

免疫血清分野

尿一般分野

病理分野

細胞診分野

血液一般分野

生化学分野

先天性代謝異常分野

微生物分野

アミロイド染色試薬変更に伴う妥当性の確認 ～ダイレクトファーストスカーレット(DFS)染色について～

検査科病理・細胞診係（病理担当）

はじめに

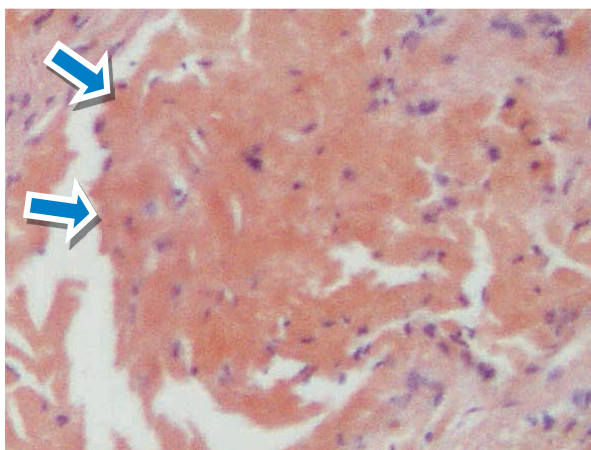
このたび、病理検査室で自家調整していたダイレクトファーストスカーレット染色（以下DFS染色）の試薬が製造中止となったため、調整済み試薬に変更することとなりました。これに伴い、試薬の妥当性確認を実施しましたので、その内容を報告させていただきます。

1. DFS 染色について

DFS染色は病理検査においてアミロイドの沈着を証明し、アミロイドーシスの診断に有用な染色です。アミロイドとは生物学的に特定の構造を持った蛋白質で、全身性に異常に蓄積されると、臓器の機能障害を引き起こすアミロイドーシスにつながります。

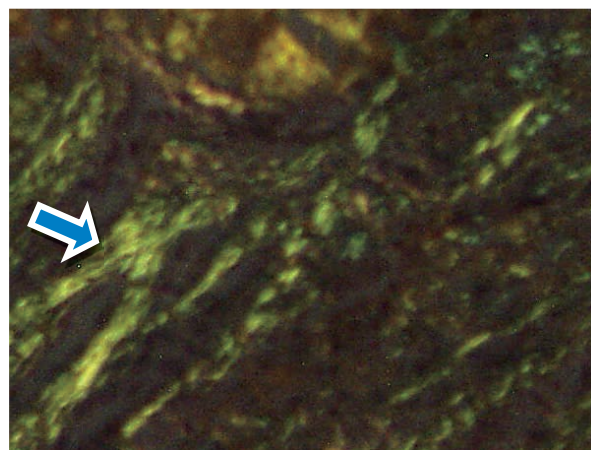
DFS染色における染色態度（材料：腱）

DFS染色像



アミロイド：橙～赤褐色（矢印）
核：青紫色

偏光顕微鏡像



アミロイド：緑～黄色（矢印）

2. 変更点

	試薬名	調整方法	染色時間
変更前	DFS 粉末 (武藤化学)	イソプロピルアルコール50mL 蒸留水50mL DFS 2g→混和	室温10分
変更後	DFS 染色液 (武藤化学)	調整済み	50℃の恒温槽60分

3. 妥当性の評価について

妥当性確認は、新規採用の試薬がこれまで使用していた試薬と同等の染色結果を得られることを客観的に評価して精度を維持するために行います。

今回、新規採用の試薬を使用するにあたり従来の試薬と同様に陰性検体では染まらないことを、陽性検体では染まることを確認しました。また、試薬がどのくらいの期間染色性を保つことができるのか確かめて、使用期限を設定しました。

評価で用いたスライドは以下の通りです。

スライド①：アミロイド陰性検体を従来の試薬で染めたもの

スライド②：アミロイド陰性検体を新規採用の試薬で染めたもの

スライド③：アミロイド陽性検体を従来の試薬で染めたもの

スライド④：アミロイド陽性検体を使用開始から **0日目** の新規採用の試薬で染めたもの

スライド⑤：アミロイド陽性検体を使用開始から **60日目** の新規採用の試薬で染めたもの

スライド⑥：アミロイド陽性検体を使用開始から **90日目** の新規採用の試薬で染めたもの

評価A(スライド①～④)

アミロイド陽性の既知検体とアミロイド陰性の既知検体を旧試薬と新試薬とでそれぞれ染色し、陰性検体では染まらないことを、陽性検体ではアミロイドに該当する箇所が染まり、また新旧の試薬で染色性に差がないことを確認する。

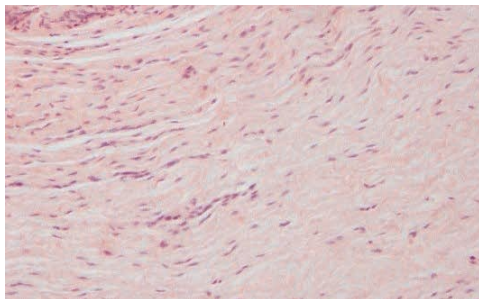
評価B(スライド④～⑥)

新規採用の試薬で、使用開始日、開始後60日目、開始後90日目での染色態度の再現性を確認し、試薬の使用期限を設定する。また染色回数が増えるにつれ染色性が低下するので、実際に行っている染色回数で、染色性が保たれていることを確認する。

4. 染色結果

(写真は全て弱拡大です。)

スライド①(陰性検体・従来の試薬)

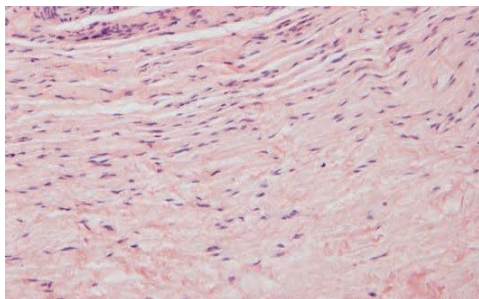


DFS 染色像

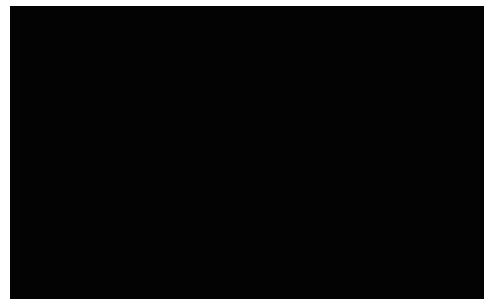


偏光顕微鏡像

スライド②(陰性検体・新規採用の試薬)

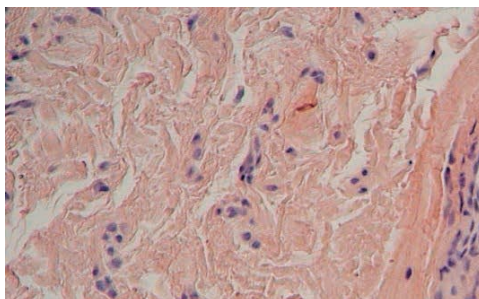


DFS 染色像

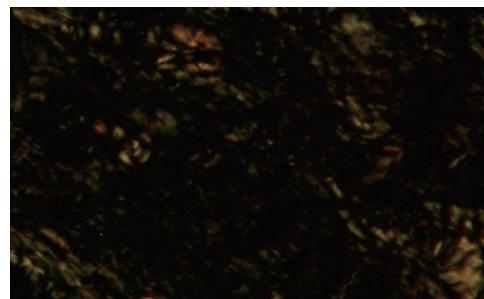


偏光顕微鏡像

スライド③(陽性検体・従来の試薬)

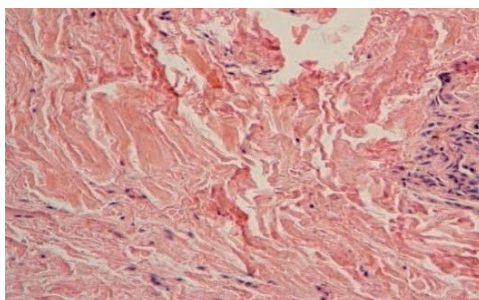


DFS 染色像

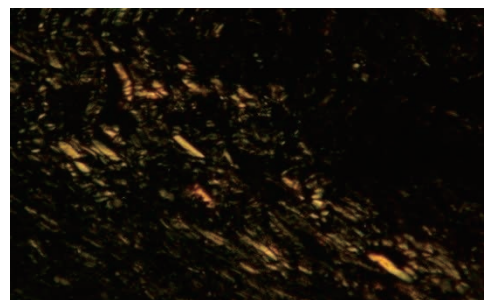


偏光顕微鏡像

スライド④(陽性検体・新規採用の試薬)



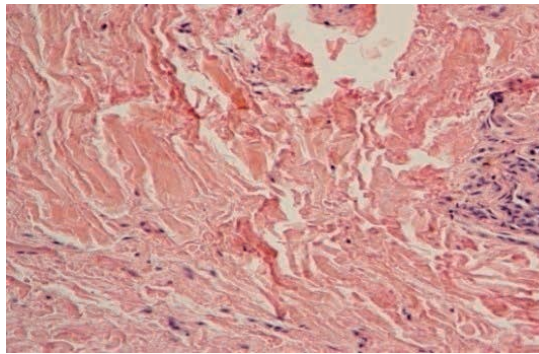
DFS 染色像



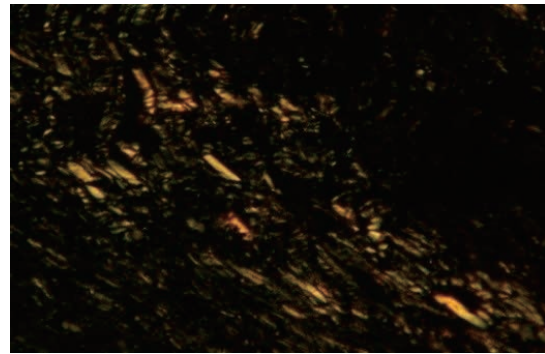
偏光顕微鏡像

結果：どちらの試薬でも陰性検体は染まらず、陽性箇所は DFS 染色像でアミロイドが橙～赤褐色に、偏光顕微鏡像では緑～黄色に染まっています。

スライド④(陽性検体・使用開始から0日目の新規採用の試薬)

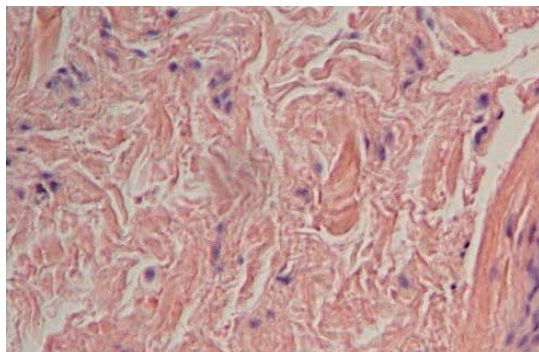


DFS 染色像

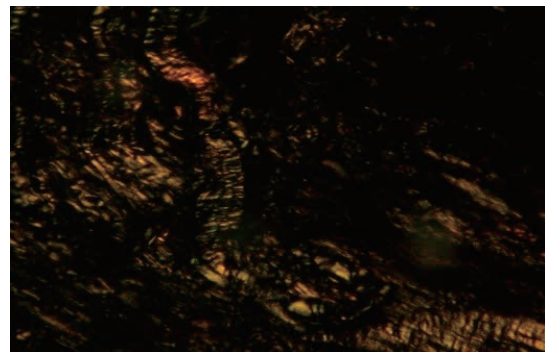


偏光顕微鏡像

スライド⑤(陽性検体・使用開始から60日目の新規採用の試薬)

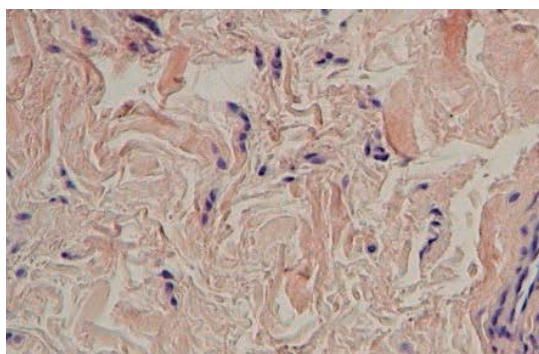


DFS 染色像

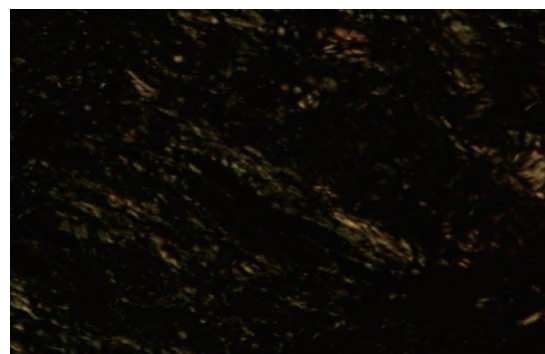


偏光顕微鏡像

スライド⑥(陽性検体・使用開始から90日目の新規採用の試薬)



DFS 染色像



偏光顕微鏡像

結果：④、⑤、⑥いずれの標本でもアミロイドが橙～赤褐色に、偏光顕微鏡像では緑～黄色に染まっています。また、90日目ではいずれも染色性が低下しています。

5. 妥当性確認(考察)

評価A

新規採用の試薬でも陰性検体は染色されず、アミロイド陽性箇所は DFS 染色像、偏光顕微鏡像ともに染色されました。よって、新規試薬に変更しても良好な染色結果が得られることが分かりました。新規試薬では熱を加えて染色するため従来の試薬よりもより鮮明に染色されたと考えられます。

評価B

0日目、60日目、90日目で同じ試薬を使用して染色を行ったところ、陽性箇所はすべて染色されていますが、90日目では染色性が低下していることが分かります。よって、使用期限は再現性が確認できた60日間（2ヶ月）としました。また、染色回数によっても染色性が低下するので、過去の検査依頼データから使用期限内で染色の依頼がどれくらいあるか推測し、その回数を染めても染色性が保たれるかどうかも検討し、問題がないことを確認できました。

おわりに

病理検査室では試薬変更による妥当性確認や、試薬を開封した際の染色性の確認、毎日の染色性チェックを実施するなど試薬管理や精度管理を徹底しています。また、月毎に1つの染色を検査室内の技師全員が実施・評価し、技師間差を減らすようにしています。

これまで、病理検査室ではさまざまな染色を実施しており、その染色液の多くは自家調整していました。しかし、自家調整の際に必要な毒劇物の取り扱いを減らすこと、調整された試薬の精度維持のため、自家調整から調整済み試薬へと変更するのが精度管理上の流れになっています。

この度は DFS 染色の試薬を新たに採用するにあたり行った、試薬の妥当性確認をご紹介いたしました。

今後も精度管理徹底のため様々な取り組みを行い、品質向上に努めていきたいと思っております。

参考資料：

1. Medical Technology 別冊, 最新染色法のすべて, 医歯薬出版株式会社, 2011年3月発行.
2. JAMT 技術教本シリーズ, 病理検査技術教本, 丸善出版株式会社, 2017年5月発行.
3. 病理と臨床, アミロイドーシスの最近の話題, 文光堂, 2016年5月発行.

担当：室 圭哉（検査科病理・細胞診係）
監修：仙谷 和弘 先生（広島大学大学院医系科学研究科 分子病理研究室）

*ウェブサイトでもご覧いただけます。 <http://www.labo.city.hiroshima.med.or.jp/>