

温度変化に伴うライト・ギムザ染色性の検討

◎近藤 亜美¹⁾、摩嶋 夕¹⁾、山口 聖礼¹⁾、三島 清司²⁾
山陽女子短期大学 臨床検査学科¹⁾、山陽女子短期大学 臨床検査学科²⁾

【はじめに】メイグリュンワルド・ギムザ (MG) 染色ではメイグリュンワルド希釈液の温度が染色性に影響することが報告されている。そこで、MG 染色同様に二重染色法として利用されているライト・ギムザ (WG) 染色について希釈ライト液の温度が染色性に及ぼす影響について検討したので報告する。

【対象および方法】健常人 3 名の EDTA-2K 採血塗抹標本を使用した。浸漬法によりライト希釈液を A：リン酸緩衝液とライト液を混合してから冷蔵保存 (4℃)、B：リン酸緩衝液とライト液を別々に冷蔵保存 (4℃) し、染色直前に混合、C：常温 (26.5℃) のリン酸緩衝液とライト液を使用直前に混合、D：ライト希釈液を 35℃ に加温の 4 つの条件とし、各条件での標本の染色性を顕微鏡油浸 1000 倍で目視鏡検で評価し各細胞ごとに比較した。

【結果】温度変化による染色性の変化を血球ごとに観察すると、好中球や好酸球、単球では条件 A および B で核の輪郭や細胞質の顆粒が明瞭なコントラストであった。リンパ球では条件 A, B, C で良好な染色性であった。好塩基球で

は条件による明確な差は認めなかった。赤血球はライト希釈液の温度が高くなるに従い青みが増強される傾向を認めた。血小板は温度の低下に伴い染色性が良好となり、細胞質の顆粒と輪郭が明瞭になった。

【考察】MG 染色同様に WG 染色でもライト希釈液の温度が染色性に影響することが判明した。各条件下での染色性を比較したところ、ライト希釈液の温度が低い方が良好な染色性を得られ、35℃ の高い温度では明らかな染色性の低下が認められた。また、室温環境下でライト液と希釈液を使用直前に混合する際、メタノールの吸水反応による発熱の温度変化によってライト希釈液のイオン均衡が変動し、染色性に影響すると考えられた。よって、室温保存したライト液と希釈液の混合直後の染色は避け、冷却してから染色を開始することで、再現性の高い良好な染色性を得られると考えられた。そして、染色の標準化にはライト希釈液の温度管理も重要な因子と考えられた。

連絡先：0829-32-0909

水洗後の乾燥温度がライト・ギムザ染色性に及ぼす影響

◎摩嶋 夕¹⁾、山口 聖礼¹⁾、近藤 亜美¹⁾、三島 清司¹⁾
山陽女子短期大学 臨床検査学科¹⁾

【はじめに】血液普通染色後の乾燥は、自然乾燥や冷風乾燥が一般的である。しかし、最近は多くの検査室に標本作製・染色装置が導入され、その一部には染色後に温風で乾燥させる装置もある。そこで、普通染色後の乾燥温度が染色性に及ぼす影響について検討したので報告する。

【対象および方法】健常人3名のEDTA-2K採血塗抹標本を使用した。染色はライト・ギムザ染色を実施、水洗後は自然乾燥、冷風乾燥、温風乾燥の3つの条件で乾燥した。各乾燥条件での標本表面温度を非接触式電子温度計で測定した。各条件の赤血球を顕微鏡油浸1000倍で写真撮影した。赤血球画像を画像編集ソフトを用いて染色色調の数値化を行った。1標本あたり5~10個の赤血球を自動選択ツールで選択した。選択領域内のRBGカラーモードとLabカラーモードの平均値を求め、主成分分析により2次元に縮約し、プロット表示した。北海道臨床衛生検査技師会の評価基準に従い骨髄検査技師が目視評価した結果と比較検討した。

【結果】目視による評価では自然乾燥と冷風乾燥、温風乾

燥では明確な染色性の違いは認めなかった。主成分分析による染色性の検討では、主成分1は青み、主成分2は総合的な染色性を示す指標と解釈できた。温風乾燥では自然乾燥や冷風乾燥に比べ青みが強く、冷風乾燥では自然乾燥や温風乾燥に比べ総合的な染色性に違いがあった。

【考察】目視鏡検した結果では、乾燥条件の違いによる評価結果の違いは明確ではなかったが、主成分分析では、温風乾燥では青み成分が強くなることが判明した。これは水洗後の乾燥は熱風の場合、染色性が変化（青染）することがあるとの報告と一致する結果であった。温風乾燥でなぜ青みが増すのか、あるいはライト液とギムザ液でその影響の受け具合が異なるのかなどは現時点で不明であり、更なる検討が必要である。形態学的検査においては検査法の標準化は緒に就いたばかりである。血液細胞の判定基準の統一化は進んでいるが、染色法の標準化は未だ行われていないのが現状である。染色法の標準化においては染色後の乾燥条件も考慮する必要があると考える。

連絡先：0829-32-0909

主成分分析によるライト・ギムザ染色の客観的評価

◎山口 聖礼¹⁾、近藤 亜美¹⁾、摩嶋 夕¹⁾、三島 清司¹⁾
山陽女子短期大学 臨床検査学科¹⁾

【はじめに】

血液形態学の標準化において染色の標準化は避けては通れない問題である。しかし、染色性の評価は色調に基準がなく、検査者の主観により行われており、個人差や施設間差があるのが現状である。そこで、染色の標準化に向けて染色色調を数値化し、客観的な評価法を確立することを目的として検討したので報告する。

【対象および方法】

健常人3名のEDTA-2K採血塗抹標本を対象にライト希釈液温度がライト・ギムザ染色の染色に及ぼす影響を検討した標本から赤血球を顕微鏡油浸1000倍で写真撮影した。赤血球画像を画像編集ソフトを用いて染色色調の数値化を行った。1標本あたり5~10個の赤血球を自動選択ツールで選択した。選択領域内のRBGカラーモードとLabカラーモードの平均値を求め、主成分分析により2次元に縮約し、プロット表示した。目視評価した結果と比較した。

【結果】

主成分1の主成分負荷量はL、G、R、bで大きい正の値

をとっており、aで負の値を取っている。このことから主成分1は青み以外の染色性全般と意味付けができる。一方、主成分2の主成分負荷量は絶対値でBが最も大きい値をとっており、青みと意味付けができる。条件別に主成分1と2をプロットすると、目視評価で染色性良好であった条件A、Bと染色性不良の条件C、Dは主成分1で明確に区別できた。主成分2については、条件A、Bの方が条件C、Dに比べ標本間の差が大きい結果であった。

【考察】

赤血球画像を画像解析ソフトで数値化し、統計ソフトで主成分分析を行うことにより、染色性の評価が可能であった。しかし、散布図上のプロットは相対的な位置関係を示しているに過ぎず、絶対的評価ではない。異なる撮影条件の画像でも評価ができるような汎用性を高めることが課題である。また、主成分1負荷量ではaが負の値となっており、総合力が出力されない。このため主成分分析より因子分析など他の解析手法の方が適している可能性もあり、今後さらに検討する必要がある。連絡先：0829-32-0909