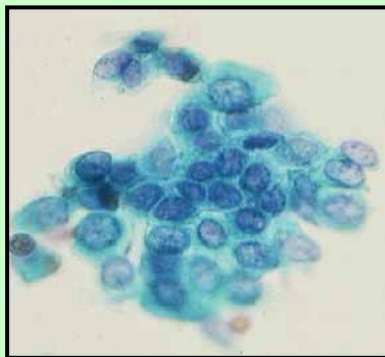
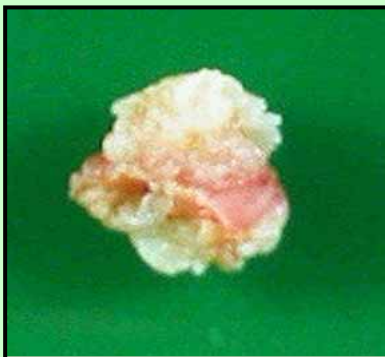
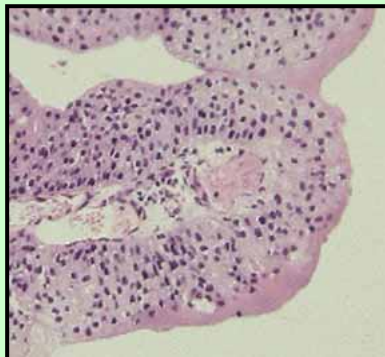
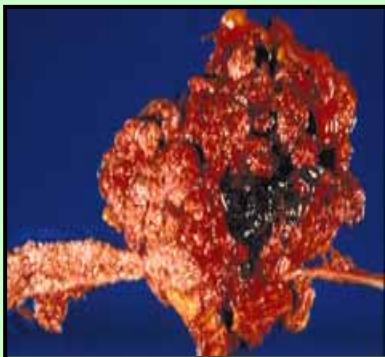


細胞診標本作製マニュアル

泌尿器

Methods in
Urinary Cytology



細胞検査士会(編)



目次

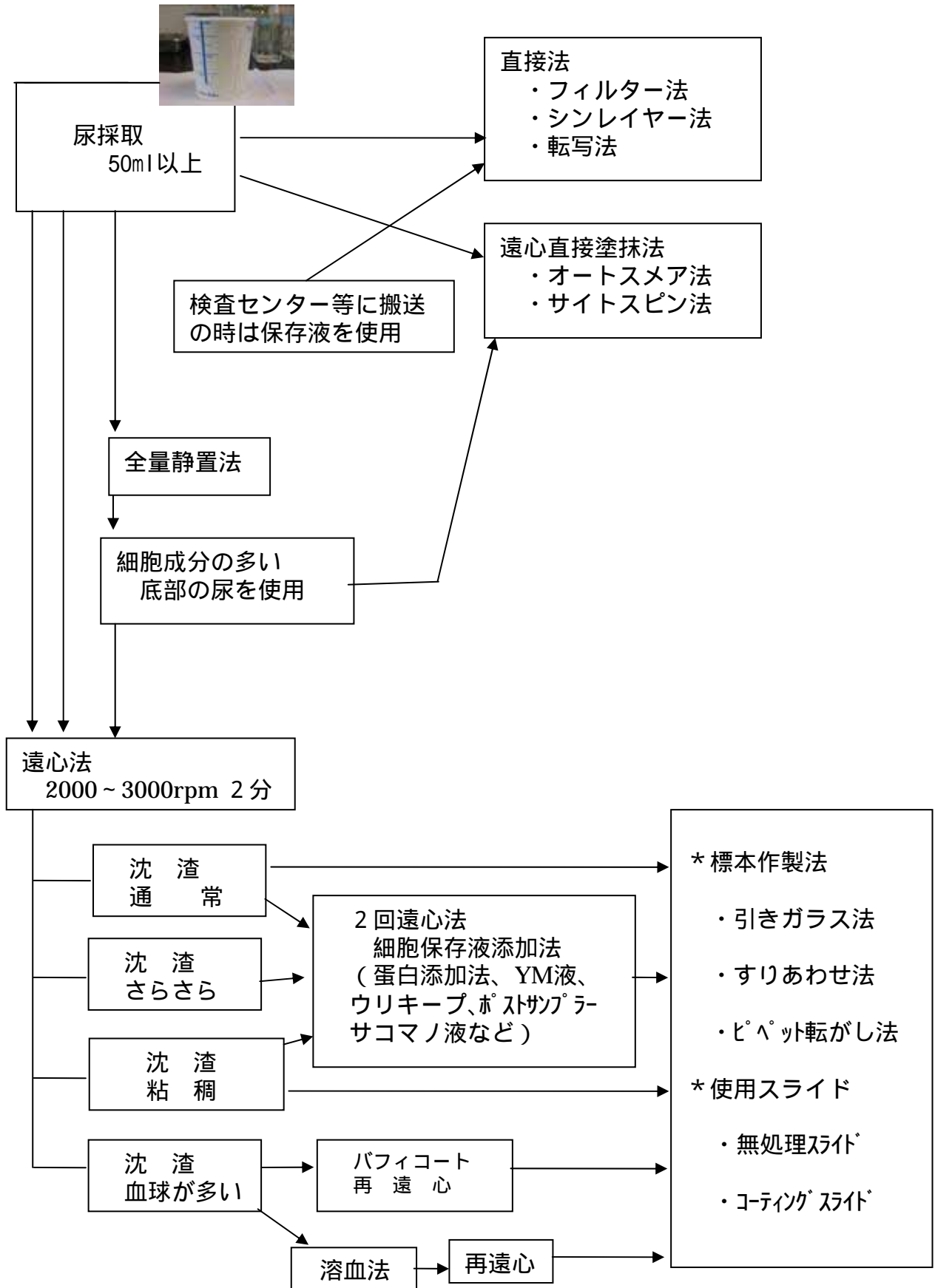
- ・泌尿器領域検体取り扱いフローチャート
- ・泌尿器領域の検体
 - (1) 自然尿(自排尿)
 - (2) カテーテル尿(導尿・膀胱鏡等の人工的・機械的操作後を含む)
 - (3) 洗浄尿
- ・肉眼的性状および前処理
 - (1) 正常尿
 - (2) 血尿
 - (3) 混濁尿 結晶尿、細菌尿
 - (4) 粘稠尿
- ・検体処理方法および標本作製法(含 使用器具)
 - (1) 遠心法(遠沈法) [沈渣塗抹]
 - 引きガラス法
 - すりあわせ法
 - ピペット転がし法
 - (2) 遠心直接塗抹 オートスメア法、サイトスピン法、
 - (3) 直接法
 - フィルター法
 - シンレイヤー法
 - 転写法(シンプレップ法)
 - (4) 2回遠心法(細胞保存液添加法)
 - *付設 乾燥再水和法
- ・固定法
 - (1) 湿固定法
 - (2) 浮遊固定法 市販品・自家製
 - (3) 乾燥固定法
 - (4) 噴霧または滴下固定法
- ・処理法の違いによる細胞の特徴
- ・検体処理法の違いによる特徴一覧

泌尿器細胞診標本作製マニュアル

【目的】

尿細胞診で正しい細胞判定をするためには良好な標本作製を行うと同時に、標本上に多くの細胞を集める必要がある。そのため、標本作製に関して、詳細な留意点を検討し、初心者でも良好な標本作製が可能な指標を示すことを目的とした。

泌尿器領域検体の取り扱いフローチャート



・泌尿器領域の検体（臨床に検体の種類を記載してもらうこと）

- (1) 自然尿（自排尿）：患者の負担が少なく検体として提出される割合が高い。
 - * 泌尿器科受診患者の注意：診療前に採尿してもらうように臨床に依頼する。
（膀胱鏡施行後に自然排出した尿を自排尿（自然尿）として提出されることがあるが、機械的操作が加わった影響が細胞に変化を及ぼすため注意を要する）
 - * 入院患者での注意：早朝尿は避けること
（細胞量が多いが、変性が加わることが多いので随時尿での標本作製が望ましい）
- (2) カテーテル尿（導尿・膀胱鏡等の人工的・機械的操作後を含む）
- (3) 洗浄尿：細胞変性の少ない細胞量の多い標本が得られる。

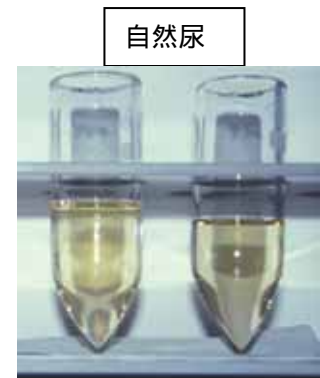
・肉眼的性状および前処理

(1) 正常尿

腎尿路系で産生される色素ウロクロームによって淡黄色を示すが、尿濃縮の度合いにより無色から濃褐色まで様々に変化する。

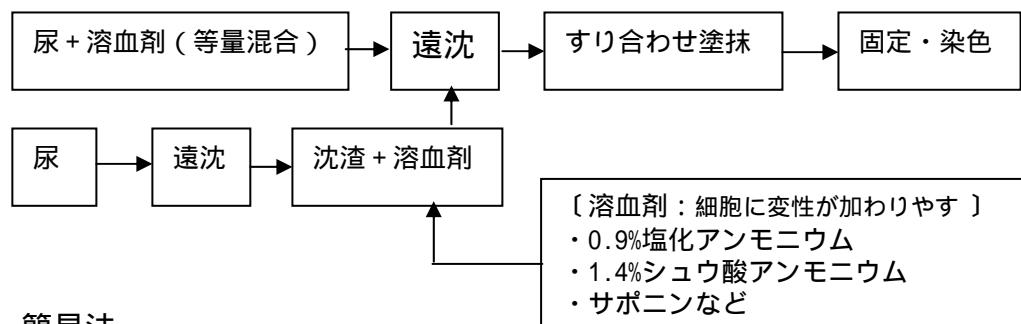
(2) 血尿

赤血球の混入している尿を血尿という。
肉眼的に識別できる血尿と潜血反応や顕微鏡的に陽性を示す血尿がある。
標本作製法としては遠心後、バッフィコートを塗抹する方法が一般的である。
薬剤を加え溶血させる場合には細胞に変性が加わることに注意を要する。

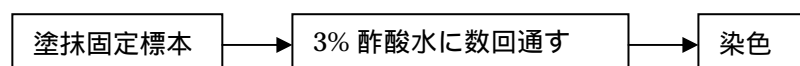


* 溶血法

1. 薬剤添加法



2. 簡易法



酢酸水に数回通すことにより上に乗っている血液が溶血されて細胞が観察しやすくなる。

(3) 混濁尿

結晶尿、細菌尿

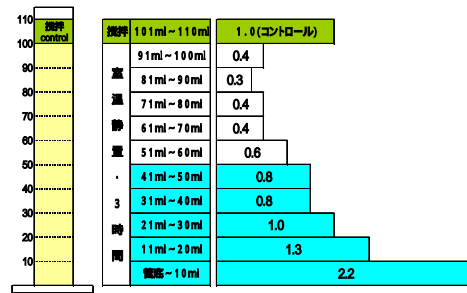
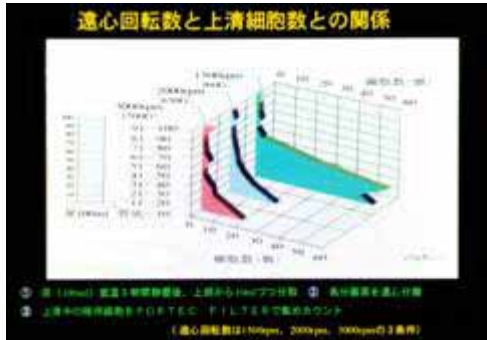
(4) 粘稠尿

検体処理方法および標本作製法（使用器具をふくむ）

（１）遠心法（遠沈法）〔沈渣塗抹〕【遠心回転数と遠心時間について】

1500rpm.(360G)では上清に多くの細胞を認めるが、3000rpm.(1500G)では細胞残存数は激減する。2000rpm.(650G)と3000rpm.(1500G)では有意差は少ない。遠心時間は高回転（2000rpm.650G・3000rpm.1500G）2分～5分では有意差は少なく、細胞形態にも変化は認められない。

*細胞にかかる遠心力（G:Gravities）は遠心器の回転半径と回転数により決まり、Kossは600Gを最適としている。日本で汎用している遠心器は回転半径15cmが多く1500rpm.は約360Gである。



室温静置3時間後の細胞数

【細胞成分の多い標本を作るポイント】

1. 採尿後、遅くとも3時間以内に処理をする（迅速に処理することを推奨する）
2. 細胞診用尿の適量は採尿容器の底より10ml～50mlである（静置して下層を使用）
3. 遠心は2000～3000rpm 2分間とし遠心管は、先細遠心管(50ml)を用いる

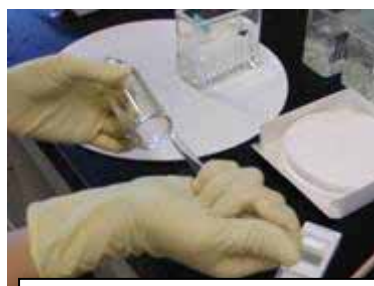
*50mlが無い場合は10mlの遠心管でも良いが、できるだけ多くの検体を遠心して沈渣を集めることを推奨する。10mlの遠心管を使用する場合は、前処理として、尿を室温で30分程度静置し、上清を捨て下層の細胞の多い部分を遠沈する。（50mlガラス先細遠心管は伊特ガから発売されている。また、ユニフレックスより使い捨ての50mlの遠心チューブが、村角工業からはマウスピツタが発売されている。感染・混入防止の意味からも推奨できる。）

4. 水っぽい沈渣は細胞剥離の最大原因となる

引きガラス法



2000～3000rpm 2分:ガラス等用意の間スピッツは立ておく



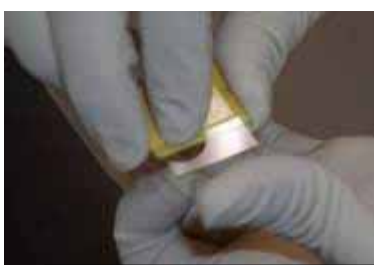
沈渣を取る。（スピッツを逆さまにしたままにしておく）



沈渣：この程度の量では標本枚数は2枚が限界



毛細管現象利用
キャピラリーで1滴づつ置く

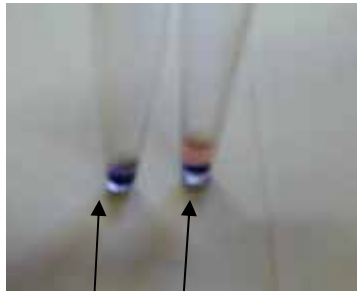


引ききらずに止める
引き終わりに細胞が集まる



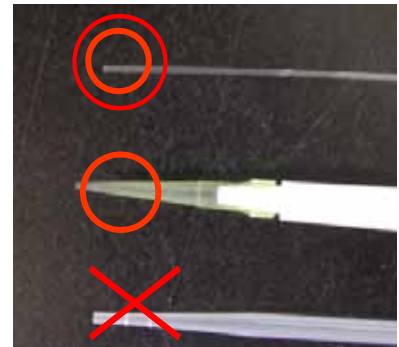
直ちに固定液へ

10mlの遠心管を尿処理スピッツとして使用する場合の適正



細胞診用

尿処理ピペットとしての適正



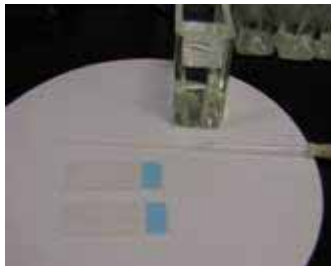
一般検査用スピッツ
(沈渣半定量用)
水分が残る設計となっている

上：ガラス・スツール型キャピラリーピペット (毛細管現象の利用)
中：イベントルピペット 20ml (感染防止の観点で良好)
下：ポリポット(一般検査共用) × (沈渣が少ない：不可)

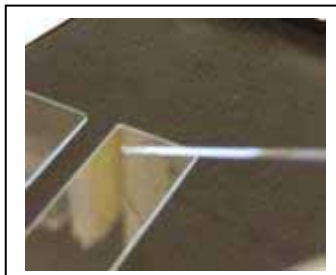
【引きガラス法でのポイント】

ギムザ標本を対照として比較検討すると十分な上清分離で無処理スライド・引きガラス塗抹法では70%以上の細胞保存率が得られる。一般検査用の沈渣を再遠心せず塗抹すると細胞保存率は50%以下に低下する。「水っぽい沈渣」つまり不完全な上清分離は細胞剥離の最大原因である。「引きガラス塗抹法」でのポイントは、遠心管を下に向けたまま毛細管現象を利用して、キャピラリーピペットを使用することである。

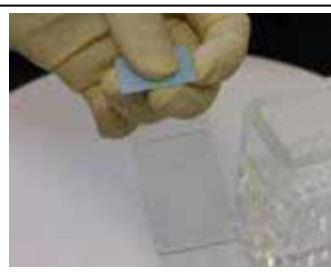
すりあわせ法



引きガラス法と同様の処理を行う



沈渣をガラス上に



軽く押さえ、左右に引く



スプレー固定後95%エタノールへ

ピペット転がし法

沈渣をスライドガラス上におき、ピペットをガラス表面上で転がす。その後、固定・染色する。

(2) 遠心直接塗抹法 オートスメア法、サイトスピン法

オートスメア・サイトスピン標本作製法

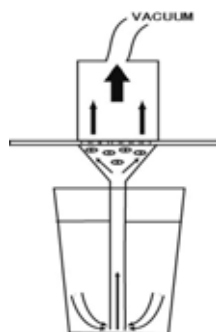
1. 静置および遠心によって適度に濃縮した尿をセットした器具に入れる
2. 遠心
3. 遠心後静かに上澄みを捨てる
4. 器具を逆さにしたまま濾紙等の上に置き、十分水分を切る
5. 固定・染色

【遠心直接塗抹法でのポイント】

尿の濃縮：尿カップに採尿された尿は、通常そのままでは細胞量が少ない。細胞濃度を上げてから機械にセットするのが望ましい。上澄みを捨てた器具を逆さにしたままにするのは、水分をスライドガラス上に戻さない為である。乾燥を避けながら十分に水分を取る。塗沫面が厚い場合は擦り合せをする。

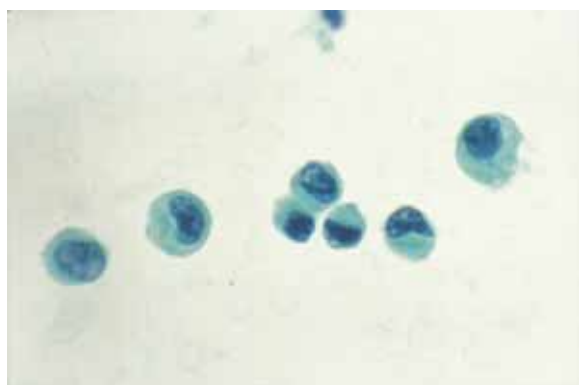
(3) 直接法

フィルター法 (写真提供：武藤化学)

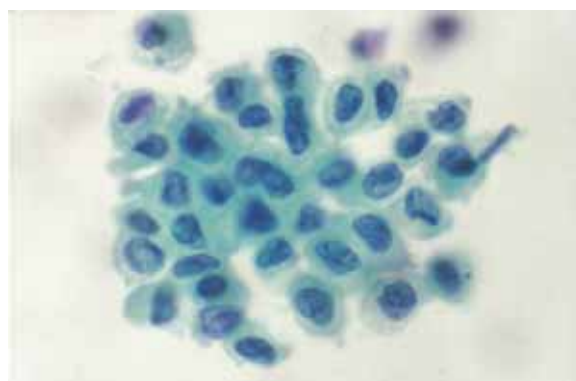


原理

吸引によりメンブレンフィルター（径 5μ ）を通過した尿の細胞はフィルター上に捕捉される。



遠心塗抹法



フィルター法

シンレイヤ法 (写真提供: MBL)

原理: 荷電を利用

1. スライドガラスのコート処理を行う。
(スライドガラス表面「+」荷電)
2. 遠心した沈渣に適量の水を加える。
(沈渣に含まれる蛋白成分「-」荷電)
3. チャンバーへ沈渣の添加
(「+」の荷電と細胞の重力により比重の重い癌細胞からスライド表面に吸着)
4. シンレイヤ (単層)
吸着した沈渣成分の表面は荷電がうち消される。
5. アルコール処理する事により吸着成分をスライド表面に固定し、吸着しなかった成分を洗い流す。



多量検体用

転写法 (シンプレップ法)

塗抹する細胞分布を均一にして重ならないように調整された機器。
回収率、染色性、検体処理の簡便性、鏡検のしやすさ、バイオハザードの面でも良いが、単価が高い。

(4) 2回遠心法 (細胞保存液添加法)

1. 尿を2000~3000rpm・2分遠心後に上清を捨てる
2. 細胞保存液 (詳細はV.固定法 [参考] 参照) を沈渣に3~5ml添加してよく攪拌する。
3. ただちに再遠心 (2000~3000rpm・2分) 後に沈渣を塗抹・固定する
ポイント1: 細胞保存液を加えたら十分に沈渣と混ぜること
ポイント2: 細胞保存液によっては細胞収縮を起こす欠点があるため、遅くとも5分以内に再遠心して標本作製すること

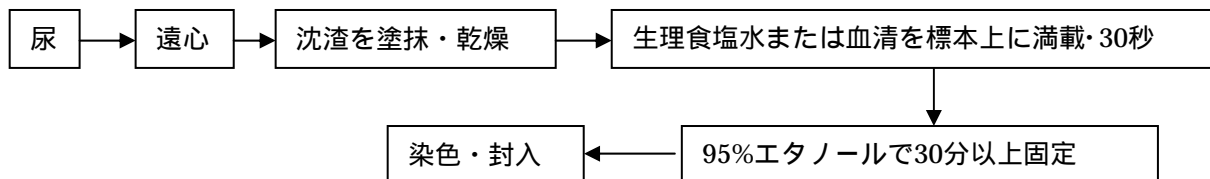
*付設 乾燥再水和法

固定前に乾燥した場合は、再水和処理を行った後に固定すると、細胞質および核の染色性が良好になって細胞判定が容易になる。

乾燥後アルコール固定した標本では再水和処理を行っても染色性の改善は望めない。

遅くとも2日以内に再水和処理を行う。なお細胞成分が非常に少ない標本では効果が少ない。

*再水和法



．固定法

(1) 湿固定法 : 9 5 % エタノール

(2) 浮遊固定法 市販細胞保存液
 自家製

細胞保存液は浮遊細胞固定液で、尿採取から標本作製までにタイムラグがある場合に尿や尿沈渣を保存する目的で開発された。排尿後の尿は細胞変性が起こりやすく、少なくとも3時間以内に検体処理を終えなければならない。したがって検査センター等に搬送、依頼検査を行っている施設では保存液は必須である。

尿を遠心後に細胞保存液を添加して2回遠心法を行い、細胞成分の多い標本作製に利用する。

〔参 考〕(市販)細胞保存液・固定液の種類と成分一覧

サコマノ液

50%エタノール、2%ポリエチレングリコール(MW:1540)

YM式液状検体用固定液(武藤化学)

50%エタノール、ポリエチレングリコール(MW:1540)、粘液融解剤(TWA)

ポストサンプラー保存液(松浪硝子工業)

エタノール、ポリエチレングリコール(MW:1540)、粘液融解剤(ジチオスレイトール)リファンピシン(抗結核剤)

ウリキーブ5D 保存液(武藤化学)

25%エタノール、トルエン、クエン酸

サイトリッチ(ブルー/レッド) 保存液(MBL)

CYTORICH BLUE : アルコール、ポリエチレングリコール

CYTORICH RED : アルコール、ホルムアルデヒド、非毒性の保護剤、緩和剤、緩衝液

(3) 乾燥固定法

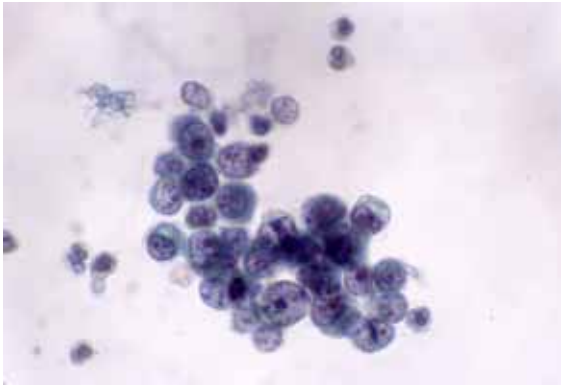
スライドガラスに塗抹した沈渣をただちに冷風にて乾燥させる。核内構造の観察に適している。ギムザ染色(メイ・ギムザ染色)が望ましい。

(4) 噴霧または滴下固定法

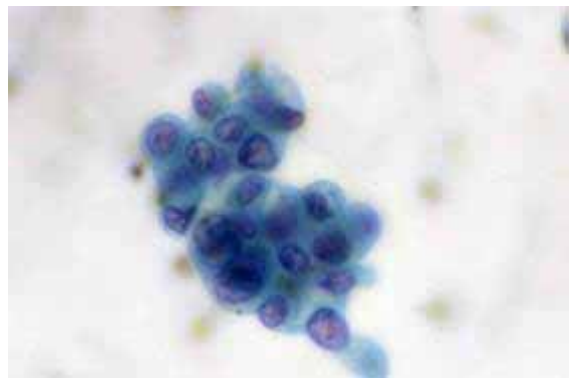
スライドガラスに塗抹した沈渣に固定液を霧状に吹き付ける。細かな粒子の固定液を吹き出すことにより細胞剥離の少ない染色性の良好な標本が得られる。

固定液の量が少ないと核の膨化や細胞質の好酸性化が見られる。滴下法では細胞分布の偏りが大きくなる。

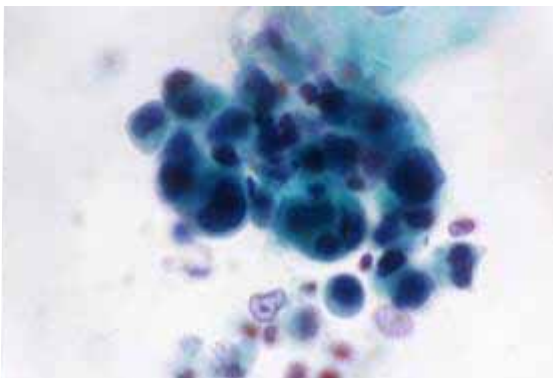
・ 処理法の違いによる細胞の特徴



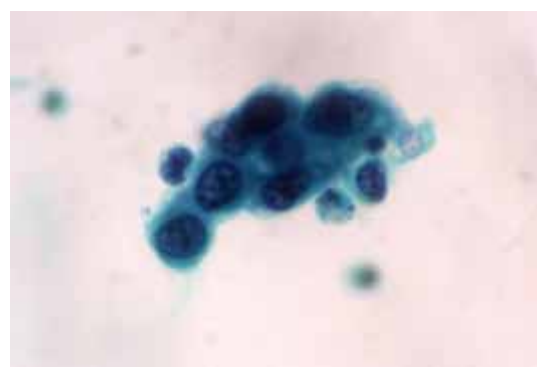
無処理・引きガラス法



直接法・フィルター法



2回遠心法・ポストサプラー処理

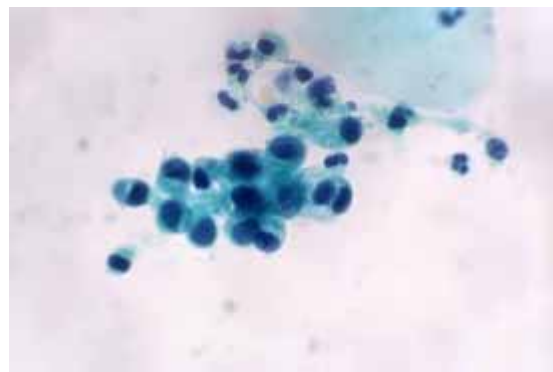


2回遠心法・YM処理

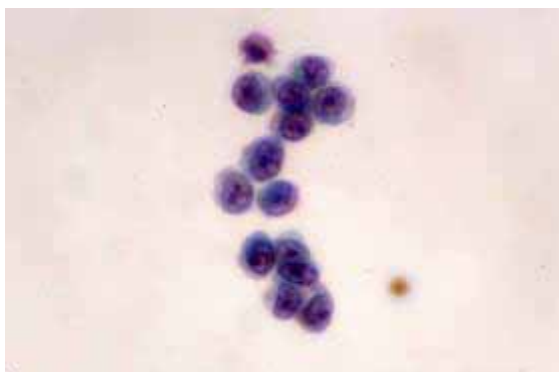
～ の核所見を比較すると無処理 > フィルター > ポスト > YMの順にわかりやすい。(×40)



直接法: サイトスピン法



2回遠心法: YM処理



直接法: フィルター法

～ の核所見を比較するとフィルター法は良好であるが、サイトスピン法とYM処理はやや濃染傾向が認められる。(×40)

・検体処理法の違いによる特徴一覧

処理方法		長 所	短 所
遠心法 (無処理)	引きガラス法	簡単・短時間・安価 染色性が良い 腫瘍細胞は引き終わりに集まり易い	個人差あり 細胞剥離が起こりやすい 性状によって出来上がりに差が生じやすい
	すり合わせ法	簡単・短時間・安価 粘稠尿に適している	細胞剥離が起こりやすい 細胞破壊が起こりやすい
2回遠心法 (細胞保存液添加法)	サコマノ液	細胞成分多い・多数 検体同時処理に有用	染色性の低下あり
	Y M 液	細胞成分多い・多数 検体同時処理に有用	濃染傾向・細胞の収縮傾向
	ウリキープ	細胞成分多い・多数 検体同時処理に有用 染色性比較的良好	やや濃染傾向あり
	ホースサンプラー	細胞成分多い・多数 検体同時処理に有用 染色性比較的良好・ 血液細胞の保持がよい	やや濃染傾向あり
法直接	フィルター法	細胞成分多い(保持率が高い) 染色性がよい・鏡検面積が少ない	コストがかかる(フィルター・スライドガラス等) 鏡検時に背景のフィルター孔が気になる
	遠心法(サイトスピ ン・オートスマ)	鏡検面積が少ない 少量検体に有効	細胞数が多いときは細胞が重なり見にくい

参考文献

- 1) 西 国広編：～基礎から学ぶ～新細胞診のすすめ方. 近代出版. 2001
- 2) 福島範子他：尿の細胞診標本作製法. 武藤化学薬品K.K. 1990
- 3) 佐竹立成編：泌尿器細胞診. シリーズ22. 80-88. 武藤化学薬品K.K. 1944
- 4) 仁平博子他：標本作製の標準化 - 尿の検体処理. 細胞検査士会報19. 1994
- 5) 田嶋基男編：細胞診の基本・各論. 武藤化学K.K. 1999

日本臨床細胞学会細胞検査士会標本作製標準化委員会・泌尿器部会

阿倉 薫 (NTT西日本大阪病院)

島内敬二 (九州厚生年金病院)

仁平博子 (東京都立墨東病院)

検討協力者

日本臨床細胞学会細胞検査士会標本作製標準化委員会・泌尿器部会・モニター施設

岩本和彦 (国立札幌病院)

吉田京子 (いわき市立総合磐城共立病院)

阿部彰吾 (日本細胞病理ラボラトリー)

森川政夫 (大阪医科大学付属病院)

池田淳子 (三信会原病院)

泌尿器マニュアル作製協力

夏目園子 (名古屋掖済会病院) 福田雅彦 (戸田中央検査研究所)

川口洋子 (東京厚生年金病院) 大崎博之 (国立善通寺病院)

國実久秋 (獨協大学越谷病院) 古市佳也 (京都市立病院)

是松元子 (埼玉社会保険病院)

学術編集担当者

三宅康之、伊藤 仁、都竹正文、西 国広、山岸紀美江

協力

武藤化学株式会社

松浪硝子工業株式会社

M B L (株) 医学生物学研究所

東洋器材株式会社

細胞診標本作製マニュアル (泌尿器)

2004年*月*日発行 第1版第1刷

発行者 細胞検査士会

本書の内容を無断で複写・複製・転載すると、著作権・出版権の侵害となることがありますので御注意下さい。