

H30年度精度管理報告会 血液部門

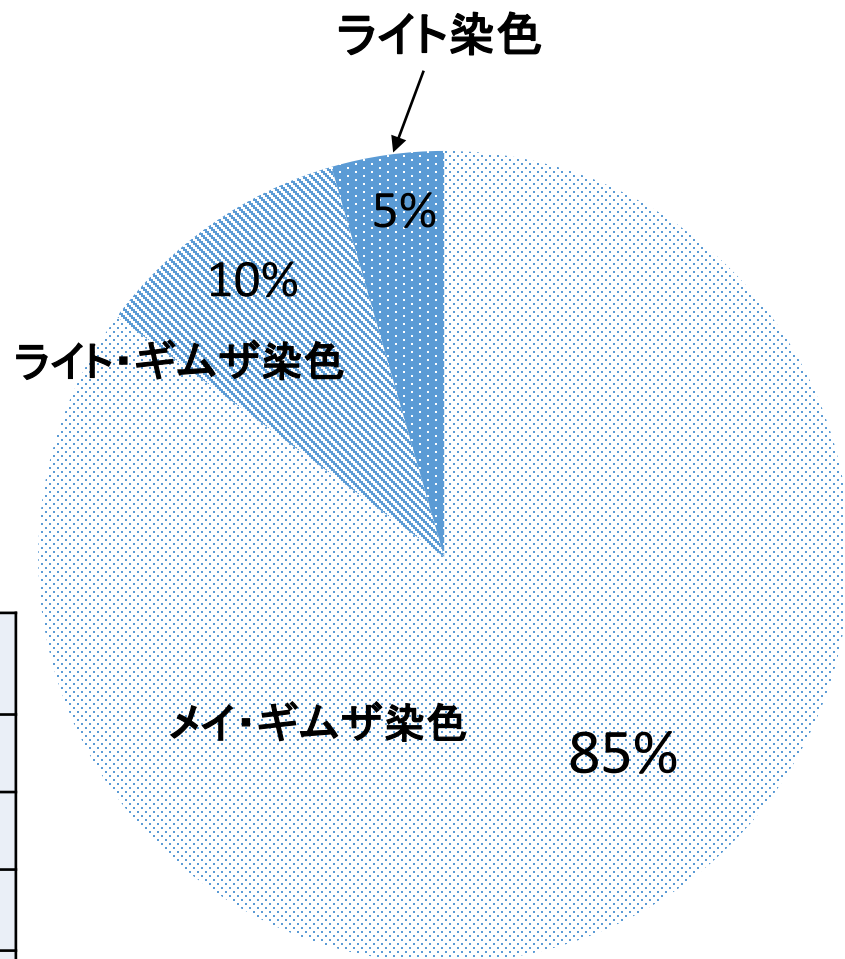
標本作製と染色

沼津市立病院 稲葉優香

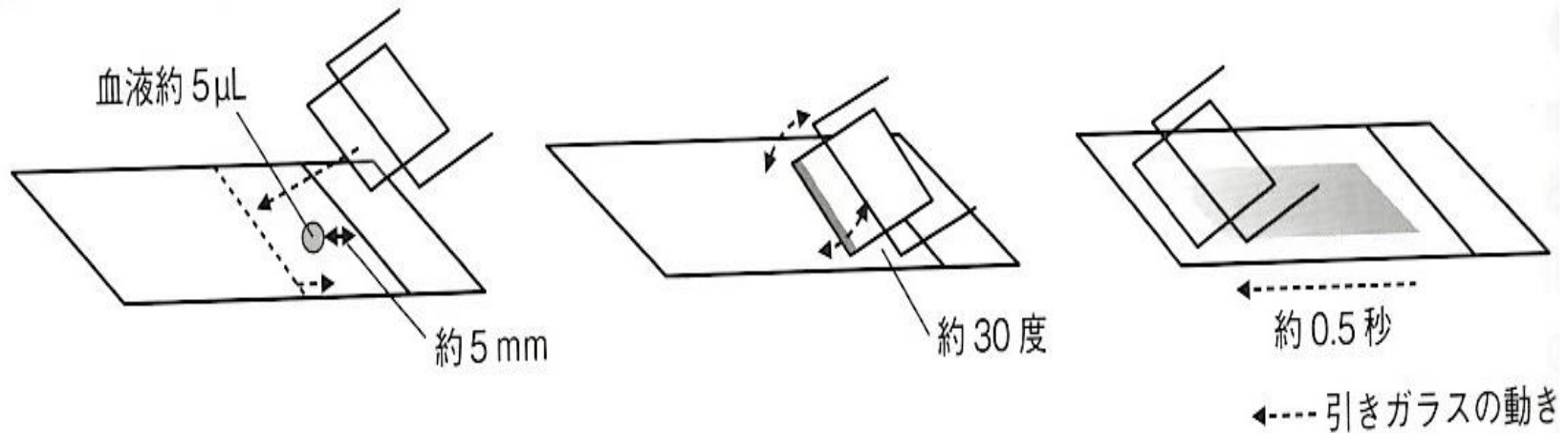
試料24

採血後、1日経過した正常域試料
血算測定後、各施設で血液塗抹
標本の作製と染色を行い、提出し
てもらった。

染色方法	施設数(H30年度)
メイ・ギムザ染色	57
ライト・ギムザ染色	7
ライト染色	3
回答なし	0
合計	67



末梢血塗抹標本の作製方法



すりガラス部分から
約5mmの短辺中央に、
転倒混和した血液
約5 μ L滴下する

引きガラスを載せ
血液を均等に広がらせ、
約30°の角度をたもつ

約0.5秒で引き終わるよう
に塗抹する。

血液塗抹標本作製

良好な塗抹標本を作ることが基本

良い塗抹標本とは

長さ・・・スライドガラスの $1/2 \sim 2/3$











厚さ・・・標本観察部位にて赤血球が密で重ならず1層

自然に引き終わる

標本の辺縁が直線

塗抹面に穴がない

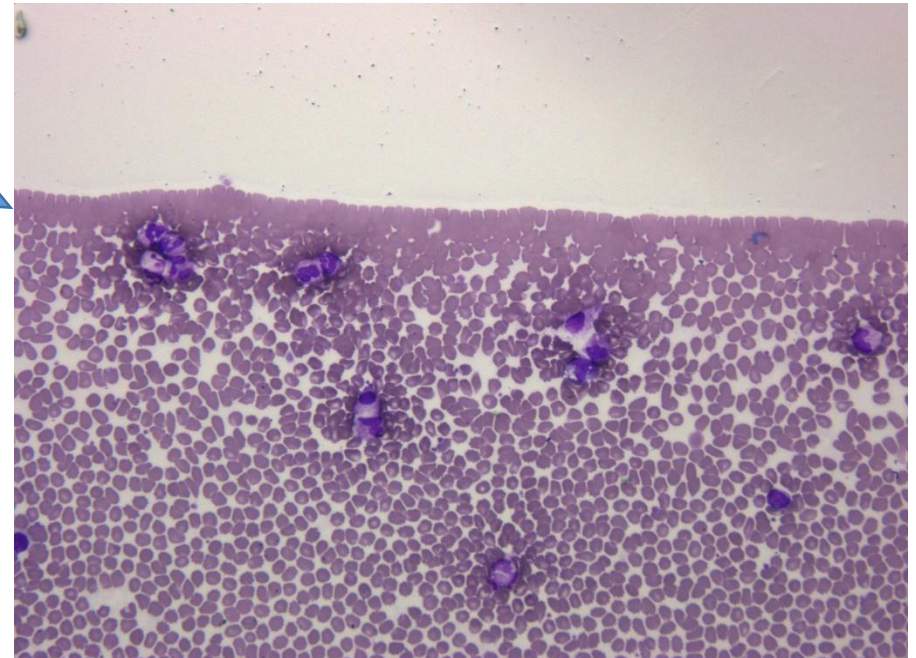
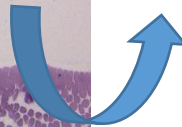
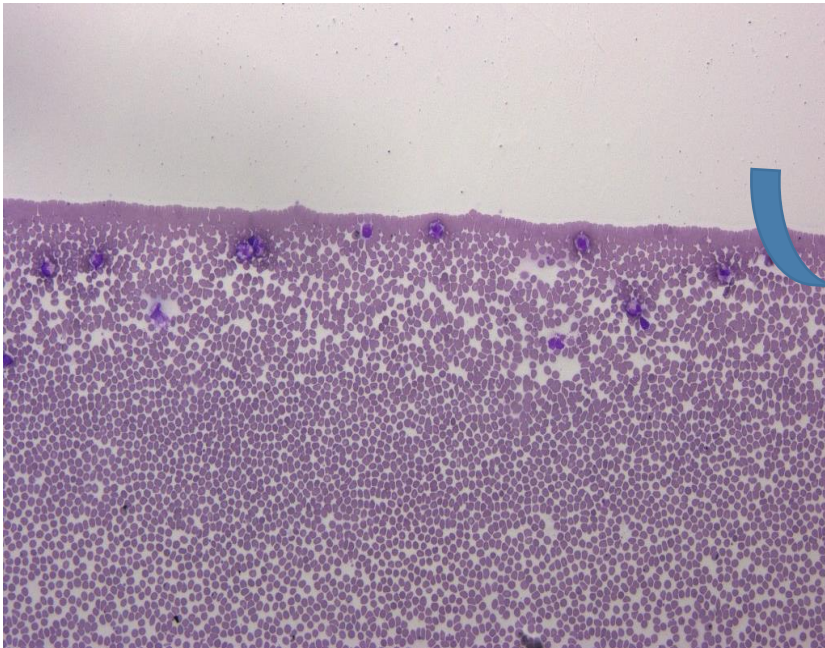
塗抹面に段や縞模様がない

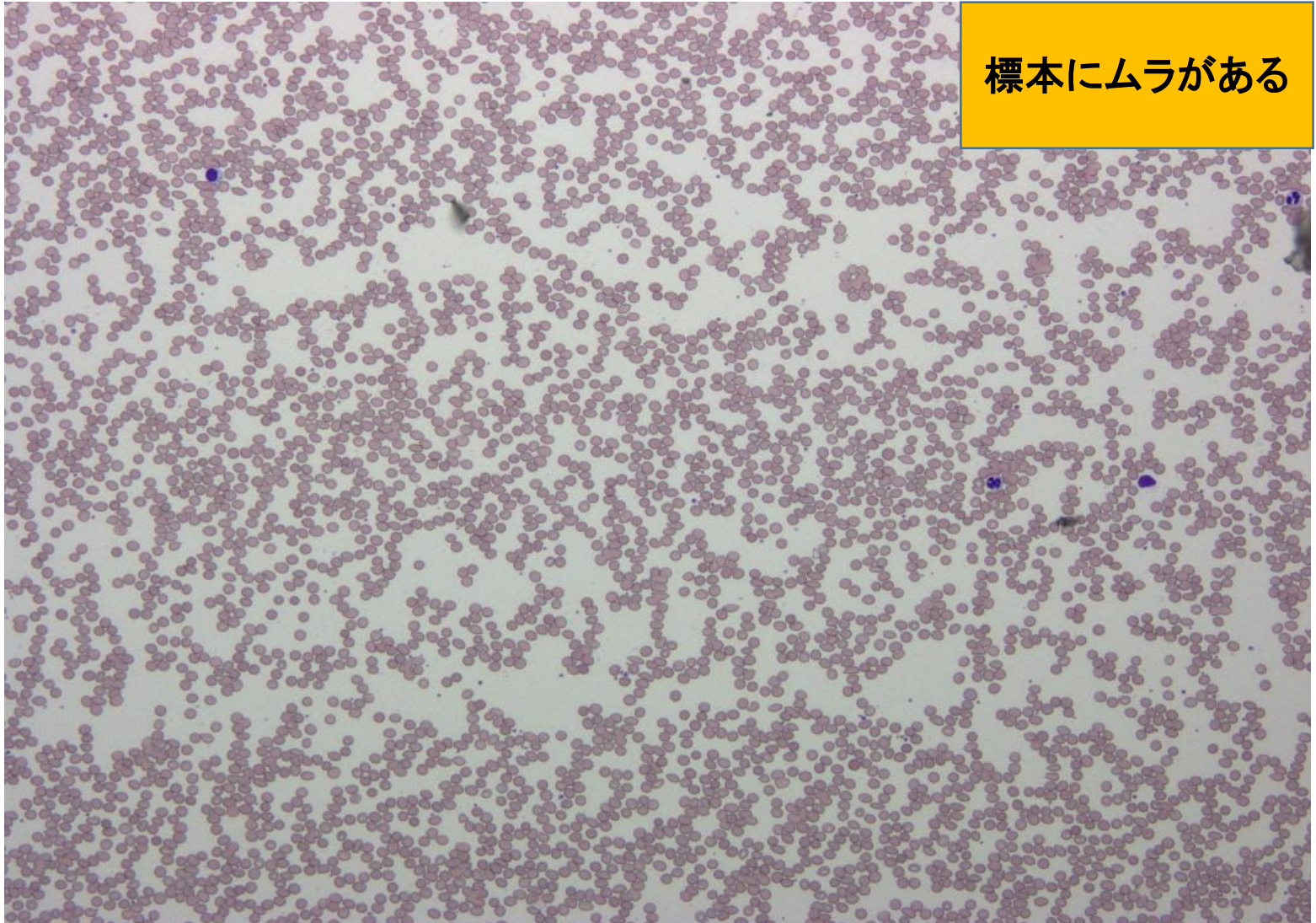
塗抹標本	良否	原因	対策
	良好な標本		
	短く厚い	ヘマトクリット値や粘度が高い検体 (多血症, 骨髄腫など)	<ul style="list-style-type: none"> 引きガラスの角度を小さくする 引く速度を遅くする
	引き終わりが無い	<ul style="list-style-type: none"> ヘマトクリット値の低い検体 (貧血など) 血液量が多い 	<ul style="list-style-type: none"> 引きガラスの角度を大きくする 引く速度を早くする 血液量が約 5 μL になるようにする
	引き終わりに血液が残っている	<ul style="list-style-type: none"> 引きガラスを途中で止めた 引きガラスが途中で離れた 	引きガラスがスライドガラスをもつ親指に触れるまで一定速度 (約 0.5 秒) で引ききる
	塗抹面に縞ができています	<ul style="list-style-type: none"> 引きガラスに過剰の圧がかかった 引く速度が一定でない スライドガラスに傷がある 	<ul style="list-style-type: none"> 人差し指で引きガラスを押しやるときは添える程度とする 引きガラスがスライドをもつ親指に触れるまで一定速度で引ききる
	塗抹面が縁と平行になっていない	引きガラスをもつ手が不安定でぶれている	引きガラスをもっている親指と中指の腹でスライドガラスの縁を軽く挟み込みレールのように扱って引く
	引き終わりが上下一定でない	<ul style="list-style-type: none"> 引きガラスとスライドガラスの接触面の血液が均一でない 引きガラスのカバーガラスが斜めに取り付けられている 	<ul style="list-style-type: none"> 引きガラスを上下させ接触面の血液を均一にする カバーガラスとスライドガラスが平行になるように引きガラスを作る
	引き終わり部分から過剰な血液が引かれている	<ul style="list-style-type: none"> 引きガラスの前に血液が滲出した 引きガラスが汚れている 	<ul style="list-style-type: none"> 引きガラスとスライドガラスの接触面に血液を均一に広げるため上下する際は両者が離れないようにする 引きガラスは毎回清拭する
	引き終わりがぎざぎざ	引きガラスに傷がついている	引きガラスを交換する
	塗抹面に穴が多数あいている	<ul style="list-style-type: none"> スライドガラスに指紋がついた 乳び検体やある種の薬剤など検体由来のこともある 	塗抹面は素手で触らない

塗抹のテクニックミスの標本

好中球や単球は辺縁に集まりやすく、好中球の分画の分布が偏ってしまう。

血液量が少なく、力が入りすぎ





標本にムラがある

よい染色態度とは

①赤血球

細胞の中央部分が淡く染まる
溶血・変形がない
適切な濃さ・色に染色されている

②血小板

顆粒が染まっている
適切な濃さに染色されている

③顆粒球

顆粒がきれいに染まっている
細胞質と顆粒と核の対比が良い
核網がべったりとしていない

④リンパ球

細胞質に適度な塩基性がある
細胞質と核の対比がよい
顆粒があれば綺麗

⑤単球

クロマチン構造が見える
細胞質と核の対比がよい
細胞質の淡青色が綺麗

⑥対比

全体のバランスがよい

染色のポイント①

固定

- 標本の乾燥が不十分だと染まりが薄い
- 水分が混入すると固定が不完全となり、核の染まりがうすくなったり、核の輪郭がぼやける。赤血球がギザギザになる

ギムザ希釈液

- 調整はリン酸緩衝液にギムザ原液を足す
(逆にすると沈殿物を生じる)
- 時間とともに劣化するので調整後8時間以内に使用する
- PHにより染色性が異なる

染色液のPHが低い(酸性)

標本の赤みが強い

PHが高い(アルカリ性)

標本の青みが強い

染色のポイント②

水洗

- 通常は水道水でよい
- 水洗しすぎると脱色する
- 水温や水のPHにも影響を受ける

乾燥

- 速やかに冷風乾燥する（熱風だと青色が強くなる）

その他

- 染色性が疾患による影響を受けるもの

多発性骨髄腫

青みが強い

鉄欠乏性貧血

薄い色調

急性骨髄性白血病

濃い赤紫色

評価のポイント

標本作製

- 長さがスライドガラスの1/2～2/3
- 自然に引き終わる
- 標本の辺縁が直線
- 塗抹面に段や縞模様がない

染色性

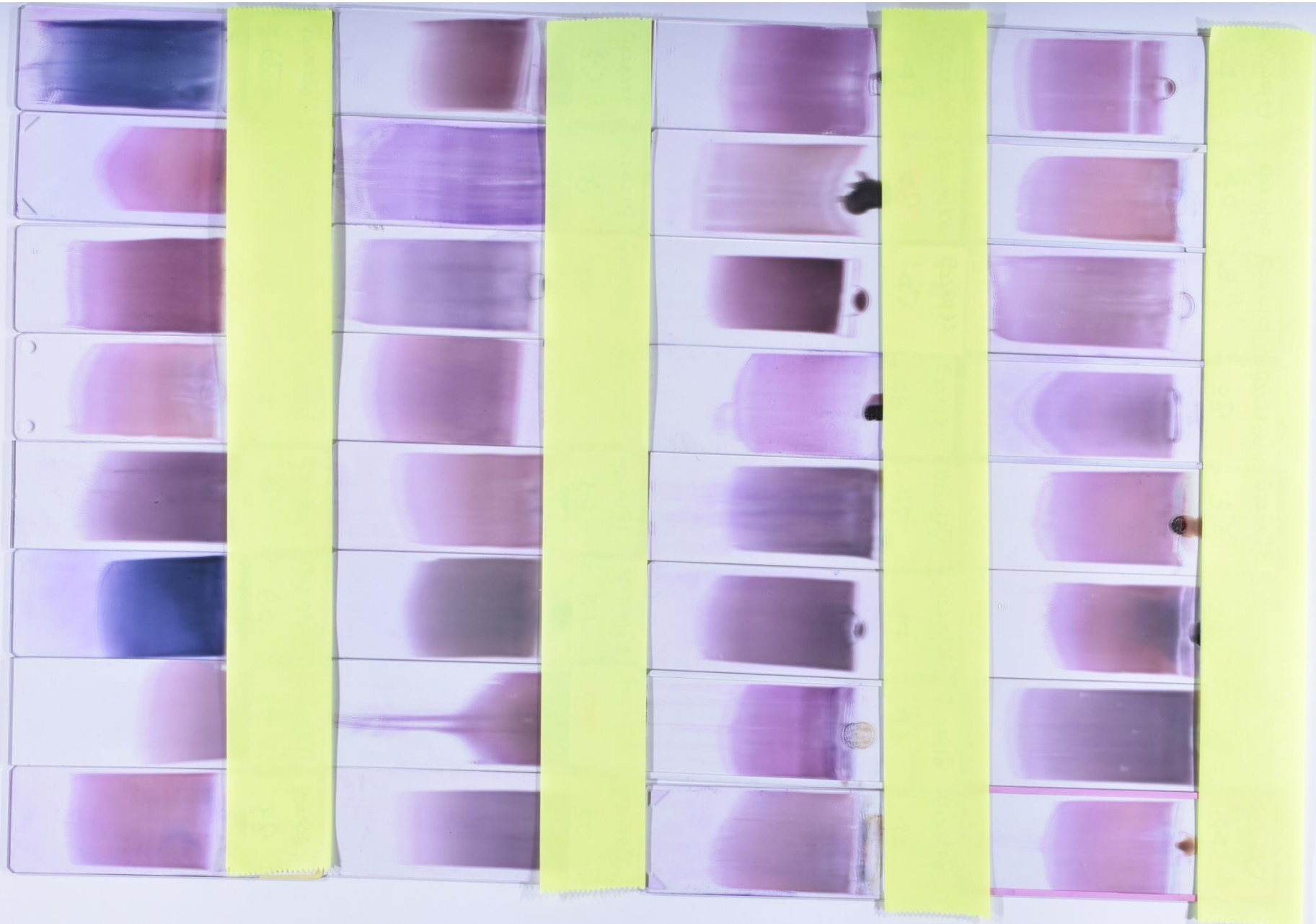
- 赤血球の染色性
- 顆粒球の核・細胞質・顆粒の染色性

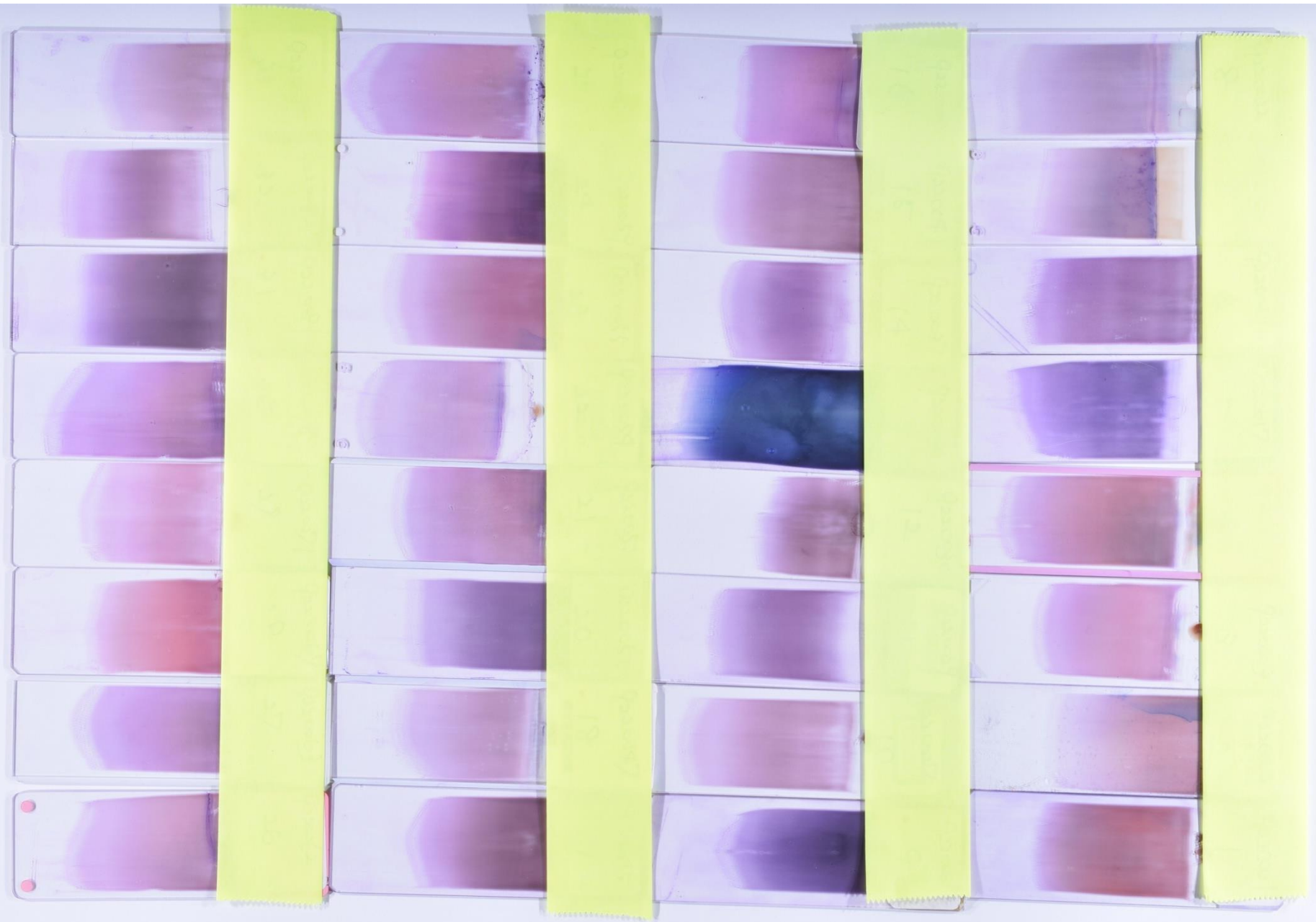
3段階評価

- 塗抹・染色ともに良好
- × 塗抹・染色ともに改善が必要

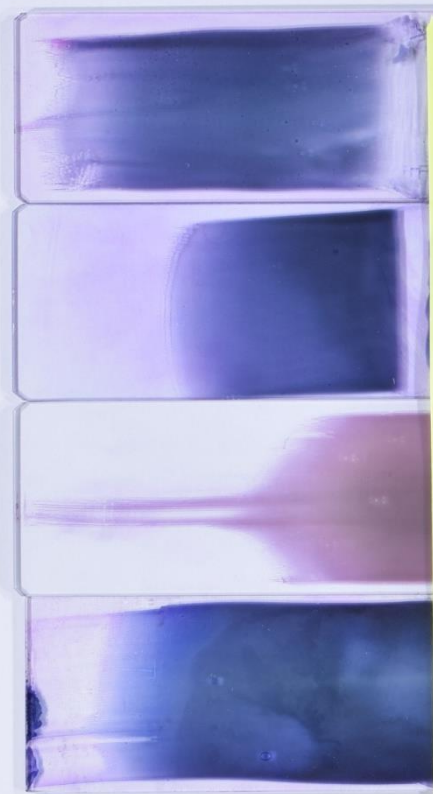
△ 塗抹・染色どちらかポイントを満たさず

今回の評価 ○ 39施設 △ 24施設 × 4施設





×



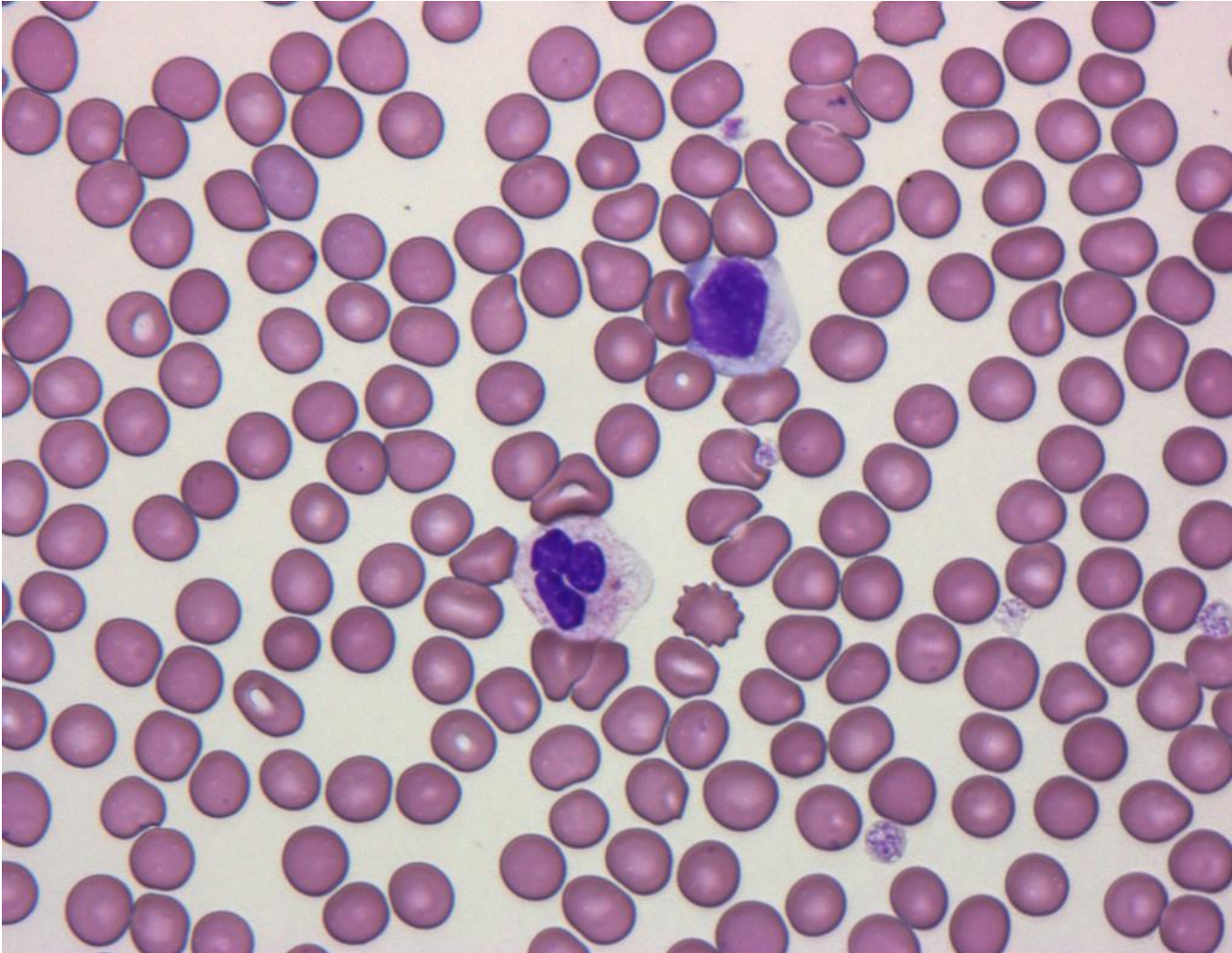
△

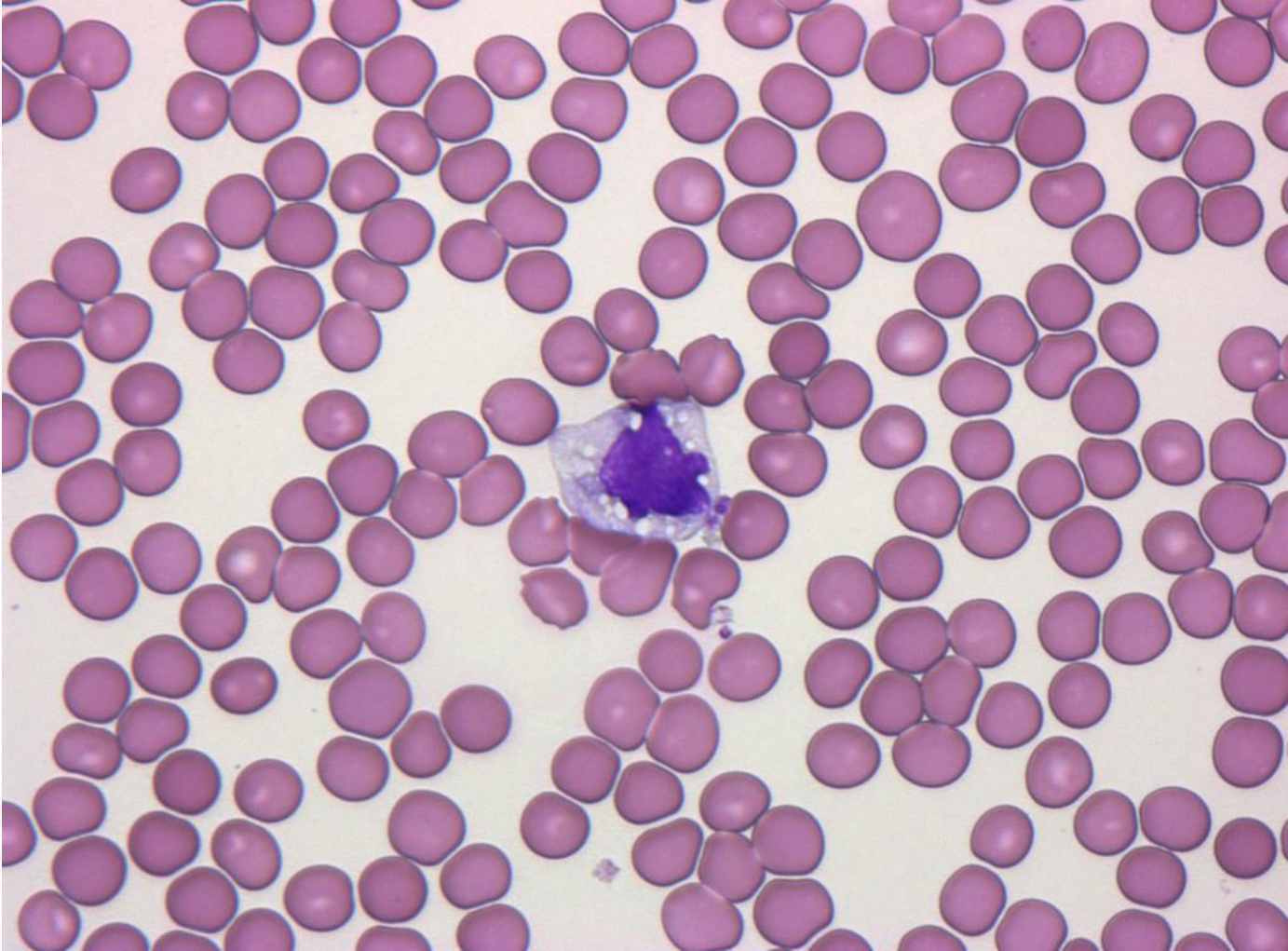


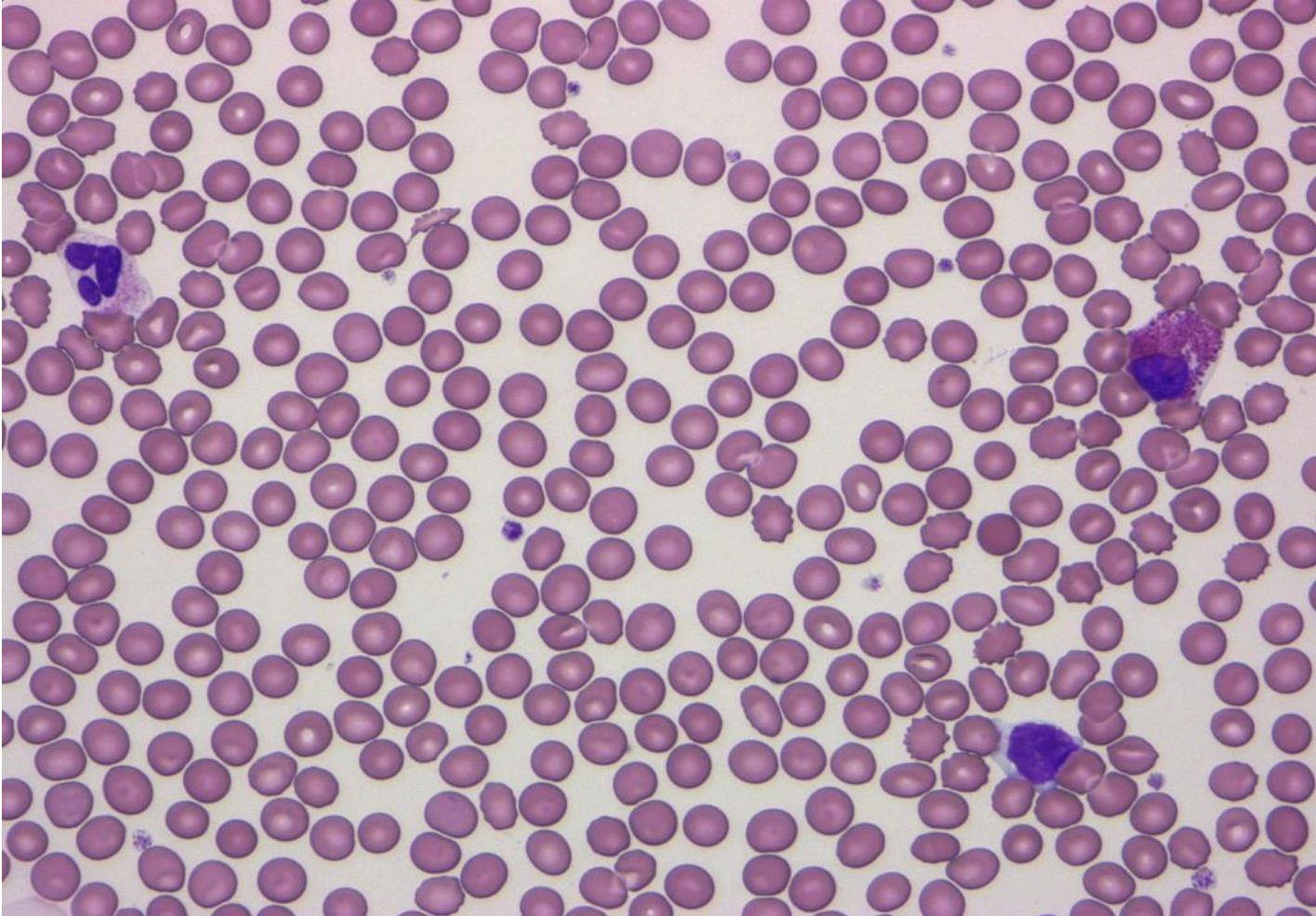
○



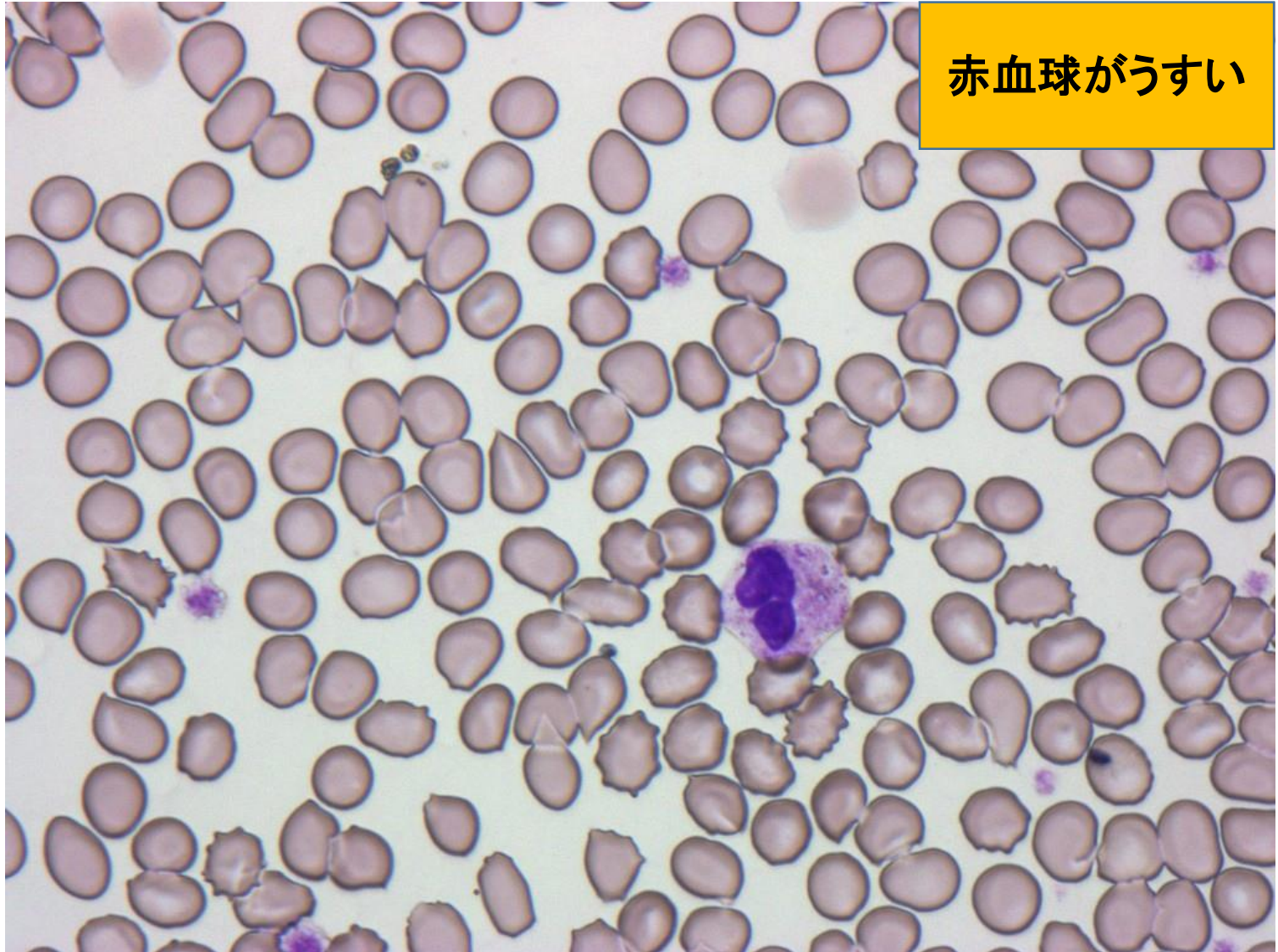
○

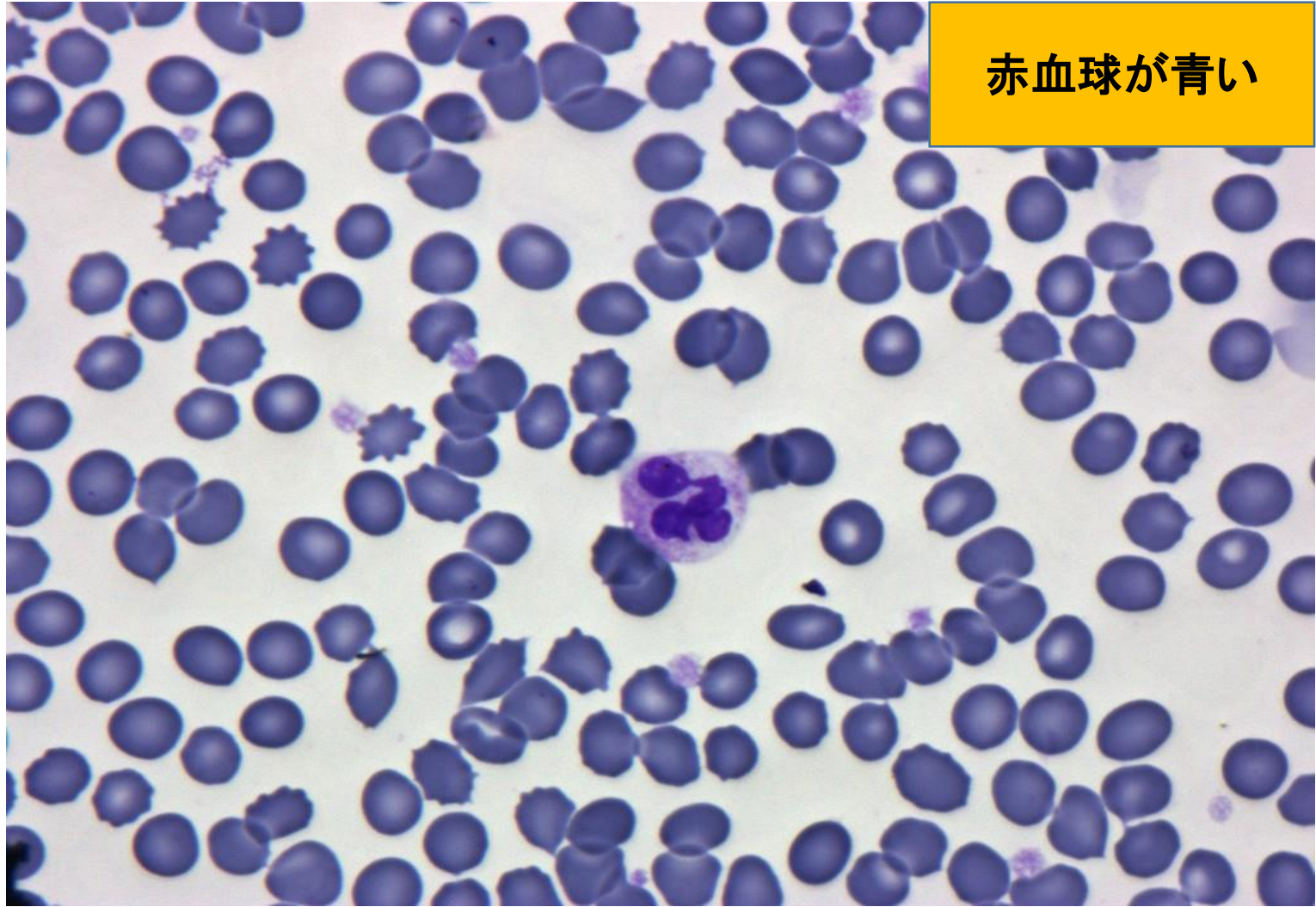




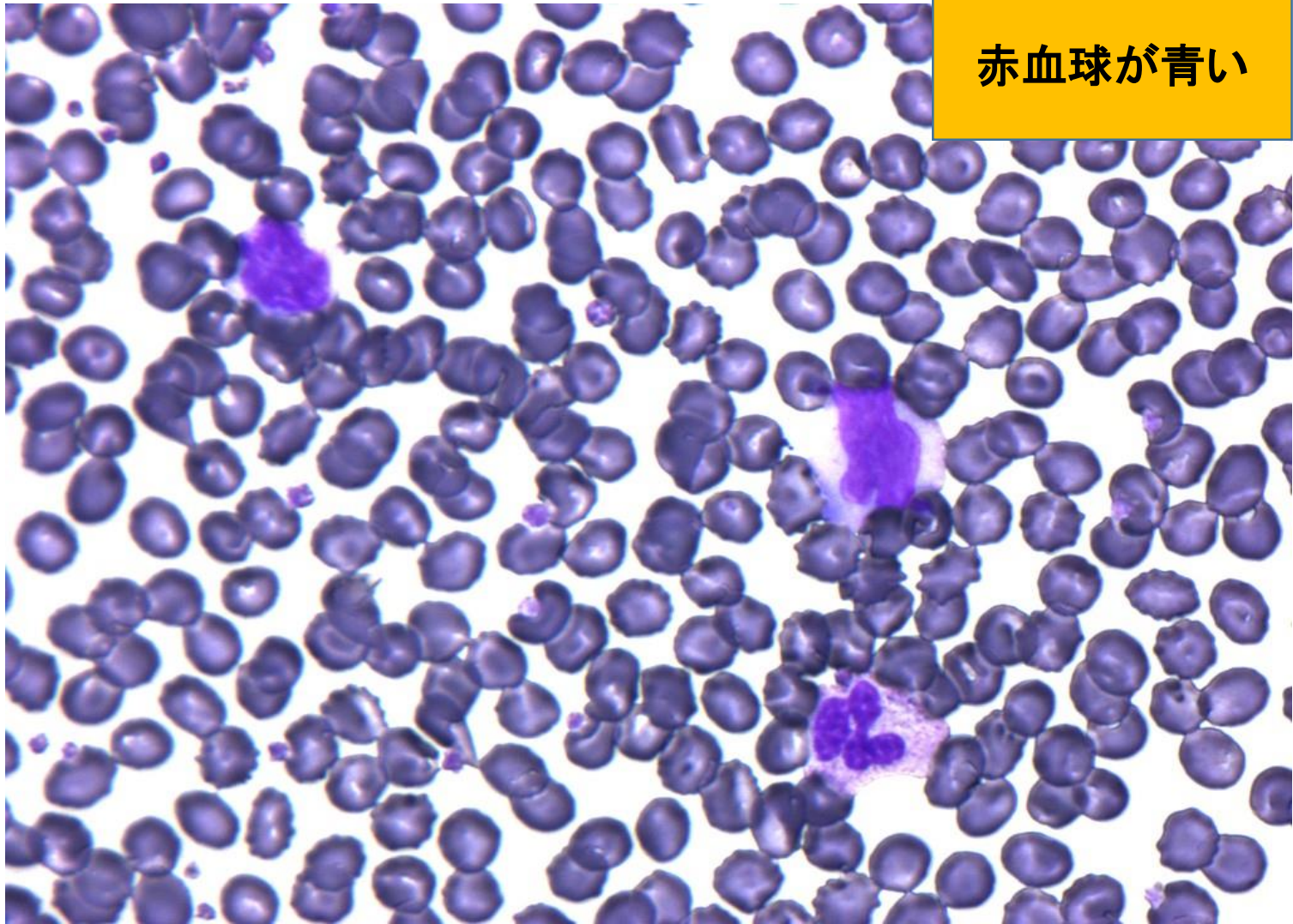


赤血球がうすい

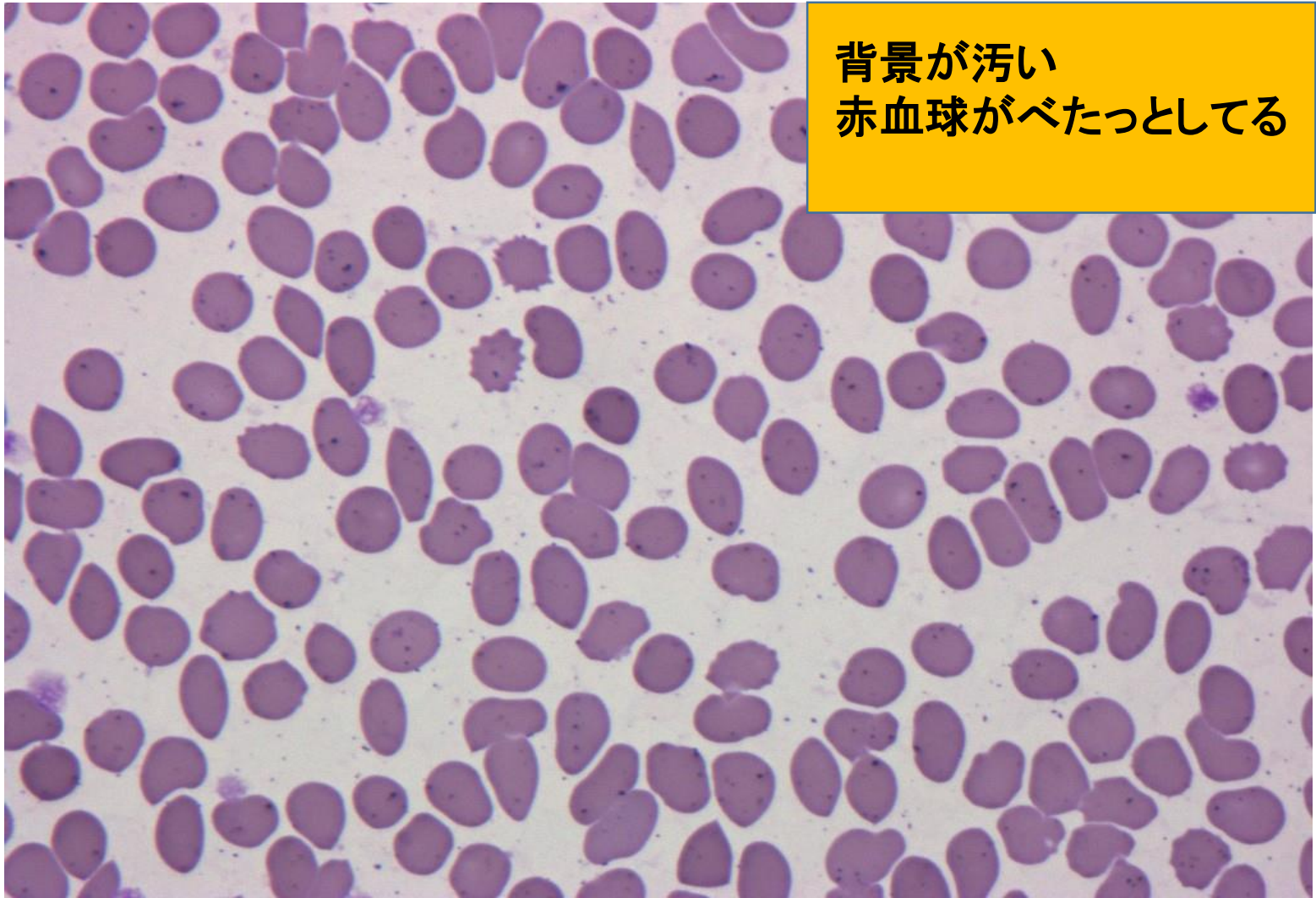




赤血球が青い

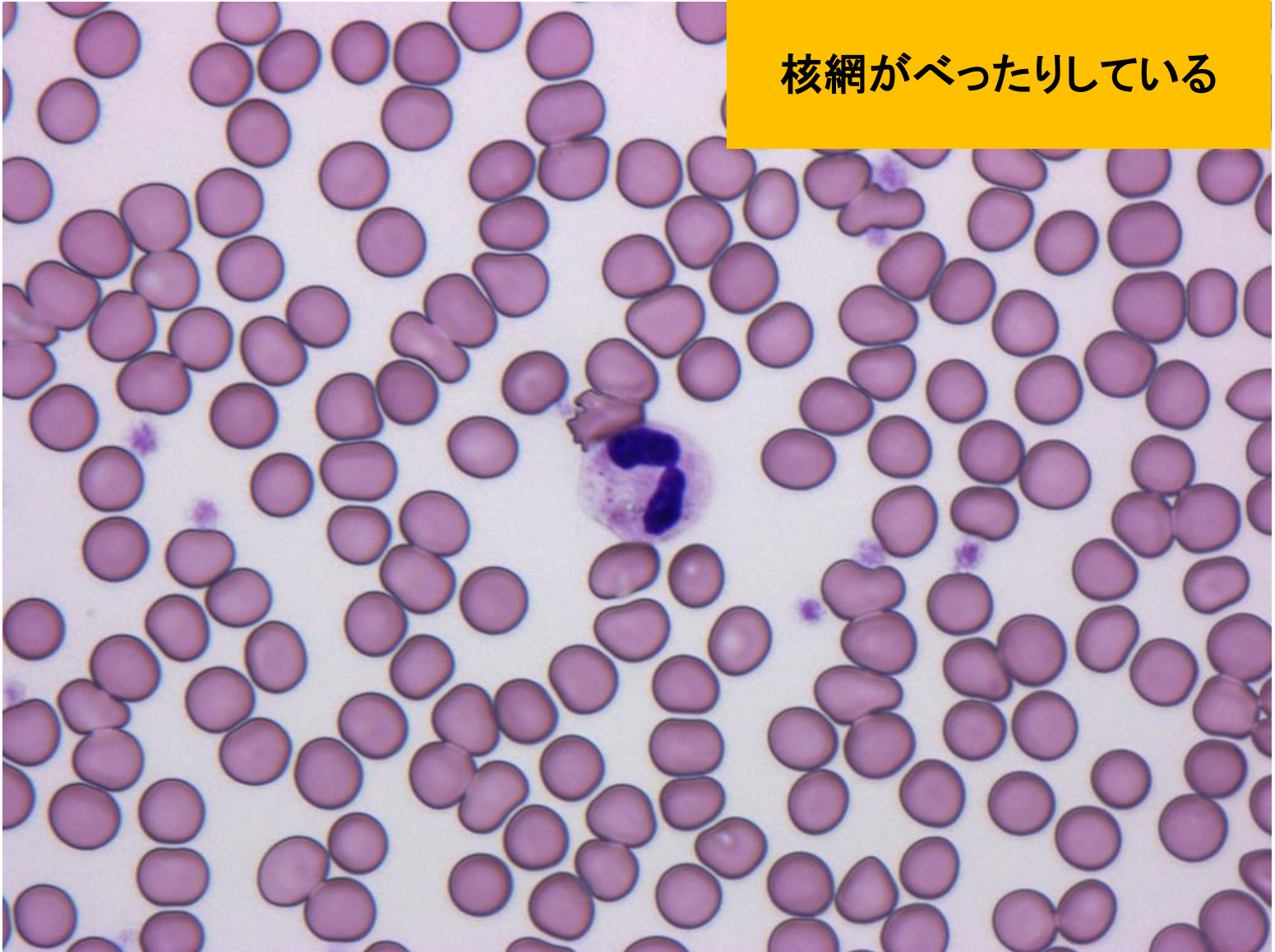


赤血球が青い

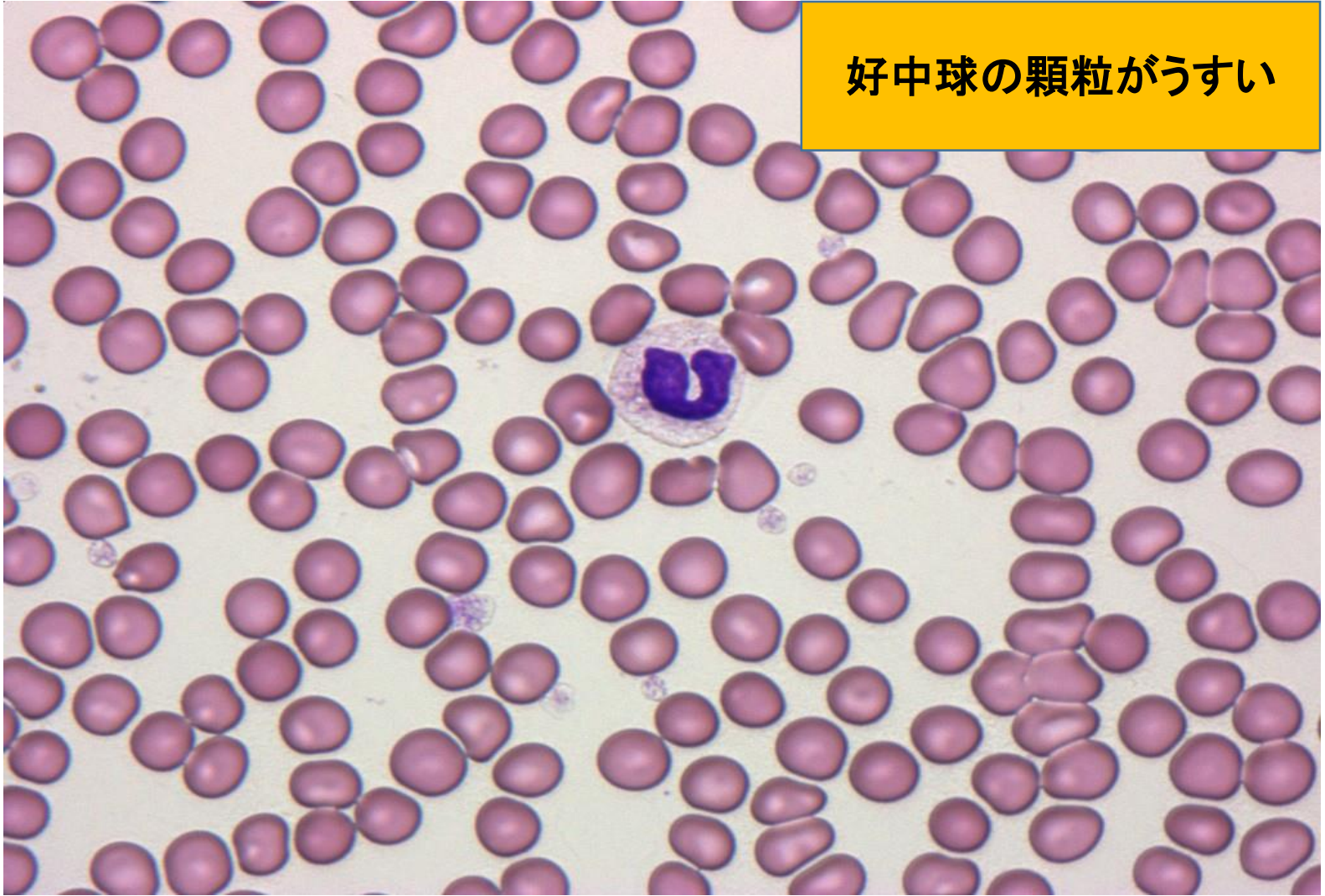


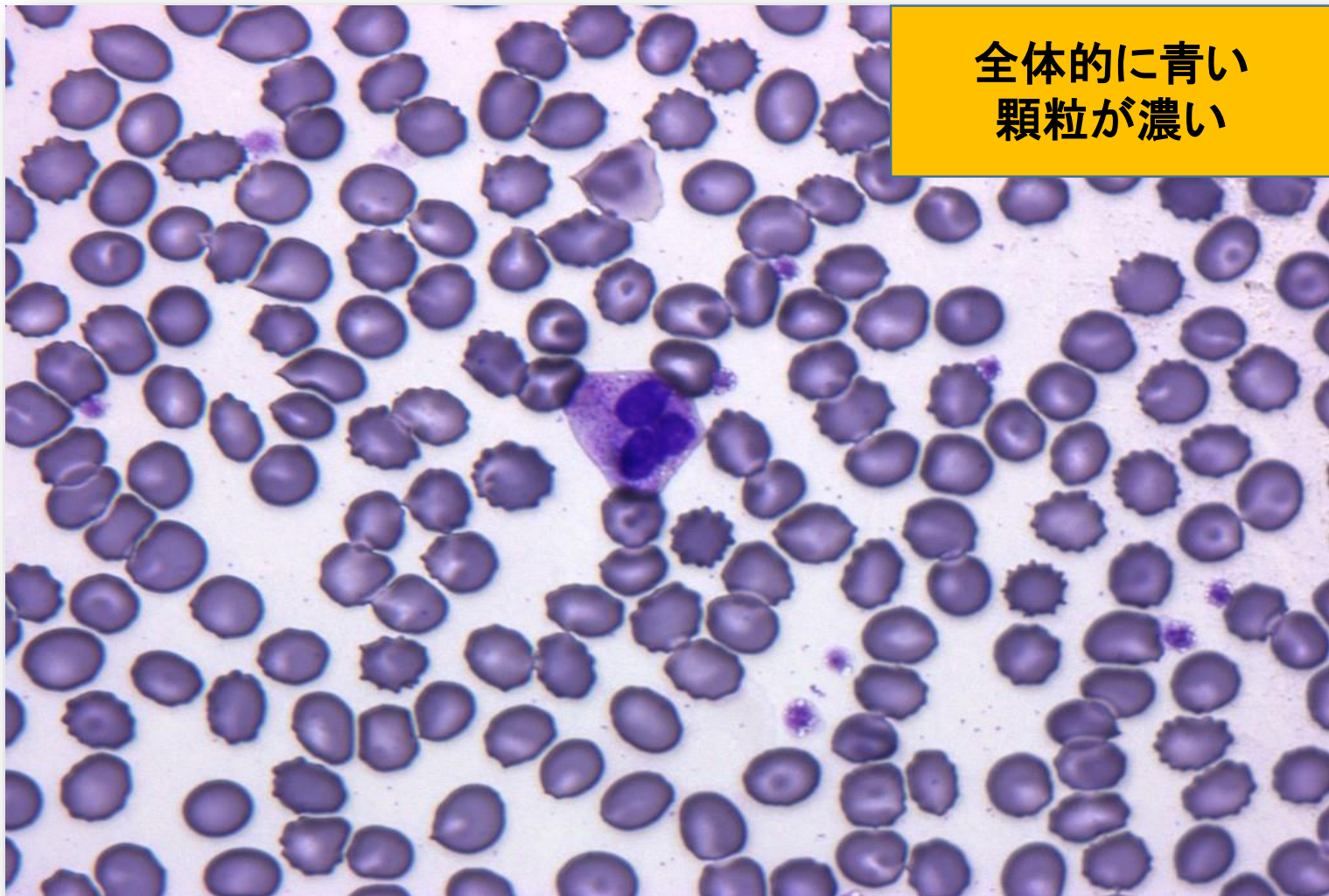
背景が汚い
赤血球がべたっとしてる

核網がべったりしている



好中球の顆粒がうすい





全体的に青い
顆粒が濃い

まとめ

- 各施設からの塗抹標本には血球の細胞変性や形態、染色性に差が認められた。
- 今回の試料24は採取から時間が経過したものであった。
- 綺麗な塗抹標本の作製と染色は血液像の分画データを出すうえで基本であり重要である。

参考文献

- スタンダード検査血液学 第3版 医歯薬出版株式会社
- エビデンス血液形態学 近代出版
- 日本検査血液学会雑誌 第19巻第1号
- 血液検査技術教本

ご清聴ありがとうございました