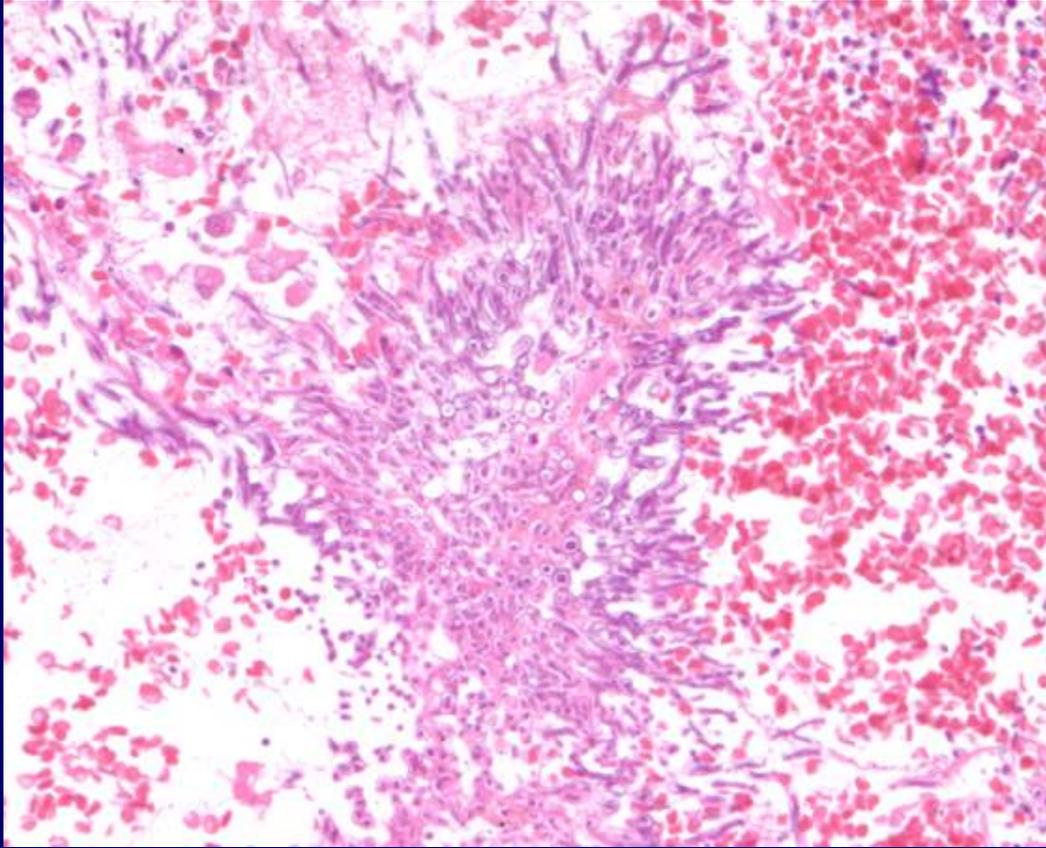
- ・HE標本に比べ,若干厚めに薄切を行う.
- ・レゾルシン・フクシンで弾性線維をしっかりと染色を行いました.細胞質にかぶってしまう傾向がある為,分別操作において弾性線維の染色性を損なわないように十分注意をし,鏡検を行いながら細胞質への被りを最小限に抑えるよう努めました.後染色のワンギーソンについては,分別時に脱色されやすい為,鏡検を行いながら十分コントラストに留意しながら行いました.
- ・レゾルシンフクシンや鉄ヘマトキシリン後の分別不良や,分別しすぎないように気をつける.また色のコントラストがでるようにワンギーソン液の調整を心がける.
- ・ピクリン酸は脱色が早いので脱水、透徹も手作業で行っています。

標本Aまとめ

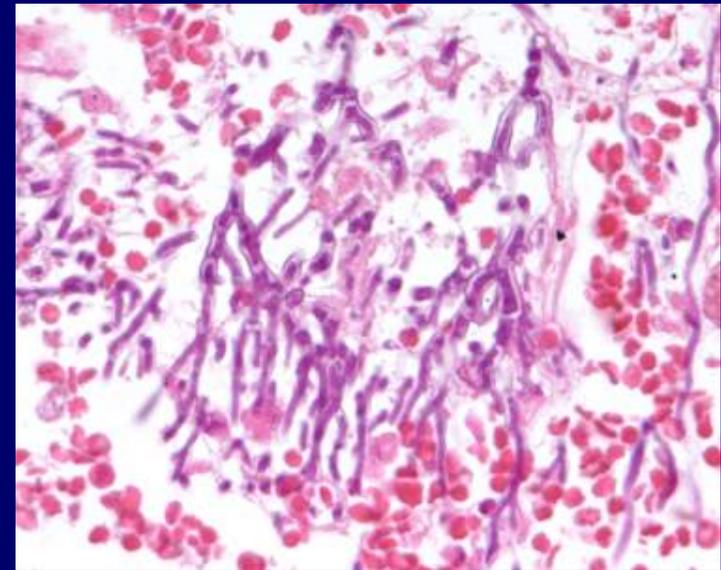
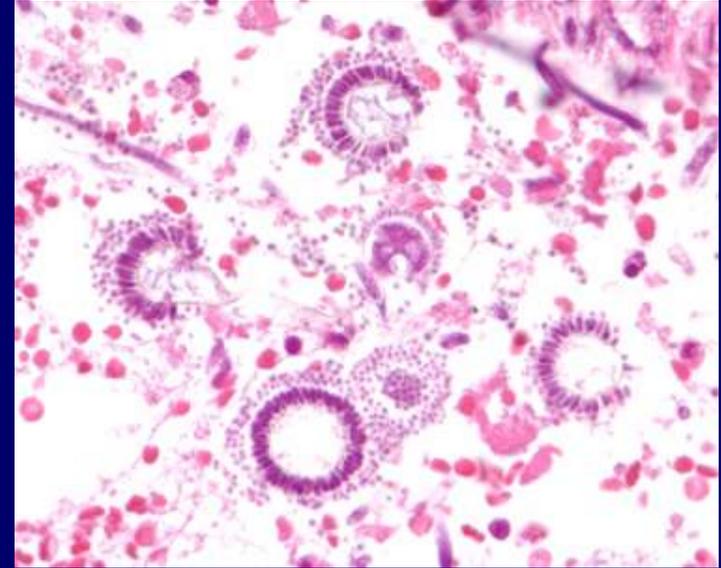
標本 A	A 評価	B 評価	C 評価
HE染色 (41施設)	36 (87.8%)	5 (12.2%)	0
EVG染色 (39施設)	38 (97.4%)	1 (2.6%)	0

- ・全体的には良好な結果であった。
- ・薄切標本が「薄い」との指摘が多くあった。
- ・EVG染色のスライドガラスのよごれ、「筋・膠原線維の染色性」の評価項目において0点と判断された2施設には再度試料を送付し染色していただき再評価した。

精度管理検体：標本B【真菌感染症】



肺組織
真菌感染症



病理染色標本評価表

(標本B: 推定病変)

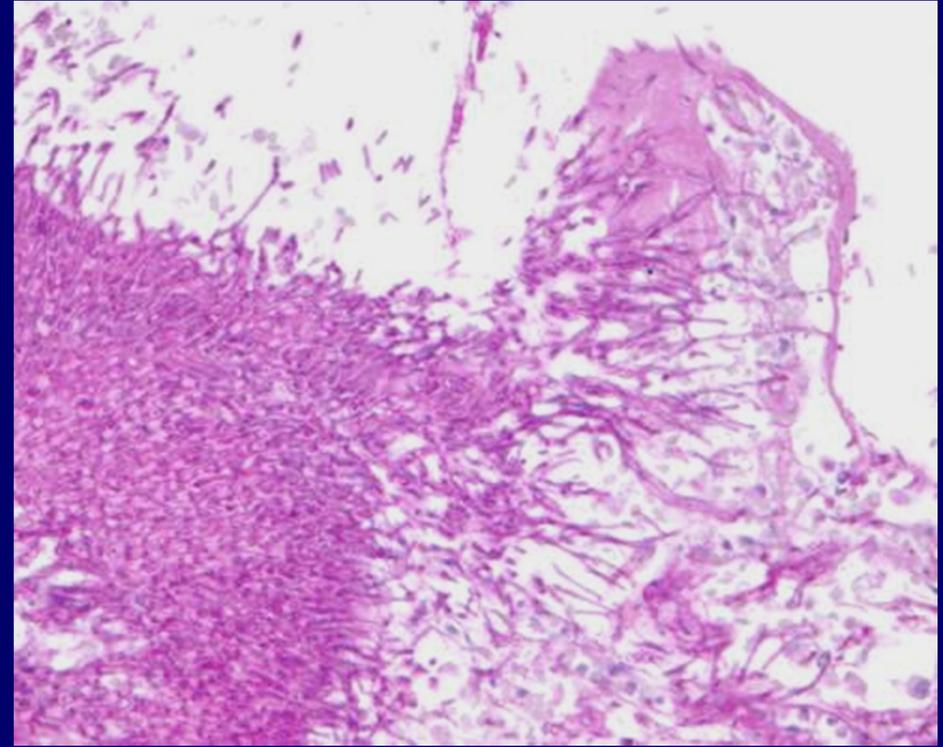
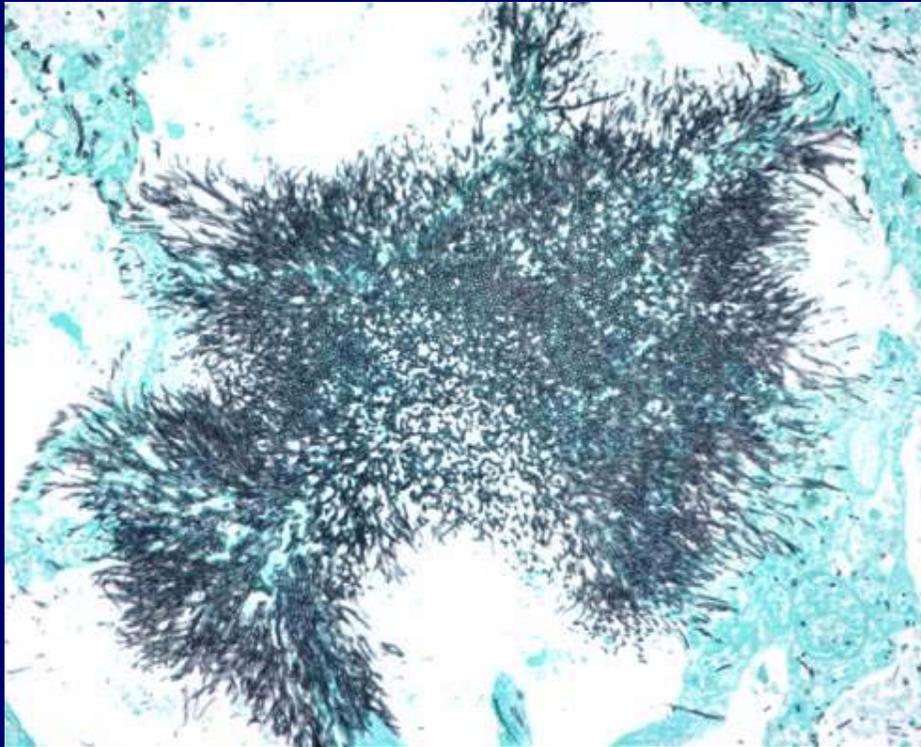
HE所見	評価
HE染色の所見より真菌感染症を推定し、適切な特殊染色を選択出来ている。	○ (41/41施設)
HE染色の所見より真菌感染症を推定できていない。もしくは、適切な特殊染色を選択出来ていない。	× (0/41施設)

病理染色標本評価(標本B)

参加施設の真菌染色

Grocott染色 33施設/41施設

PAS染色 29施設/41施設



* Ziehl-Neelsen染色 7施設

* Gram染色 1施設

病理染色標本分類表

(標本B: Grocott染色)

Grocott染色

菌体の染色は良好で共染がない

菌体の染色は良好だが弱い共染がある

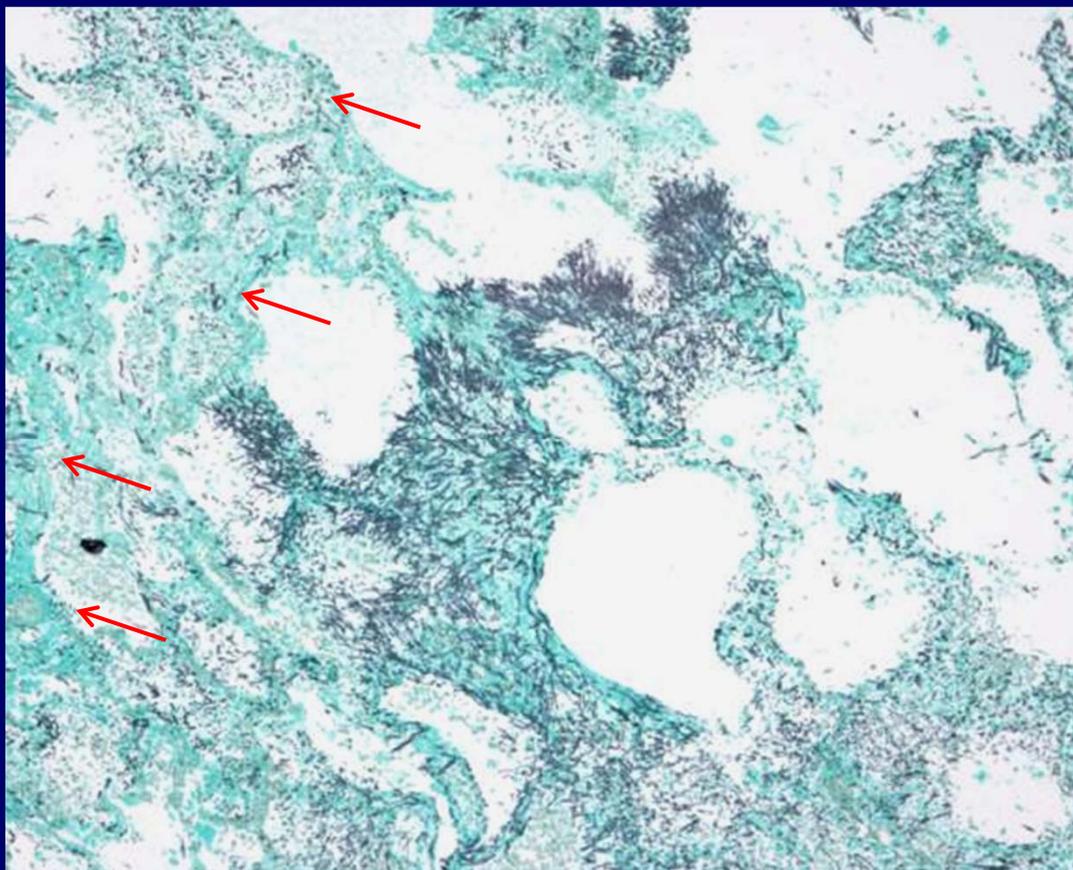
菌体の染色は良好だがやや強い共染がある

共染が強く菌体の観察が困難である

菌体の染色が弱く観察が困難である

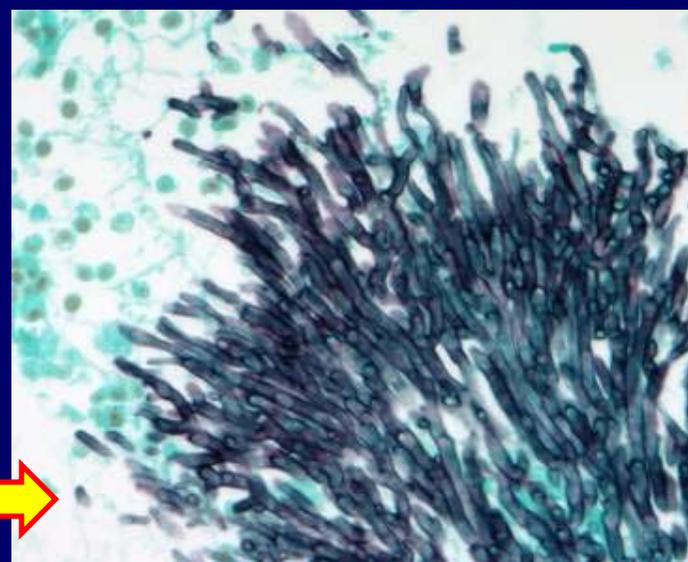
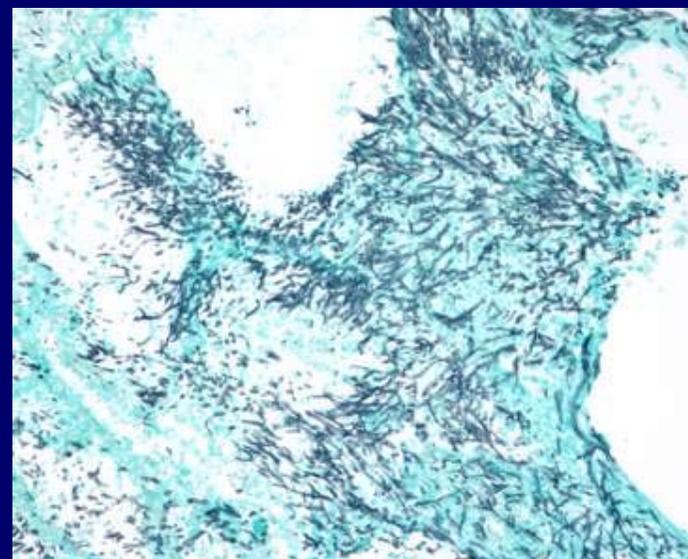
病理染色標本評価(Grocott染色)

▶ 菌体の染色は良好で共染がない (14施設/33施設)



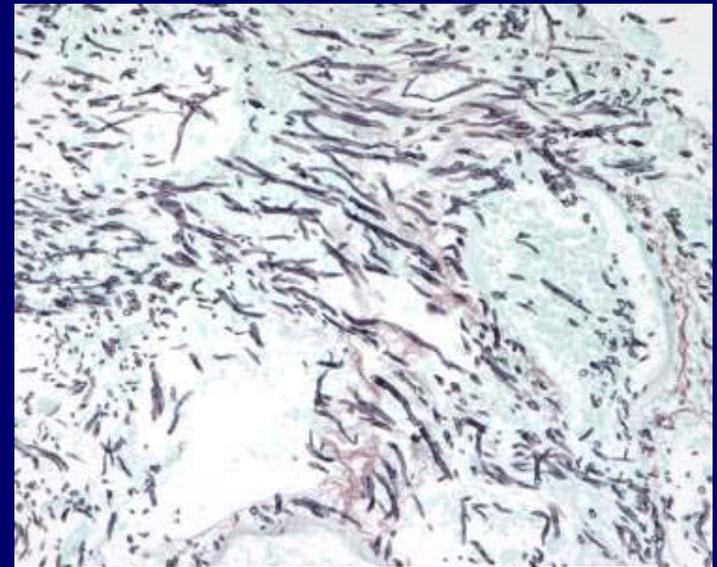
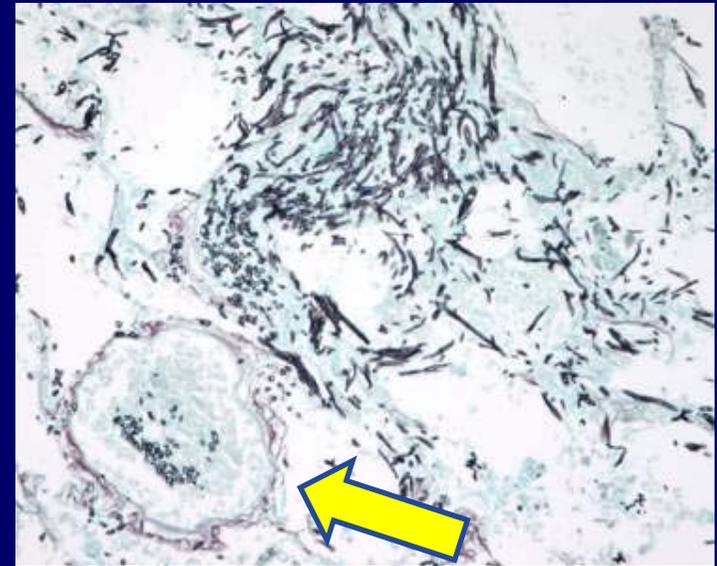
膠原線維などに共染は見られない

中空状の菌糸, Y字状分岐も明瞭に観察できる



病理染色標本評価(Grocott染色)

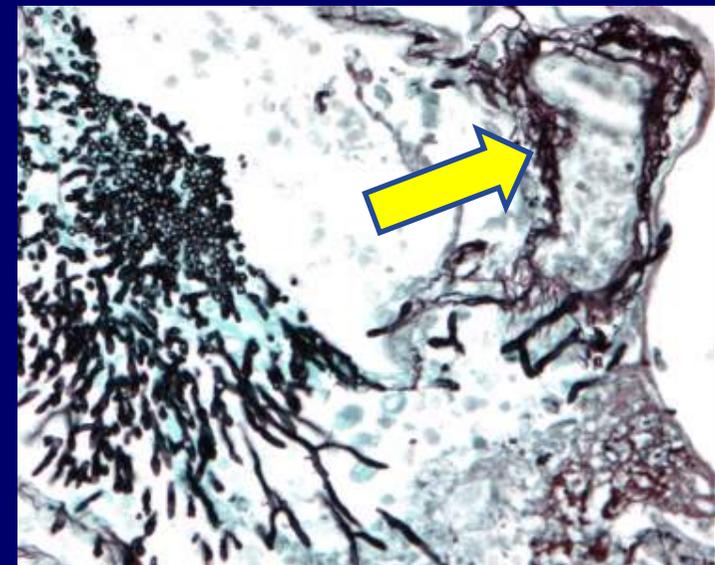
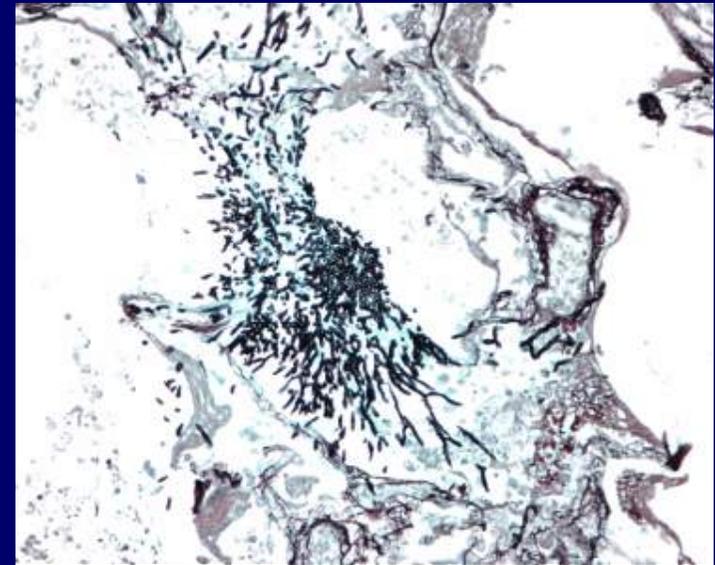
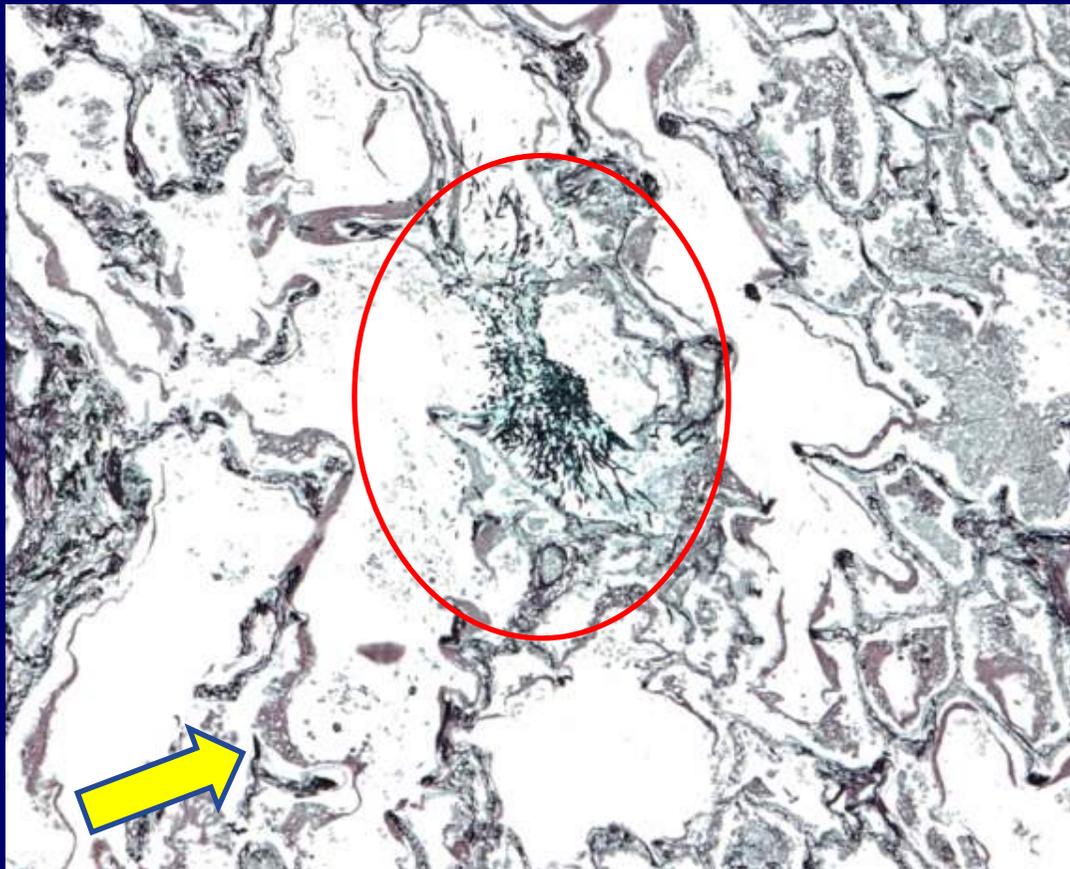
- ▶ 菌体の染色は良好だが弱い共染がある (9施設/33施設)



結合組織に弱い共染を認める

病理染色標本評価(Grocott染色)

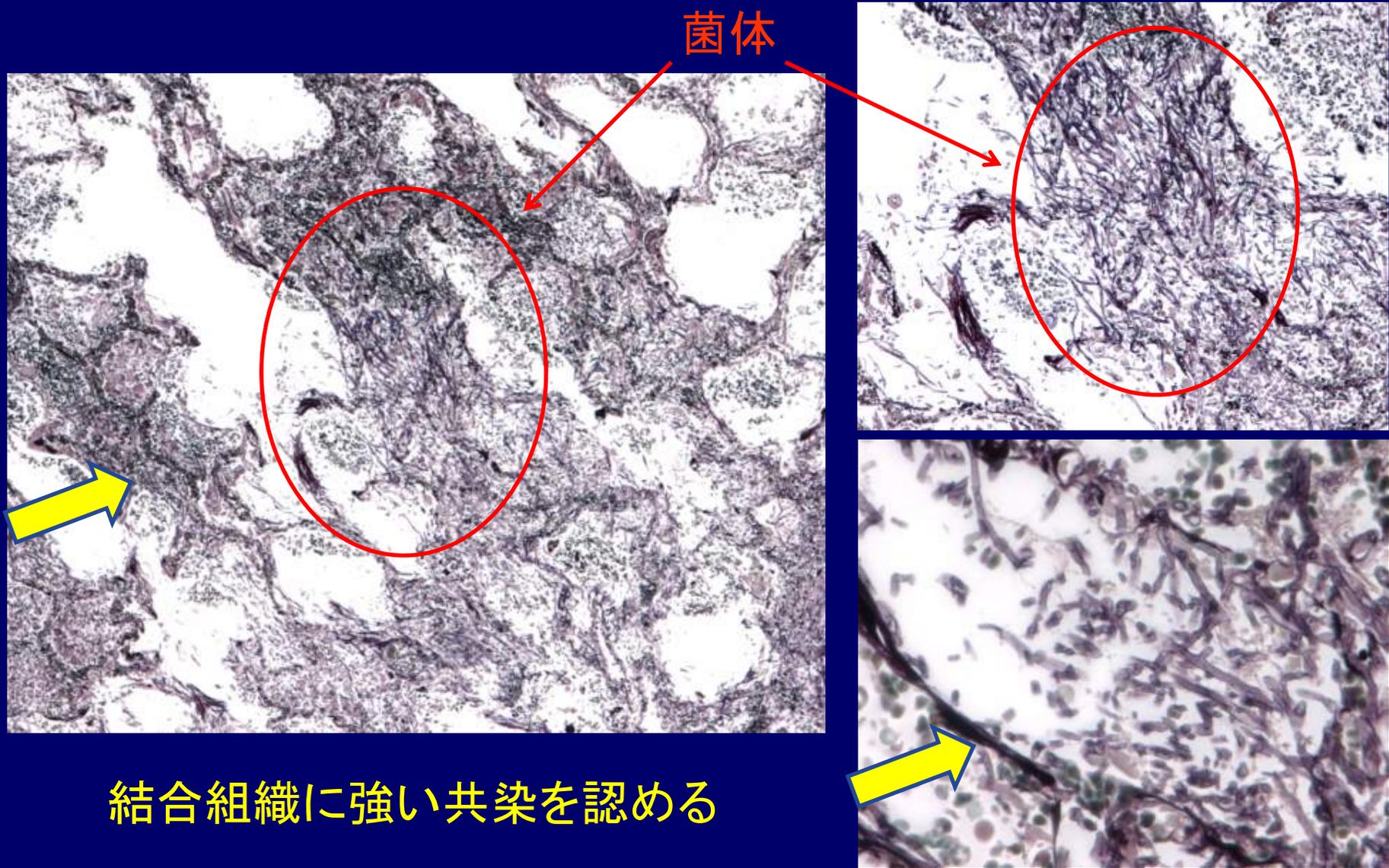
▶ 菌体の染色は良好だがやや強い共染がある (2施設/33施設)



結合組織にやや強い共染を認める

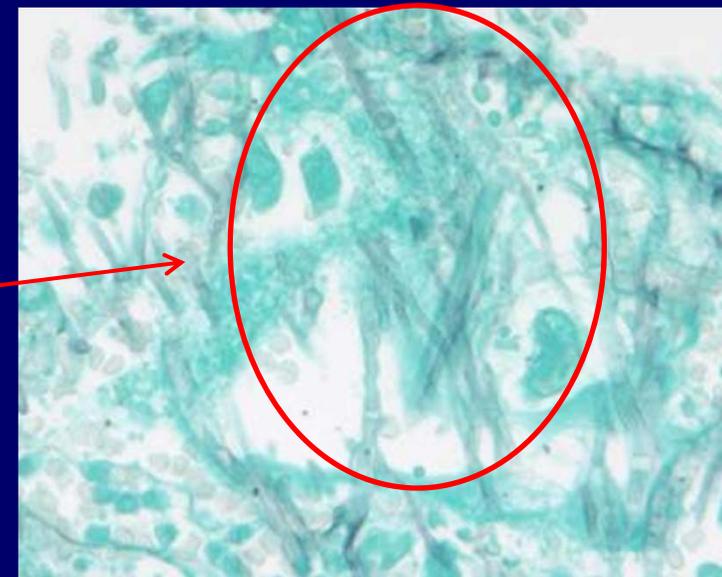
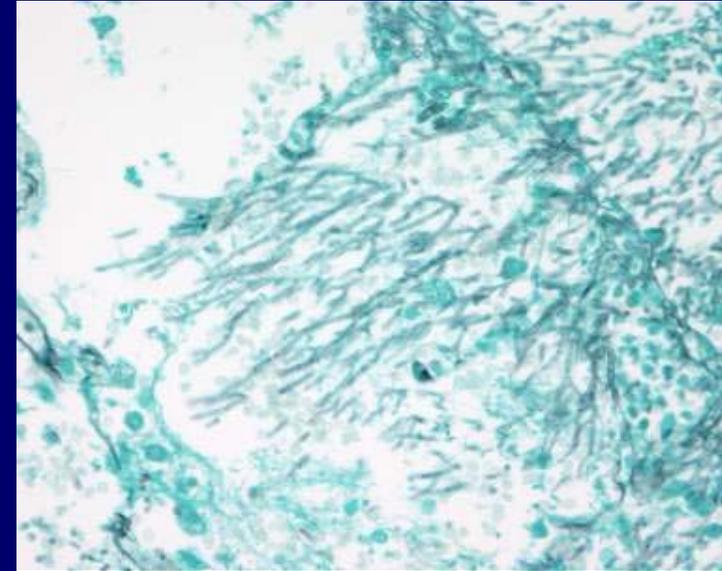
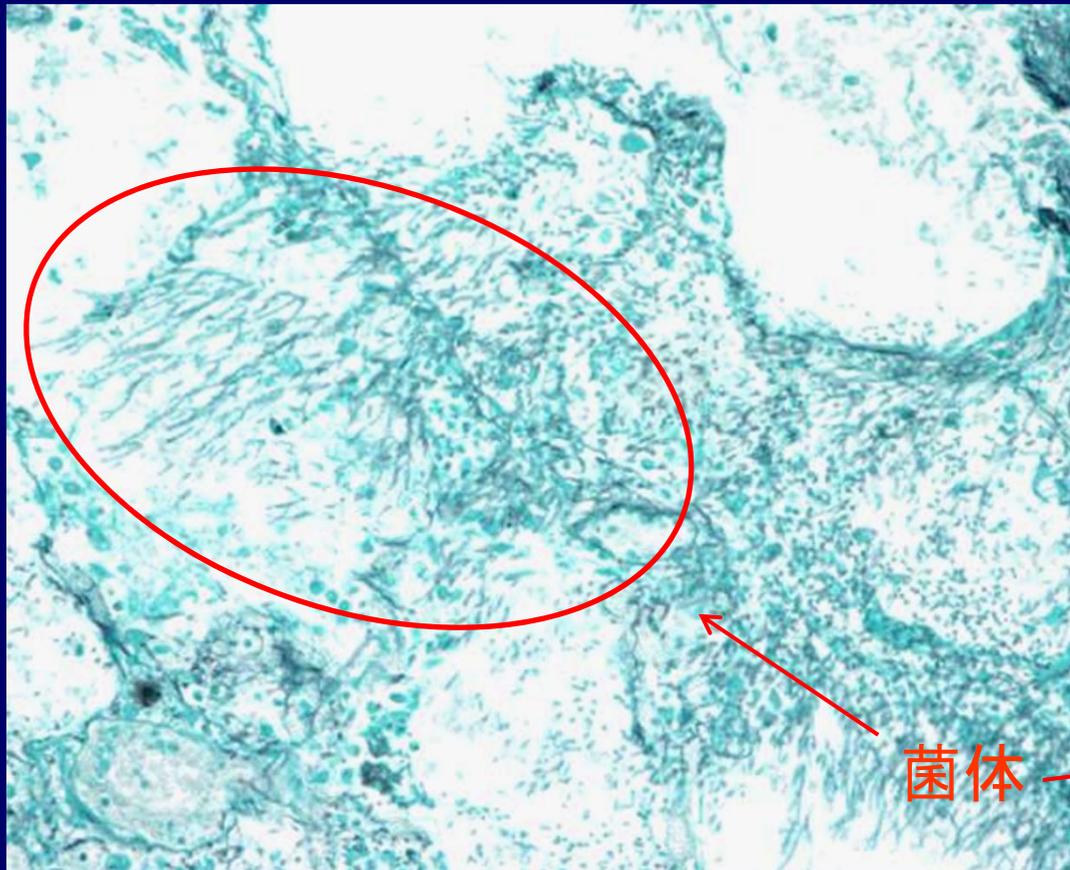
病理染色標本評価(Grocott染色)

▶ 共染が強く菌体の観察が困難である (5施設/33施設)



病理染色標本評価(Grocott染色)

▶ 菌体の染色が弱く観察が困難である (3施設/33施設)



菌体が染色されていないため低倍率で観察しづらい

病理染色標本分類表(Grocott染色)

分類	施設数(33施設)
菌体の染色は良好で共染がない	14
菌体の染色は良好だが弱い共染がある	9
菌体の染色は良好だがやや強い共染がある	2
共染が強く菌体の観察が困難である	5
菌体の染色が弱く観察が困難である	3

<標本Bまとめ>

- ・41施設全てが真菌感染症を推定し適切な染色を回答できていた.
- ・後染色(ライトグリーン)が薄い施設が多く見られた.
- ・やや強い共染,共染が強く観察困難,染色が弱く観察困難
となった標本に関しては,染色手技等の改善が必要と考える.

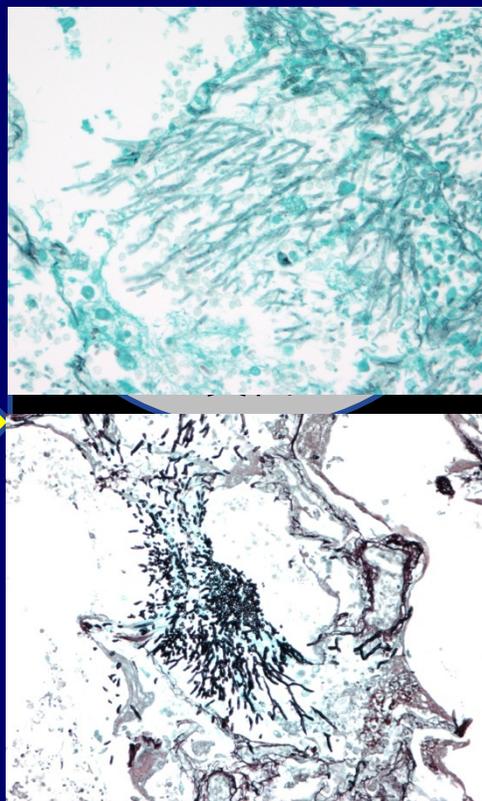
補足・・・Grocott染色(酸化反応)について

-OH -OH
-OH -OH -OH
-OH -OH -OH
真菌

ヒドロキシル基

-OH -OH
-OH
結合組織

酸化



酸化

-CHO
-CHO -CHO

-COOH -COOH
-COOH
結合組織

銀はアルデヒド基と結合！！

<酸化不十分>
菌体は薄く結合組織に
共染が見られる

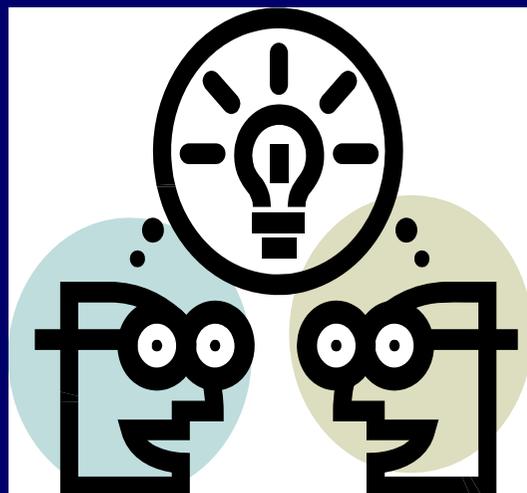


総括

今年度の千臨技精度管理は、参加施設のご努力により良好な結果でありました。病理組織標本については、統一した評価方法や標準法の設定が困難であると考えますが、今後も継続して良い標本を作製することを心がけていただきたい。

また、研究班においても参加施設のニーズに答えられる精度管理を目指していきたい。

さいごに……



研修会や精度管理等,活動内容
についてのご意見・ご要望が
ございましたら,お気軽に
研究班委員までご連絡ください.

ご清聴ありがとうございました.