

石綿小体計測マニュアル

(第2版)

監修：神山宣彦、森永謙二

独立行政法人労働者健康福祉機構
独立行政法人環境再生保全機構

石綿小体計測マニュアル（第2版）出版に寄せて

この「石綿小体計測マニュアル（第2版）」は、平成20年3月に作成された「石綿小体計測マニュアル」を改訂したものです。

石綿による健康被害については、石綿にばく露されるような仕事が原因であれば労災保険制度やその他の災害補償制度がありますが、平成17年7月、(株)クボタ旧神崎工場周辺に職業的な石綿ばく露がないにもかかわらず中皮腫を発症した患者の存在が明らかになったことを受け、政府は、新たな法律（石綿による健康被害の救済に関する法律）を制定し（平成18年3月に施行）、労災補償等の対象とならない方々に対する救済給付として医療費等を支給するほか、時効によって労災保険法に基づく遺族補償給付の支給を受けられない遺族に対しても救済措置を講じることになりました。

この制度の実施に向け、厚生労働省と環境省は、平成17年11月に「石綿による健康被害に係る医学的判断に関する検討会」（座長：森永謙二）を設置し、救済の対象となる疾病の認定基準を検討しました。その検討結果は平成18年2月に取りまとめられましたが、石綿による肺がんの認定基準の一つとして、「乾燥肺重量1g当たり5,000本以上の石綿小体が認められること」が、上述の救済法並びに従来からの労災補償の制度とともに盛り込まれました。肺組織内の石綿小体は、過去のばく露を推測する上で重要な知見を提供するものですが、従来から、神山宣彦教授（当時、産業医学総合研究所）らが、乾燥肺重量1g当たりの石綿小体の計測結果を取りまとめて、“職業性石綿ばく露と石綿関連疾患-基礎知識と労災補償-”（三信図書、2002）で述べられています。石綿小体に係る上記の認定基準は、この神山教授らの報告等を参考にして定められたものですが、ベルギーやフランスで行われている方法とほぼ同様であり、ヘルシンキ・クライテリアにある基準値を求める方法にも合致しているものです。この計測の手順等は、既に「石綿ばく露労働者に発生した疾病の認定基準に関する検討会報告書」（平成15年8月26日）に“別添参考資料3”として、掲載し、周知を計っていました。

この新たな認定基準に肺内石綿小体計測値を採用したことを受けて、翌平成18年度厚生労働省委託研究「石綿による疾病に係る臨床・病理・疫学等に関する調査研究」（主任研究者：森永謙二）の研究の一部として、石綿小体計測の精度管理が行われるとともに、平成19年度と同調査研究においては、石綿小体として計測するものと計測しないものを写真化する作業を行い、調査研究報告書とは別に「石綿小体計測マニュアル」として取りまとめ、(独)労働者健康福祉機構から印刷・発行しました。前述の「石綿による健康被害に係る医学的判断に関する検討会」の報告書では“石綿小体、石綿繊維の計測に関する信頼性の高いデータを得るためには、一定の設備を備え、かつ、トレーニングを受けたスタッフのいる専門の施設で実施する必要がある。”と述べています。労災制度及び救済制度において石綿による肺がんの認定を行う上で、石綿小体の計測が必要になった場合は、この「石綿小体計測マニュアル」に示された、標準化された方法で実施する必要があります。

実際の肺内石綿小体の計測は、全国24の労災病院アスベスト疾患センターのうち、各ブロック（北海道、東北、関東、中部、関西、中四国、九州）の拠点となる7か所のセンター（北海道中央労災病院、東北労災病院、横浜労災病院、旭労災病院、神戸労災病院、岡山労災病院、長崎労災病院）が中心となって行われています。

労働者健康福祉機構では、このマニュアルを教材として、平成18年度末から平成21年度（平成22年度は東日本大震災の影響を受けてやむをえず中止）まで、延べ60名以上の受講者を対象に研修を行ってきました。

一方、計測の精度管理のための事業は、平成18-19年度には、厚生労働省の研究の一部として、(独)労働安全衛生総合研究所が実施してきましたが、平成20年度からは、(独)環境再生保全機構が引き継いで実施しており、平成22年度においては、12の検査施設（北海道中央労災病院、東北労災病院、横浜労災病院、旭労災病院、神戸労災病院、岡山労災病院、九州労災病院、長崎労災病院、和歌山労災病院、山陰労災病院、山口宇部医療センター、中央労働災害防止協会労働衛生調査分析センター）の参加を得て行われています。

こうした精度管理事業を通じて、石綿小体の計測に係る留意点等をより明らかにすることができるとともに、精度管理事業に参画している施設における計測精度の均てん化がはかられました。

平成21-22年度には、我が国では経験例が余り多くなかった気管支肺胞洗浄液（BALF）中の石綿小体計測について、環境省委託業務として「気管支肺胞洗浄液を用いた石綿小体計測技術の確立に関する調査業務」（代表研究者：神山宣彦）が行われ、「石綿小体計測マニュアル」（平成20年3月）に記載されたBALF中の石綿小体の計測方法をより一層充実した内容に改訂しました。（認定基準の一つとして「気管支肺胞洗浄液1ml当たり5本以上の石綿小体」があります。）

以上の精度管理事業や気管支肺胞洗浄液に係る調査業務の成果を受けて、「石綿小体計測マニュアル」の改訂を計画し、環境再生保全機構の平成23年度石綿小体精度管理事業第1回検討委員会において最終的な取りまとめを行いました。なお、これまでの「石綿小体計測マニュアル」の作成及び改訂の経緯や石綿による健康被害の補償・救済に係る石綿小体計測の実態等を踏まえ、この「石綿小体計測マニュアル（第2版）」は、環境再生保全機構と労働者健康福祉機構の共同で出版する運びとなりました。

このマニュアルが石綿小体計測に携わる方々に活用されることを期待します。

末筆になりましたが、この石綿小体計測マニュアル（第2版）」の出版にご協力いただいた関係各位にお礼申し上げます。

平成23年10月31日

独立行政法人環境再生保全機構 顧問医師 森永謙二

〔環境省中央環境審議会石綿健康被害判定小委員会 前委員長〕
〔独立行政法人労働者健康福祉機構石綿確定診断委員会 前委員長〕

第2版 編著者等

監 修

神山 宣彦 東洋大学大学院 経済学研究科
森永 謙二 独立行政法人環境再生保全機構 石綿健康被害救済部

執 筆

神山 宣彦 東洋大学大学院 経済学研究科
篠原 也寸志 独立行政法人労働安全衛生総合研究所 環境計測管理研究グループ
松本 省司 独立行政法人労働者健康福祉機構 神戸労災病院 検査科

協 力

安孫子 久男 独立行政法人労働者健康福祉機構 東北労災病院 検査科
市川 和昭 独立行政法人労働者健康福祉機構 和歌山労災病院 検査科
井手 一徳 独立行政法人労働者健康福祉機構 長崎労災病院 検査科
金澤 茂正 独立行政法人労働者健康福祉機構 九州労災病院 検査科
木下 陽介 独立行政法人労働者健康福祉機構 山陰労災病院 検査科
黒田 和彦 独立行政法人国立病院機構 山口宇部医療センター 臨床検査科
谷 清彦 独立行政法人労働者健康福祉機構 北海道中央労災病院 検査科
藤木 正昭 独立行政法人労働者健康福祉機構 岡山労災病院 検査科
水本 学 独立行政法人労働者健康福祉機構 横浜労災病院 検査科
山村 宗幸 独立行政法人労働者健康福祉機構 旭労災病院 検査科

目 次

1 肺組織中の石綿小体計数方法	1
1-1 試料のサンプリングと前処理	1
1-2 組織消化処理と標本の作製	2
1-3 石綿小体・繊維の計数と濃度計算	6
2. BALF中の石綿小体計数方法	10
2-1 石綿小体計測のための気管支肺胞洗浄（BAL）法	10
2-2 BALF中の石綿小体計測の手順	12
3. 使用する試薬、機器・器具類、顕微鏡	17
4. 石綿小体画像	21
皿鈴形状の石綿小体	22
数珠一団子形状の石綿小体	26
長繊維に伴う種々の形状の石綿小体	29
繊維が長く覆われる形状の石綿小体	32
多数の分節で繊維が長く覆われる石綿小体	35
繊維が細長く覆われる形状の石綿小体	38
多数の分節で繊維が細長く覆われる石綿小体	40
短繊維に数個の分節を伴う石綿小体	43
複数の繊維からなる石綿小体	48
繊維が屈曲する石綿小体	50
少量の付着物質からなる石綿小体	52
残渣中に埋もれて確認しにくい例	55
他の粒子が重なる例	57
コーティング形状から繊維が推定できる石綿小体	58
配列などを加味して石綿小体と判断できる例	60
繊維の有無の確認から石綿小体と判断する例	62
BALF中の石綿小体の例	63
石綿小体に計数しない粒子状、繊維状物質	65

1 肺組織中の石綿小体計数方法

本章は、石綿ばく露のレベルの評価を目的として人肺組織に残された石綿小体を定量的に計数する手法を示すものである。

1-1 試料のサンプリングと前処理

(1) 試料の種類

1. 肺実質組織とそれ以外の組織

人の石綿ばく露レベルの評価を行うための石綿小体の計数には、非腫瘍部の一定量以上の肺実質組織を用いる。

肺実質以外の腫瘍部^①、リンパ節、胸膜（胸膜プラークを含む）などの組織に存在する石綿小体に関しては、肺実質と同等の評価法がまだ確立されていないため、石綿小体によるばく露評価には不適である。

① 腫瘍部組織は、肺実質に比べて石綿小体および石綿繊維が一般に少ない。

また、次のような試料も、石綿小体を計数して石綿ばく露を評価する本方法には不適である。

- ・ TBLB等で得られた微量の検体
微量のため、組織消化処理が行えず、定量計数用の標本が作製できない。
- ・ 病理診断用の未染の薄切標本（スライド）
スライドガラスに固定されており、少量で組織消化処理が行えないため、定量用には不適當である。
- ・ HE染色標本
上記と同様に定量計数用の標本が作製できない。なお、HE染色等の標本を観察して、容易に石綿小体を確認できる場合は、高濃度の石綿ばく露が示唆されるので、その標本から有意に高い石綿ばく露があったと評価できる場合がある。
- ・ 塗抹標本（胸水細胞診、喀痰）
定量的計数が行える標本として作製が難しい。

2. 肺実質組織の保存形態

1) ホルマリン固定組織：肺組織を中性緩衝ホルマリン^①固定したもの。

① 中性緩衝ホルマリンの使用：ホルマリンはpH4前後の酸性溶液であるため、クリソタイルなどの石綿繊維はホルマリン中で次第に溶解する可能性がある。これを避けるため、リン酸緩衝液でpH7.4-7.6程度に調節された中性緩衝ホルマリンを使用することが望ましい。

2) パラフィン包埋組織：肺組織をパラフィン固定したもので、0.2-0.3cm³以上（乾燥重量0.05g以上）の組織が必要である^①。脱パラフィン処理して、ホルマリン固定組織と同様に扱う。

① 腫瘍部を含まない肺実質の体積。複数のブロックを合わせてこの必要量を満たしてもよい。石綿小体の計数値が小さい時に、使用した組織量が少ないと誤差の原因となるため、一定量以上の肺実質が必要である。一般に石綿小体は腫瘍などの病変部分にはあまり存在しないので、その部分を用いるのは好ましくない。脱パラフィン処理前にHE染色した病理切片を作製し、実質部であることを確認した部位を使用することが望ましい。

(2) サンプルング

剖検肺

左右の各葉から壁側に近い部分の肺実質を計5点採取する^①ことが望ましい。そこから0.5～1g程度ずつの等量を混合して1個の試料として扱う。1点しか採取できない場合は、できるだけ下部の末梢組織から2～5g程度採取する。

- ① 採取時の注意：腫瘍等の病変部を含まない部分から採取する。

手術切除肺

腫瘍部を含まない部分で、できるだけ下部の末梢組織から2～5g程度採取する。

パラフィン包埋肺

脱パラフィン処理を行い、剖検肺等と同様に扱う。

脱パラフィン処理の手順

- 1) カセットから組織を切り離し、組織周囲のパラフィンを除去する。
- 2) 組織を数ミリ幅に切り離す。
- 3) 切り離した組織をキシレンに浸し、24時間以上かけて脱パラフィンを行う。
この処理の間に3～5回、新しいキシレンと交換する。
- 4) 脱パラフィン化した組織をエタノールに浸し、洗浄する。

(3) 試料の前処理

1. 試料の細切化

サンプルングした組織から、大きな気管支・血管部分を避けて、正常な肺実質1～2g（ホルマリン固定組織の場合）をとり、メスで数ミリ角に細切する。

2. 試料の秤量操作（湿重量と乾燥重量）

- 1) あらかじめ風袋重量を精秤した秤量皿に、細切した試料を入れて精秤し、両者の差から湿重量を求める。
- 2) 湿重量を求めた試料を、110℃の乾燥器^①で2～4時間乾燥した後に精秤^②する。試料を遠沈管に移した後の秤量皿の風袋重量を精秤し、両者の差から乾燥重量を求める。

① 乾燥器：乾燥中の試料汚染を防ぐため、ろ紙等を蓋にして秤量皿を覆うとよい。

② 精秤値：原則として0.01mg（g単位で小数点以下5桁）までの数値を記録する。

1-2 組織消化処理と標本の作製

1. 乾燥試料を50ml遠沈管^①に入れ、組織消化液^②30ml^③を加える。

- ① 遠沈管：ポリエチレンまたはガラス製で、密栓できる蓋付き遠沈管を使用する。
- ② 組織消化液：クリーン99 K-200（クリーンケミカル製品、20%次亜塩素酸ナトリウムと5%水酸化カリウムを含む洗剤）。これ以外に5～20%の次亜塩素酸ナトリウムを含む漂白液を使用してもよい。
- ③ 液量の目安：消化する組織重量が2gを越えるときは、湿重量1gにつき15mlを基準に消化液量を増やす。

2. 蓋をした遠沈管を60℃の乾燥器中に数時間以上^①放置し、組織を消化する。

① 消化時間：組織残渣の状態を観察し、組織塊が認められなくなるまで消化を行う。

3. 消化処理の終わった遠沈管を遠心処理^①し、上澄を棄却^②する。沈殿残渣が多い場合は、1～2の消化処理を再度行う。

① 遠心処理条件：回転数3000rpmで30分間。

② 上澄の棄却：遠心分離機停止後に時間を置かず、ピペット等を用いて、管底の沈殿を乱さないように、急激な吸引を避けて上澄を吸引し棄却する。

図1 肺組織処理方法の概要

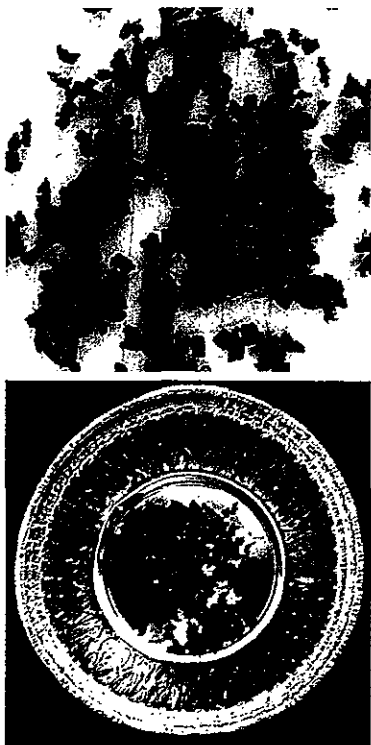
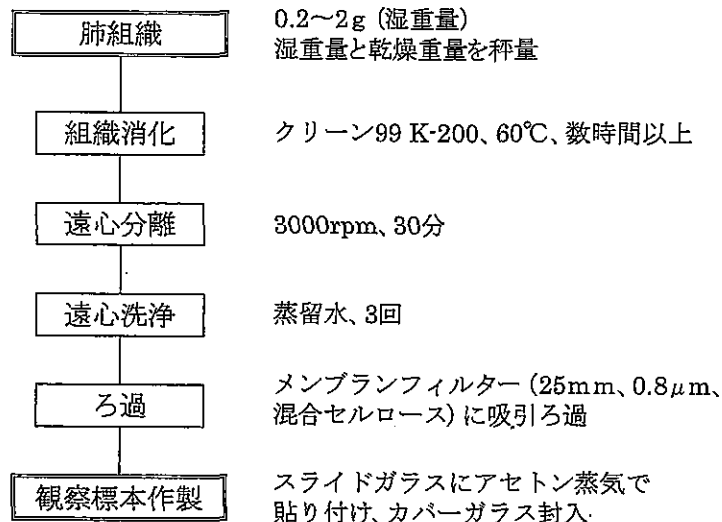


図2 細切した組織 (左上)、乾燥後の組織 (左下)、遠沈管中の組織に組織消化液を加えた状態 (下)

4. 遠沈管に蒸留水30mlを加え、残渣を良く分散^①させる。再び遠沈し、上澄を棄却する。この洗浄操作を3回繰返す。

① 分散処理：超音波洗浄機を用いた1分程度の分散処理または試験管ミキサーなどによる攪拌処理を行う。

5. 洗浄操作後、精秤した50mlガラス瓶^①に遠沈管の内容物を全て移し、蒸留水で50mlに定容化^②する。

① ガラス瓶：清浄で密栓できる、スクリーバイアル等のガラス瓶。

② 定容化の方法：ガラス瓶の風袋重量を精秤する。ガラス瓶に試料懸濁液を入れ、天秤上で液重量が50gとなるまで蒸留水を加え、精秤する。比重を1として容量に換算する。

6. ガラス瓶中の懸濁液を攪拌して均質な分散状態とし、ピペット^①で1~20mlの適当量^②を分取し、50mlコニカルビーカーに移す。

① ピペット：全量ピペットまたは容量1~10mlのピペッターを使用する。ピペッターの場合は、使用するチップで蒸留水を吸引し、その重量を精秤し、比重を1として分取容量に換算することによって、ピペッターの容量を校正する。

② 分取量：試料重量、組織状態によって分取量は異なる。作製した標本を観察し、分取量を調節することになる。

7. コニカルビーカーに蒸留水20~40mlを加えて希釈し、全量をフィルター^①上に吸引ろ過する。

① フィルター：25mm径、孔径0.8 μ m（または0.45 μ m）の混合セルロースメンブランフィルター。

8. ろ過したフィルターをよく乾燥^①させた後に、メスで半切^②する。

① フィルターの乾燥：ペトリシャーレなどに移し汚染を避けて室温で乾燥させる。40℃前後の乾燥器で2時間以上乾燥しても良い。乾燥が不十分であると、次のアセトン処理時にフィルターが白濁する原因となる。50℃以上のやや高い温度で急速に乾燥するとフィルターが反るなどして、アセトン処理時のフィルター固定が不完全となる。

② フィルターの切断：半切せずにフィルター1枚をスライド観察標本としても良い。フィルター1枚を標本とする場合は、フィルターの直径がスライドガラス幅とほぼ同じであるため、慎重に中心位置を定め、トリアセチンの揮発を防ぐために周囲を封じるなどの注意が必要である。

9. 清浄なスライドガラスの上に、試料捕集面を下（ガラス面）に向けてフィルターを載せ、アセトン蒸気で固定・透明化^①する。

① フィルターの固定：アセトン蒸気発生装置（QuickFixTMなど）を使用する。装置下部のアセトン吹出し口の直下にフィルターが位置するように、フィルターを載せたスライドガラスを挿入する。アセトン200~300 μ l（半切フィルターの場合）をゆっくりと注入し気化させる。フィルター1枚を固定する場合は、開口部の手前側を別のスライドガラスで覆ってからアセトンを注入し気化させる。

図3 吸引ろ過器とアスピレーター

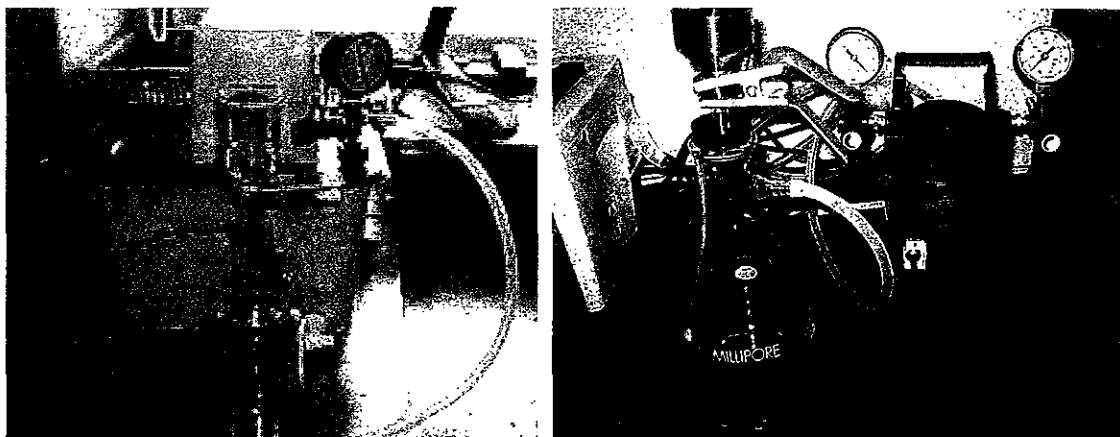


図4 吸引ろ過器へのフィルターのマウント

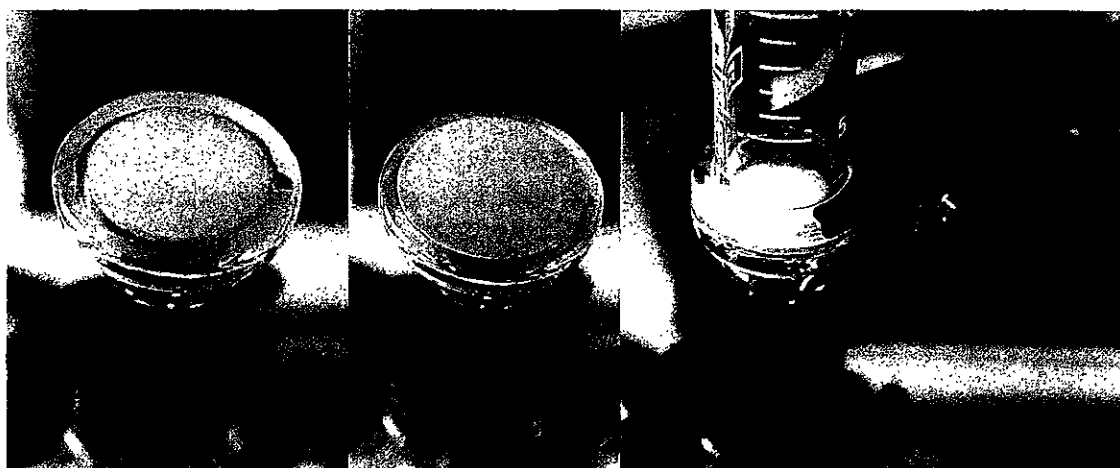


図5 アセトン蒸気発生装置

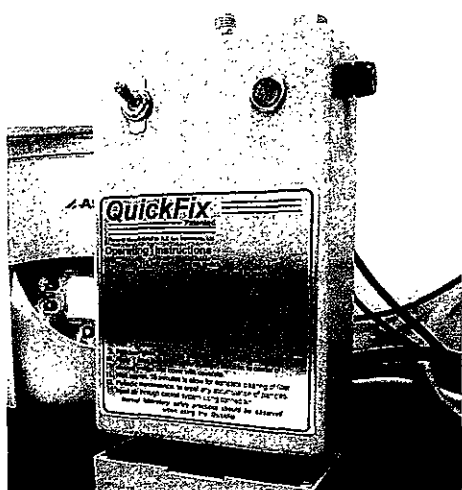
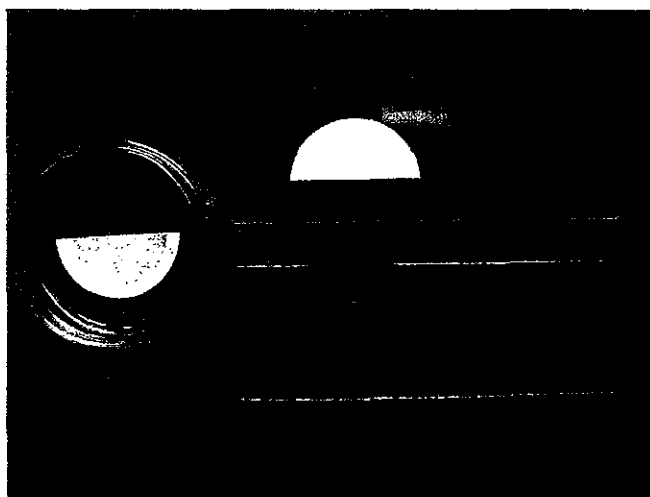


図6 半切フィルター (左)、スライドガラス上のフィルター (右上)、透明化後のフィルター (右下)



10. トリアセチン^①を2〜3滴滴下し、カバーガラス^②を載せ観察標本とする^③。

- ① 標本封入剤：トリアセチンは時間が経つと蒸発し、保存期間は1ヶ月程度である。さらに長期間保存するために、エンテランニュー（メルク製品）などの、屈折率が1.5かそれより小さい値の、標本封入剤をトリアセチンの代わりに使用してもよい。
- ② 対物レンズで指定された厚さのカバーガラス（通常は0.17mm、対物レンズに刻印されている）を使用する。
- ③ アセトンで透明化した状態で長く放置すると、フィルターの剥離等がおこり透明性が劣化することがある。あまり時間をおかずにカバーガラス封入を行うことが望ましい。

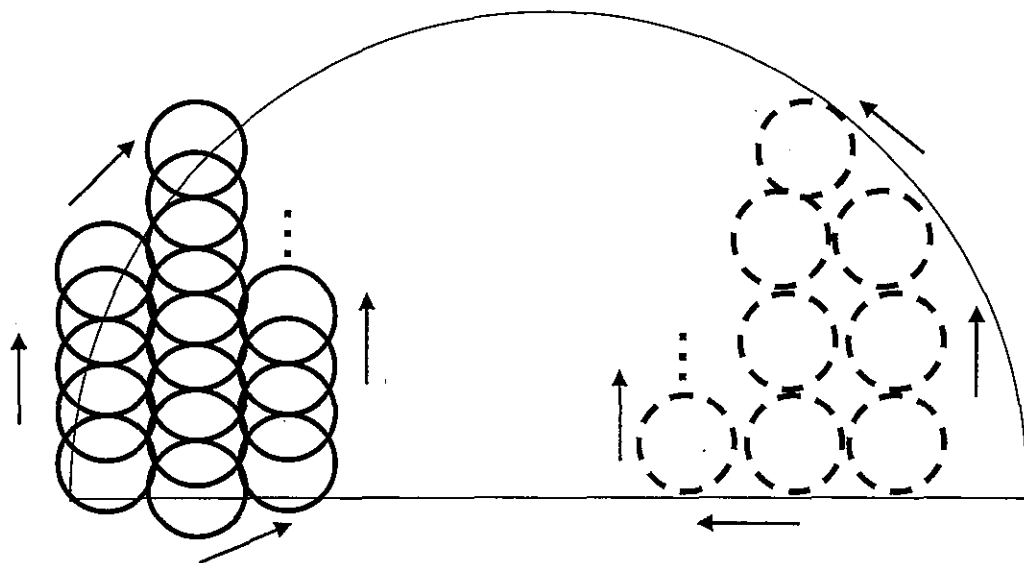
1-3 石綿小体・繊維の計数と濃度計算

観察標本に存在している石綿小体（AB）を位相差顕微鏡により計数する。位相差顕微鏡による石綿繊維については、必要に応じて計数を行う。

1. 位相差顕微鏡（接眼10倍、対物40倍）を用いて観察標本中のABを計数する。フィルターの全面（原則としてフィルター1枚の全面、1枚を半切したフィルター（1/2枚）では各々の全面）を観察し、その時のAB数を記録する。ABが多い場合は200本に達するまでフィルターを連続的に計数^①し、その時の視野数を記録する。

- ① 視野移動の方法： 視野移動は上下または左右の、計数者が観察しやすい方向へ連続して行う。接眼レンズに装着したアイピースグレイティクルの大円を基準として、大円内部のABを計数する。フィルター全面計数の場合は大円を1/2ずつずらしながら、隣の視野へ移動する。視野数で計数する場合は、大円を接するようにして隣の視野へ順次移動する。下図（図7）に視野移動の例を示す。

図7 半切フィルター上の視野移動の方法
（実線：全面計数の例、点線：視野数計数の例）



2. 乾燥重量、分取率、AB数の各データを次式に代入して、1g乾燥重量に対するAB濃度を計算する。

$$C_{AB} = \frac{N_{AB}}{F \times W_L}$$

ここで、 C_{AB} = 石綿小体 (AB) 濃度 (本/g乾燥肺)

N_{AB} = 計数したAB数 (本)

F = 分取率 (試料液分取率と計数面積比または計数視野数^{①、②}から求める。計算例を参照のこと)

W_L = 肺試料量 (乾燥重量; g)

- ① 計数視野数：分取率の計算に使用する。半切したフィルター全面を計数した場合は、面積比を1/2 (0.5) とする。1枚のフィルター全面を計数した場合は面積比を1とする。
- ② 有効ろ過面積：フィルター全面でなく計数視野数をもとに濃度計算を行う場合は、フィルター上に捕集された試料の面積 (有効ろ過面積) が必要となる。使用する吸引ろ過器のファンネル直径またはフィルター上に捕集した試料の直径を測定する。

3. 検出下限 (DL) 値の計算を行う。DL値は、その計数において1本のABが検出された場合の濃度として計算する。

4. 必要に応じて、AB計数と同時に、位相差顕微鏡で観察される繊維^①も計数^②することが望ましい。繊維濃度の計算法はABの場合と同じである。

- ① 位相差顕微鏡で見える繊維は比較的大きな繊維であるが、その情報は石綿ばく露レベル判定の補助的データとなるので、計数しておくことが望ましい。位相差顕微鏡では繊維の種類は分からないが、石綿らしき繊維は慣れてくると分かる。これらと異なる繊維の多くは、グラスウールやロックウールのことが多い。
- ② 計数する繊維の基準：長さ5 μ m以上、アスペクト比 (長さとの幅の比) 3以上で長辺が平行な繊維を計数する。

5. 計算の実例

計算例1) フィルター1/2枚ずつの計数

乾燥重量0.0913gの検体を50mlに定容し、そこから5mlを分取し、フィルターにろ過した。フィルター上に捕集された試料面の直径は18mmであった。半切したフィルターの全面を観察し、23本の石綿小体が検出された。さらに残りの半切したフィルター全面を観察し、21本の石綿小体が検出された。

組織重量 (g乾燥重量)	定容化量 (ml)	分取量 (ml)	観察視野 フィルター面積比	計数石綿小体数 (本)
0.0913	50	5	1/2 (1枚目)	23
0.0913	50	5	1/2 (2枚目)	21

計数石綿小体数：23+21=44

分取率 (溶液分取率×計数面積比)：0.1×1=0.1

溶液分取率：5/50=0.1

計数面積比：[(9×9× π)/2]/(9×9× π) + [(9×9× π)/2]/(9×9× π) = 1

組織重量：0.0913g

石綿小体濃度：44 / (0.1×0.0913) = 4819 (本/g乾燥肺)

検出下限値：1 / (0.1×0.0913) = 110 (本/g乾燥肺)

計算例2) フィルター1枚の計数

乾燥重量0.2919gの検体を50mlに定容し、そこから2mlを分取し、フィルターにろ過した。フィルター上に捕集された試料面の直径は18mmであった。1枚のフィルター全面を観察し、14本の石綿小体が検出された。

組織重量 (g乾燥重量)	定容化量 (ml)	分取量 (ml)	観察視野 フィルター面積比	計数石綿小体数 (本)
0.2919	50	2	1	14

計数石綿小体数：14本

分取率 (溶液分取率×計数面積比)： $0.04 \times 1 = 0.04$

溶液分取率： $2/50 = 0.04$

計数面積比： $(9 \times 9 \times \pi) / (9 \times 9 \times \pi) = 1$

乾燥重量：0.2919g

石綿小体濃度： $14 / (0.04 \times 0.2919) = 1199$ (本/g乾燥肺)

検出下限値： $1 / (0.04 \times 0.2919) = 86$ (本/g乾燥肺)

計算例3) 視野数による計数

乾燥重量0.20608gの検体を50mlに定容し、そこから2.5mlを分取し、フィルターにろ過した。フィルター上に捕集された試料面の直径は16mmであった。400倍 (対物40倍) でアイピースグレーティクル大円内の352視野を観察し、234本の石綿小体が検出された。

組織重量 (g乾燥重量)	定容化量 (ml)	分取量 (ml)	捕集径 (mm)	観察視野数	計数石綿小体数 (本)
0.20608	50	2.5	16	352	234

計数石綿小体数：234本

分取率 (溶液分取率×計数面積比)： $0.05 \times 0.12375 = 0.0061875$

溶液分取率： $2.5/50 = 0.05$

計数面積比： $[(0.15 \times 0.15 \times \pi) \times 352] / (8 \times 8 \times \pi) = 0.12375$

大円の直径：0.3mm、試料捕集直径：16mm

乾燥重量：0.20608g

石綿小体濃度： $234 / (0.0061875 \times 0.20608) = 183512$ (本/g乾燥肺)

検出下限値： $1 / (0.0061875 \times 0.20608) = 784$ (本/g乾燥肺)

計算例4) フィルター複数枚の計数

乾燥重量0.2919gの検体を50mlに定容し、そこから2mlを分取し、フィルターにろ過した。フィルター上に捕集された試料面の直径は18mmであった。1枚のフィルター全面を観察し、14本の石綿小体が検出された。更に3mlを分取しフィルターろ過し、半切したフィルターの全面を計数し、9本の石綿小体が検出された。

組織重量 (g乾燥重量)	定容化量 (ml)	分取量 (ml)	観察視野 フィルター面積比	計数石綿小体数 (本)
0.2919	50	2	1	14
0.2919	50	3	1/2	9

計数石綿小体数：14+9=23本

分取率（溶液分取率×計数面積比）： $(0.04 \times 1) + (0.06 \times 0.5) = 0.04 + 0.03 = 0.07$

溶液分取率：1回目計測=2/50=0.04、2回目計測=3/50=0.06

計数面積比：1回目計測= $(9 \times 9 \times \pi) / (9 \times 9 \times \pi) = 1$

2回目計測= $[(9 \times 9 \times \pi) / 2] / (9 \times 9 \times \pi) = 1/2 = 0.5$

乾燥重量：0.2919g

石綿小体濃度：23/(0.07×0.2919)=1126（本/g乾燥肺）

検出下限値：1/(0.07×0.2919)=49（本/g乾燥肺）

計算例5a) フィルター1/2枚のみの計数

乾燥重量0.43146gの検体を50mlに定容し、そこから2mlを分取し、フィルターにろ過した。フィルター上に捕集された試料面の直径は16mmであった。半切したフィルターの全面を観察し、117本の石綿小体が検出された。

組織重量 (g乾燥重量)	定容化量 (ml)	分取量 (ml)	観察視野 フィルター面積比	計数石綿小体数 (本)
0.43146	50	2	1/2	117

計数石綿小体数：117本

分取率（溶液分取率×計数面積比）： $0.04 \times 0.5 = 0.02$

溶液分取率：2/50=0.04

計数面積比： $[(8 \times 8 \times \pi) / 2] / (8 \times 8 \times \pi) = 1/2 = 0.5$

乾燥重量：0.43146g

石綿小体濃度：117/(0.02×0.43146)=13559（本/g乾燥肺）

検出下限値：1/(0.02×0.43146)=116（本/g乾燥肺）

計算例5b) フィルター1/2枚のみの計数

乾燥重量0.09342gの検体を50mlに定容し、そこから15mlを分取し、フィルターにろ過した。フィルター上に捕集された試料面の直径は18mmであった。半切したフィルターの全面を観察し、8本の石綿小体が検出された。

組織重量 (g乾燥重量)	定容化量 (ml)	分取量 (ml)	観察視野 フィルター面積比	計数石綿小体数 (本)
0.09342	50	15	1/2	8

計数石綿小体数：8本

分取率（溶液分取率×計数面積比）： $0.3 \times 0.5 = 0.15$

溶液分取率：15/50=0.3

計数面積比： $[(9 \times 9 \times \pi) / 2] / (9 \times 9 \times \pi) = 1/2 = 0.5$

乾燥重量：0.09342g

石綿小体濃度：8/(0.15×0.09342)=571（本/g乾燥肺）

検出下限値：1/(0.15×0.09342)=71（本/g乾燥肺）

2 BALF中の石綿小体計数方法

2-1 石綿小体計測のための気管支肺胞洗浄 (BAL) 法

1. BALは、わが国で標準的とされている方法¹⁾に従い、気管支肺胞洗浄液 (BALF) を採取する。原則、中葉舌区を無菌生理食塩水50mlで3回洗浄し、分割して回収する (1-3分画)。BALFの各分画を別々に解析している施設では、3分画は混和せず、第2分画から20mlを石綿小体計測検体として提出する。BALFの各分画を混和して解析している施設では、3分画の混和液から原則20mlを石綿小体計測検体として提出する。解析には20mlを使用することを原則とするが、再検や保存を考慮する場合は、最低10mlの使用でもよい。

1) 井上義一、他 (2008)BAL法の手技：気管支肺胞洗浄 [BAL] 法の手引き、p.8-10、日本呼吸器学会びまん性肺疾患学術部会 厚生労働省難治性疾患克服研究事業びまん性肺疾患調査研究班、克誠堂出版。
2. 肺がん症例でも原則中葉舌区でBALを行う。ただし、中葉舌区に肺がんがある場合、肺がんのない側でBALを実施する。
3. 回収したBALFは通常2層の無菌ガーゼを通し粘液等を除去するが、石綿小体計測用の検体は、原則ガーゼを通さずに (ガーゼを通す前に分取し) 提出する。
4. BALFの回収率が25%以下 (回収液で38ml以下) の場合は、更に50mlで4回目の洗浄を行い、1-3回目のBALFと混和したものを提出可とする。提出検体は、原則20ml、解析のために最低必要量は10mlである。4回の洗浄でも回収率が25%を下回った場合は (200ml注入し回収液の含量が50ml以下)、そのBALFは末梢気道および肺胞領域の洗浄が不十分であると考えられ、石綿小体計測結果は、有意な個数の石綿小体が検出された場合のみ判定材料として利用するに留める。もし検出されなかった場合は不適検体による参考値として扱い、判定を行わない。
5. 石綿小体計測のためのBALF検体 (原則20ml) は、原則50ml遠沈管で提出する。また、BAL法実施にあたっては、患者の個人データを整理するために下記のような表 (次ページ「石綿小体計測用BAL個人表」参照) を作成する。提出時に可能な限り患者情報に加え添付のBAL情報 (洗浄部位、回収率、細胞数、細胞分類) を記載する。
6. 石綿小体計測に使用した検体以外の検体は、必要に応じてガーゼを通し、診療用のBAL検体として、総細胞数、細胞分画を行い、さらに細胞診、リンパ球表面マーカー等の解析も必要に応じて加える (約20-30ml必要である)。
7. 経気管支肺生検 (TBLB) や経気管支生検 (TBB) を行う場合は、BALを行った後、TBLB、TBBを行うこと。

石綿小体計測用BAL個人票 (No. _____)				
施設名 ()		提出医/主治医名 ()		
患者番号		年齢	歳	性別
患者背景	肺癌 ・ 石綿肺 ・ 胸膜プラーク ・ びまん性胸膜肥厚 ・ その他 ()			
喫煙歴	現在喫煙している ・ 喫煙歴有り ・ 喫煙歴無し			(本/日を 年間)
石綿吸入に係る職業歴 (居住歴)	(職種、居住歴等の出来るだけ詳細な記述)			
BAL検査日	()年 ()月 ()日	BAL実施に係る特記事項 ※分画数など	()	
BAL洗浄部位	右 ・ 左 S ()	提出液	第2分画、50ml × 3混和、その他 ()	
注入量	()ml	回収量	()ml	
細胞数 (濃度) 施行した場合記入		() × 10 ⁶ /ml		
細胞分画 (施行した場合可能であれば記入)	マクロファージ	() %	リンパ球	() %
	好中球	() %	好酸球	() %
	その他	() %		
	CD4/8	() %		

2-2 BALF中の石綿小体計測の手順

BALFから石綿小体（AB）濃度を計測するためには、下記の標本作製手順と計測方法に従って行い、最終的にBALF1ml当たりの石綿小体数で表現する。

気管支鏡観察および気管支肺胞洗浄（BAL）施行



○気管支肺胞洗浄液（BALF）採取

原則として、各分画を別々に解析している施設では第2分画を20ml、混和している施設では混和液から20mlを使用する。



○消化処理

BALFを入れた遠沈管に同量の次亜塩素酸系消化液（K-200[®]）を加え60℃の乾燥機中で1～2時間放置する。



○定容化

遠沈（3000rpm）を30分間行い、上澄を廃棄し、沈渣に蒸留水を加え攪拌。この操作を3回行い、最後の上澄を廃棄後、沈渣に蒸留水を加えてよく分散し、ガラスバイアル瓶に移して50mlに定容化する。



○分取

検出下限値が0.25以下になるよう、定容液50mlから10ml以上を分取する。
※検出下限値については、13ページの「検出下限値換算表」を参照。



○吸引濾過・乾燥

混合セルロースエステルメンブランフィルター（直径25mm、孔径0.8 μ mまたは0.45 μ m）に吸引濾過し、乾燥させる。



○計数標本作製

乾燥後、濾過面をスライドグラスに向けて置き、アセトン蒸気を噴霧して接着・透明化し、エンテランニューまたはトリアセチンで封入し、カバーグラスを載せ計測用の標本とする。



○計測

位相差顕微鏡（接眼×10、対物×40）でフィルター全面を検索して全石綿小体を計測する。



石綿小体濃度（石綿小体数/ml）を計算する。

BALF1mlあたりの石綿小体濃度の計算式（フィルタ全面計測の場合）

$$C_{AB} = \frac{N_{AB}}{F \times M_{BALF}}$$

- C_{AB} = 石綿小体濃度（石綿小体数/ml）
 N_{AB} = 計測された石綿小体数
 F = 50ml定容液からの溶液分取率
 M_{BALF} = 分析に使用したBALF量（原則20ml）

そのとき、当該計数において1個の石綿小体が計測されたときの石綿小体濃度を計算し、検出下限値（Detection Limit：DL値）として示しておく。

検出下限値換算表

フィルタ全面を計測した場合の検出下限値（本/ml）

		分析に使用したBALF量（ml）					
		10	15	20	25	30	40
50 ml に 定 容 化 し た 溶 液 か ら の 分 取 量 （ ml ）	5	1.00	0.67	0.50	0.40	0.33	0.25
	10	0.50	0.33	0.25	0.20	0.17	0.13
	15	0.33	0.22	0.17	0.13	0.11	0.08
	20	0.25	0.17	0.13	0.10	0.08	0.06
	25	0.20	0.13	0.10	0.08	0.07	0.05
	30	0.17	0.11	0.08	0.07	0.06	0.04
	35	0.14	0.10	0.07	0.06	0.05	0.04
	40	0.13	0.08	0.06	0.05	0.04	0.03
	45	0.11	0.07	0.06	0.04	0.04	0.03
	50	0.10	0.07	0.05	0.04	0.03	0.03

次に気管支肺胞洗浄液（BALF）中の石綿小体測定法の手順をより詳細に述べておく。

1. 気管支肺胞洗浄液（BALF）採取

気管支肺胞洗浄（BAL）にて得られた液（BALF）を回収する。通常無菌生理食塩水50mlを3回注入し、それぞれ回収し第1分画、第2分画、第3分画とし、検査試料として用いる。その際、回収率も記載しておく。石綿小体計測以外にも検査に用いる場合が多いため、第1、第3分画は他の検査に使用し、第2分画を石綿小体計測用に使用することが望ましい。注入量の合計が150ml以下の場合はその量と回収量も記録する。第2分画から精密上皿天秤を用いて遠沈管に20ml（比重を1として20mg）を正確に採取する。第2分画が20mlに満たない場合には、第2分画に第3分画を加え、合計20mlとして用いる。それでも不足している場合は、第1分画、第4分画の順に追加し、測定試料とする。

2. 消化処理

ラボ洗浄液（クリーン99 K-200[®]；20%次亜塩素酸ナトリウム+5%水酸化カリウム+表面活性剤）を消化液として用いる。消化液をBALFとほぼ同量（10～20ml）加え、1～2時間60℃の乾燥器中に放置して組織成分を完全に消化する。

3. 定容化

遠心分離機で3000回転30分間遠沈する。上澄を棄却した遠心管に蒸留水を加えて超音波洗浄機やミキサーを用いて軽く攪拌処理を行う（1分間以内）。この操作を3回繰り返して沈殿物を洗浄する。この洗浄操作においては、遠心分離機が停止してから時間をあまりおかず水流ポンプやピペット等を用いて上澄を棄却することが重要である。この時、管底の沈殿物を乱さない様に急激な吸引を避けて残液量をやや多めの状態にして試料の損失を防ぐ。遠心管を傾斜させて上澄を排出することは避ける。

洗浄が終了後、懸濁液を50mlスクリーキャップ付ガラスバイアル瓶に移し、正確に50mlに定容化する。

定容化の方法：精密上皿天秤を用いてガラスバイアル瓶の風袋重量を精秤し、試料懸濁液を入れ液重量が50gになるまで蒸留水を加え精秤する。比重を1として容量に換算する。

4. 分取

通常、ガラスバイアル瓶中の50ml定容懸濁液を超音波洗浄機やミキサーを用いてよく攪拌して均質な懸濁液にしてから、精密ピペットにて10mlをコニカルビーカーに分取する。このときの使用分取量は患者のばく露レベルや測定施設の計数の都合等で統一することは難しいが、10mlを基準に増減すると良い。この方法で定容懸濁液約40mlが残量となる。残渣液を用いて電子顕微鏡によるBALF中の石綿繊維の計測や石綿繊維の種類分析も可能である。

5. 吸引濾過・乾燥

吸引濾過装置で濾過する際、コニカルビーカーやろ過装置の容器内に付着した試料が完全になくなるまで充分洗浄して吸引すること。また、ろ過後の混合セルロースエステルメンブランフィルターはシャーレに保管するが、そのとき残渣物捕集面を上にして室温で乾燥させる。

また、40℃前後の乾燥機で2時間以上乾燥させてもよい。乾燥が不十分だと、透明化の時に白濁の原因となり計測不能となるので十分な乾燥に留意する。

6. 計測標本作成

スライドガラスにフィルターを載せるとき試料ろ過面を下向きにして、アセトン蒸気発生装置 (Quick Fix[®]) を使用して透明化処理を行う。装置下部のアセトン蒸気吹き出し口の直下にフィルターを載せたスライドガラスを挿入し、アセトン200〜300 μ lをゆっくりと注入し、アセトン蒸気を吹付ける。アセトンで透明化した状態でそのまま長く放置すると、フィルターの剥離がおこり透明性が悪くなることがあるので、あまり時間をおかずに次のトリアセチンやエンテランニューなどの封入剤を2〜3滴々下しカバーグラスをかける操作を行う。

※フィルターを半切し、計数標本を2枚に分けて作製してよいが、その両方を計測することが望ましい。

7. 計測

カバーグラスで封入後、位相差顕微鏡で石綿小体を計測する。計測方法は組織試料の場合と同様である。この手順と条件 (定容液からの分取量10ml/50mlなど) で測定すると、検出下限値が0.25本/mlとなる。

●計算例

1) 計算例1

BALF20mlを処理して50mlに定容し、そこから10mlを分取し、フィルターにろ過した。フィルターの試料ろ過面の直径は18mmであった。半切したフィルターの全面を観察し、10本の石綿小体が検出された。さらに残りの半切したフィルター全面を観察し、12本の石綿小体が検出された。

BALF量 (ml)	定容化量 (ml)	分取量 (ml)	観察視野 フィルター面積比	計数石綿小体数 (本)
20	50	10	1/2 (1枚目)	10
20	50	10	1/2 (2枚目)	12

計数石綿小体数：10+12=22本

分取率 (溶液分取率×計数面積比)：0.20×1.0=0.20

(溶液分取率：10/50=0.20)

(計数面積比： $[(9 \times 9 \times \pi)/2]/(9 \times 9 \times \pi) + [(9 \times 9 \times \pi)/2]/(9 \times 9 \times \pi) = 1.0$)

使用BALF量：20ml

結果：石綿小体濃度 $22/(0.20 \times 20) = 5.50$ (本/ml)

検出下限値 $1/(0.20 \times 20) = 0.25$ (本/ml)

2) 計算例2

BALF 10mlを処理して50mlに定容した。そこから40mlを分取し、フィルターにろ過した。フィルターの試料ろ過面の直径は18mmであった。半切したフィルターの全面を観察し、5本の石綿小体が検出された。さらに残りの半切したフィルター全面を観察し、4本の石綿小体が検出された。

BALF量 (ml)	定容化量 (ml)	分取量 (ml)	観察視野 フィルター面積比	計数石綿小体数 (本)
10	50	40	1/2 (1枚目)	5
10	50	40	1/2 (2枚目)	4

計数石綿小体数：5+4=9本

分取率 (溶液分取率×計数面積比)：0.8×1=0.8

(溶液分取率：40/50=0.8)

(計数面積比： $[(9 \times 9 \times \pi)/2]/(9 \times 9 \times \pi) + [(9 \times 9 \times \pi)/2]/(9 \times 9 \times \pi) = 1.0$)

使用BALF量：10ml

結果：石綿小体濃度 $9/(0.8 \times 10) = 1.13$ (本/ml)

検出下限値 $1/(0.8 \times 10) = 0.13$ (本/ml)

3 使用する試薬、機器・器具類、顕微鏡

(1) 試薬

試薬類（トリアセチン、その他の封入剤を除く）、蒸留水は、石綿小体分析用に専用で使用し、他の検査検体からの汚染が生じることを避ける。可能であれば、使用前に $0.45\mu\text{m}$ （または $0.8\mu\text{m}$ ）のメンブランフィルターでろ過して使用することが望ましい。

- ・組織消化液
クリーン99 K-200（クリーンケミカル製品）
クリーン99 K-200中の次亜塩素酸ナトリウムは濃度が高く次第に揮散するため、開封後は密栓できる容器に取り分け、冷蔵庫等で低温保管することが望ましい。
- ・アセトン、キシレン、エタノール
特級または1級試薬。
- ・トリアセチン、その他の封入剤
トリアセチンは屈折率1.434の液体で、位相差顕微鏡によるアスベスト計数標本作製に一般的に用いられる。この他に使用可能な封入剤として、屈折率が1.5かそれ以下であることが明示されている、エンテランニュー（メルク製品）、スーパーマウント（ファルマ取扱い）などがある。これらを使用すれば標本を長期間保管できる利点がある。使用する場合は、あらかじめトリアセチン封入標本と比較して、顕微鏡下での繊維の視認性に差が無いことを確かめておくことが望ましい

(2) 機器・器具類

石綿小体の計数標本の作製には、次のような機器・器具類を必要とする。また、脱パラフィン処理等でキシレンを使用する際には、ドラフトなどの局所排気設備が必要である。

- ・電子天秤
試料の秤量、定容化に使用できる、 100g ～ 0.01mg が秤量可能な機種。
- ・遠心分離機
 50ml 遠沈管が使用でき、 3000rpm 以上の回転数が得られるもの。
- ・乾燥機
試料の乾燥、消化処理が行える、 $40\sim 110^\circ\text{C}$ の温度設定が可能な、定温乾燥機。
- ・超音波洗浄機、試験管ミキサー
遠沈管、ガラス瓶内の沈殿を分散させることができるもの。超音波洗浄機による分散が困難な場合には、試験管ミキサーなどを使用してもよい。
- ・アセトン蒸気発生装置
アスベスト分析用に市販されている、QuickFixTM（クイックフィクス）を使用する。
- ・アスピレーター
吸引ろ過で使用する。圧力調節器が付属した、電動の吸引装置が好ましい。
- ・計数カウンタ
アスベスト小体の計数に使用する、1～5連の数取器。
- ・スカルペル
試料の細切等に使用する、外科用メス。
- ・ピンセット
歯科用ピンセットなど、メンブランフィルターの取り扱いに便利なもの。
- ・秤量皿
試料の秤量、乾燥に使用する、 110°C までの耐熱性を持つ皿。アルミカップでもよい。

図8 試薬類 (左:クリーン99 K-200、中:トリアセチン、右:エンテランニュー)

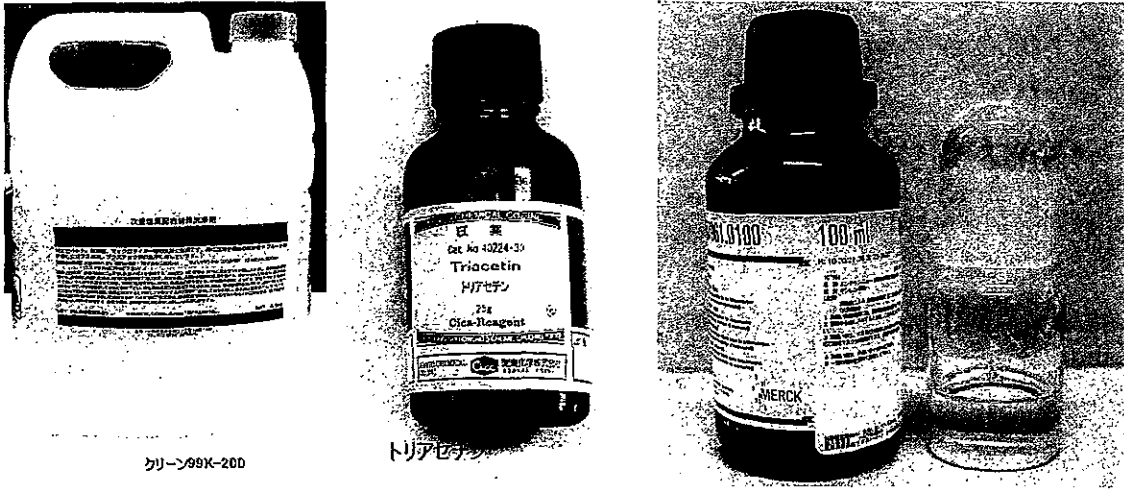


図9 電子天秤

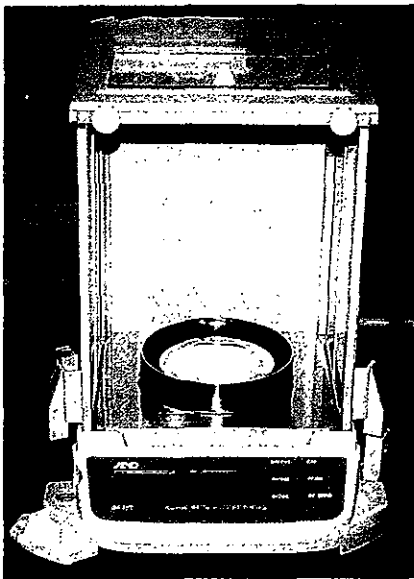


図10 定温乾燥機

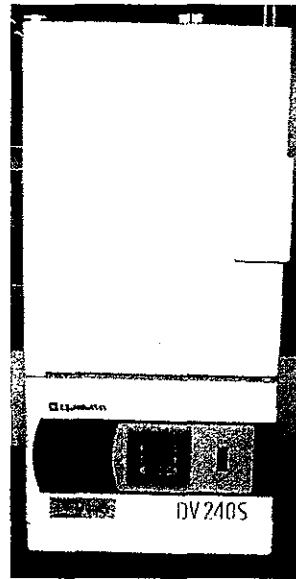
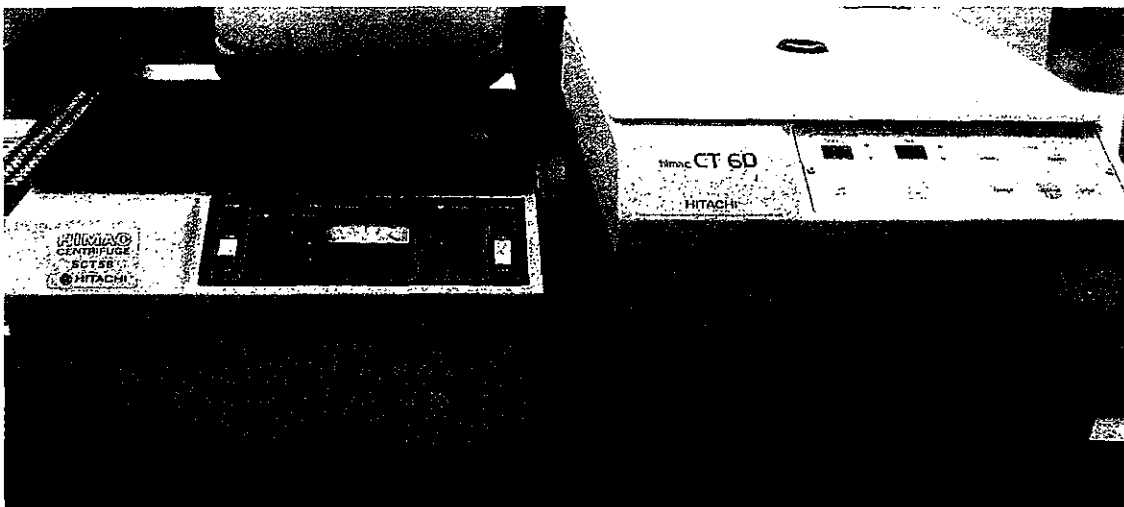


図11 遠心分離機



- ・メスシリンダー
組織消化液を量り取る、容量50～100mlのもの。
- ・ガラス瓶
検液を保管するために密栓できる、スクリューバイアル等の50ml容器。
- ・コニカルビーカー
分取した検液を希釈する、容量50～100mlのもの。
- ・ピペット
検液の分取に使用する、全量ピペット各種または必要な容量をカバーするピペッターとチップ。
- ・シリンジ
アセトン注入、トリアセチン滴下に使用する、注射器（シリンジ）またはマイクロピペッターとチップ。
- ・吸引ろ過装置
25mmフィルター用のファンネル、ベース、クランプのセットに、吸引びん（500ml～1L）を組み合わせたもの
- ・メンブランフィルター
直径25mm、孔径0.8 μ m（または0.45 μ m）の混合セルロースメンブランフィルター。
- ・スライドガラス
JIS規格を満たす、標準形（26×76mm）のもの。
- ・カバーガラス
JIS規格を満たす、サイズが24×32mm程度のもの。
- ・シャーレ
メンブランフィルターが保管できる、ペトリディッシュなどの蓋付透明容器。
- ・定性ろ紙、アルミホイル
フィルター半切作業などで使用する。

(3) 位相差顕微鏡

位相差顕微鏡の仕様は、JIS A1481（建材製品中のアスベスト含有率測定方法）に示される次のような性能を持つものとする。

1. 透過照明光源（ハロゲン100W以上）を備え、コンデンサは、位相差対物レンズに対応するリング絞りが組み込まれているもの。
2. ステージ（載物台）は、JIS R3703（顕微鏡用スライドガラス）に規定するスライドガラス（標準形）が1枚以上装着でき、その全面を移動観察できるもの。
3. 対物レンズは、位相差対物レンズで10倍、40倍を備えているもの。
4. レボルバは、上記の対物レンズが同時に装着できるもの。
5. 接眼レンズは、10倍又は15倍を備え、いずれも計数用のアイピースグレーティクルを備えてあるもの（双眼顕微鏡の場合は、いずれか片方）

なお、これらの仕様に加えて、通常の生物用対物レンズ40倍を装着すれば、位相差板をオープンとした状態で観察した時に、試料中の繊維の確認が容易となる場合がある。著者の一人の黒田和彦は、以下の方法を提案している。

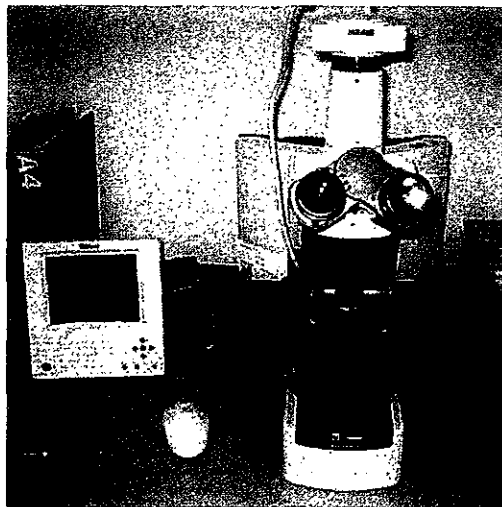
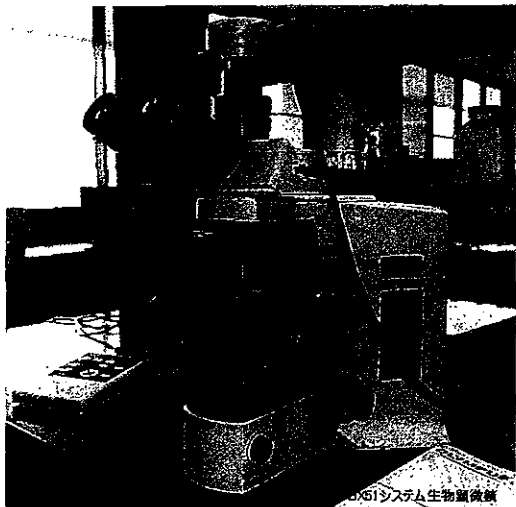
位相差顕微鏡では光りすぎて繊維の確認が困難な場合や紛らわしい場合に、次のようにすると繊維の有無が確認しやすい場合がある。

1. 通常の位相差対物レンズ40倍で観察する場合の位相差用ターレットPh2を、0の明視野用中空穴とする。
2. 対物レンズを生物用レンズ（例えばPlanApo）40倍に切り替える。
3. 光量はそのままで、位相差用ターレットコンデンサを下げ、眩しくない状態とする。
4. この状態で微動ハンドルを動かして焦点を変えて観察する。この時、繊維であれば透明な棒状の立体として見える。

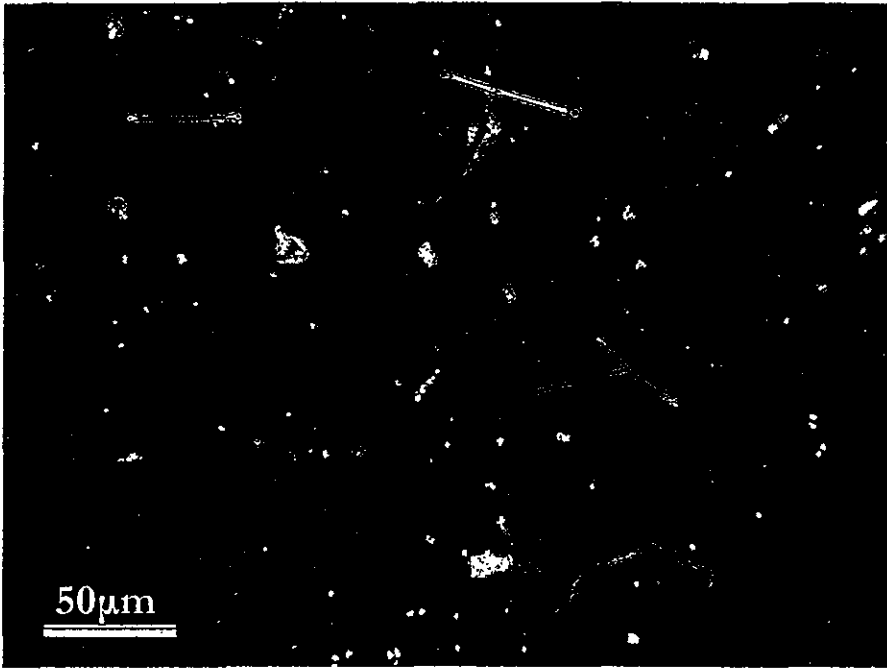
その他、付属装置として、CCDカメラなどの写真撮影装置を装着していることが望ましい。また、位相差顕微鏡の調整方法は、取扱い説明書ならびに、次の文献を参考にするとよい。

- 1) 環境省 水・大気環境局大気環境課 (2007) アスベストモニタリングマニュアル (第3版)
- 2) (株)日本作業環境測定協会 (2005) 作業環境測定ガイドブック1 鉱物性粉じん関係

図12 CCDカメラを装着した位相差顕微鏡



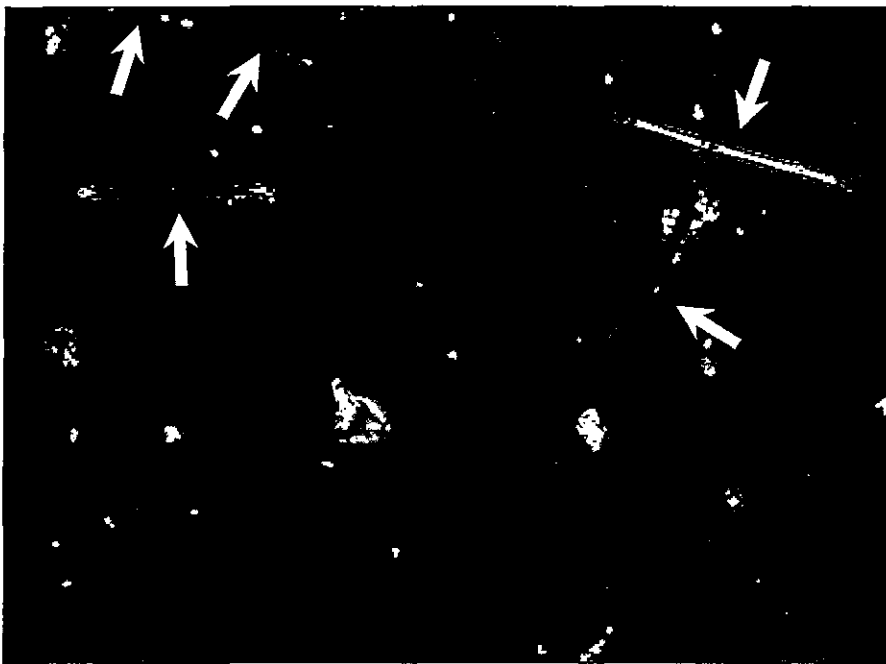
石綿小体画像



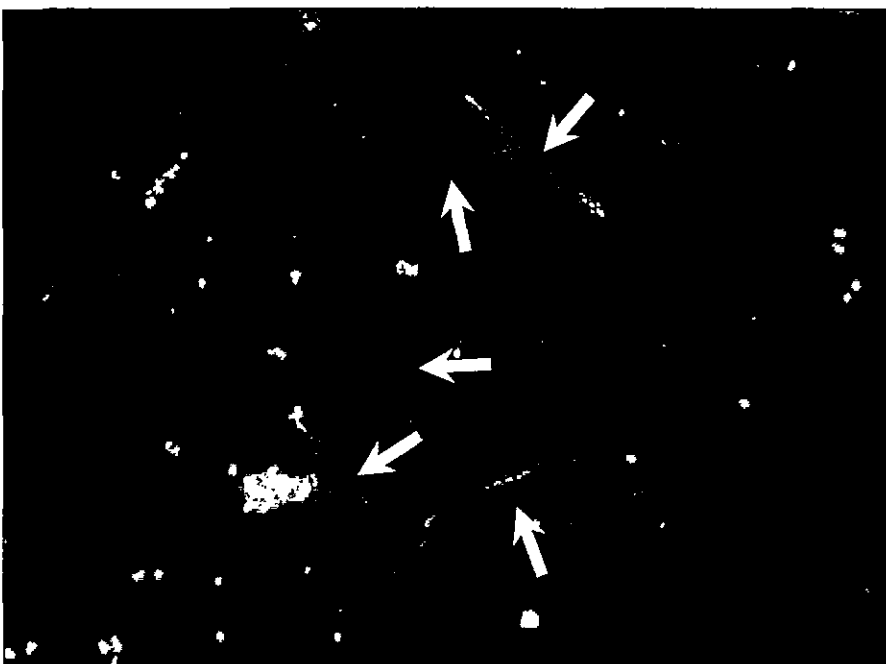
垂鈴形状の石綿小体

⇒繊維の両端が丸い分節で包まれる

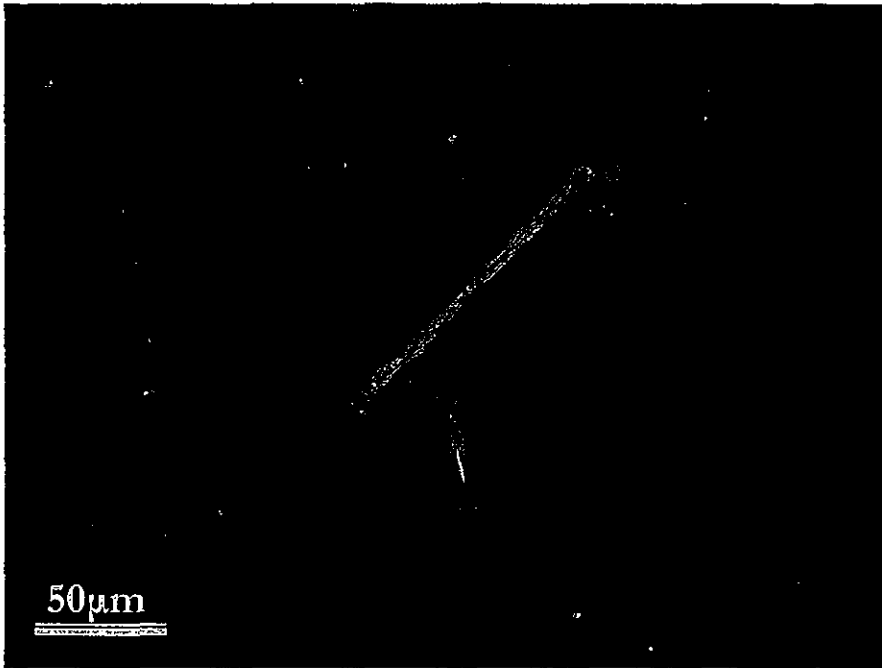
1



1-a 1の左上部 (1.5倍拡大)。左上の2本は、間に繊維が確認できれば1本と計数



1-b 1の右下部 (1.5倍拡大)。上左、中央は少量付着型の石綿小体



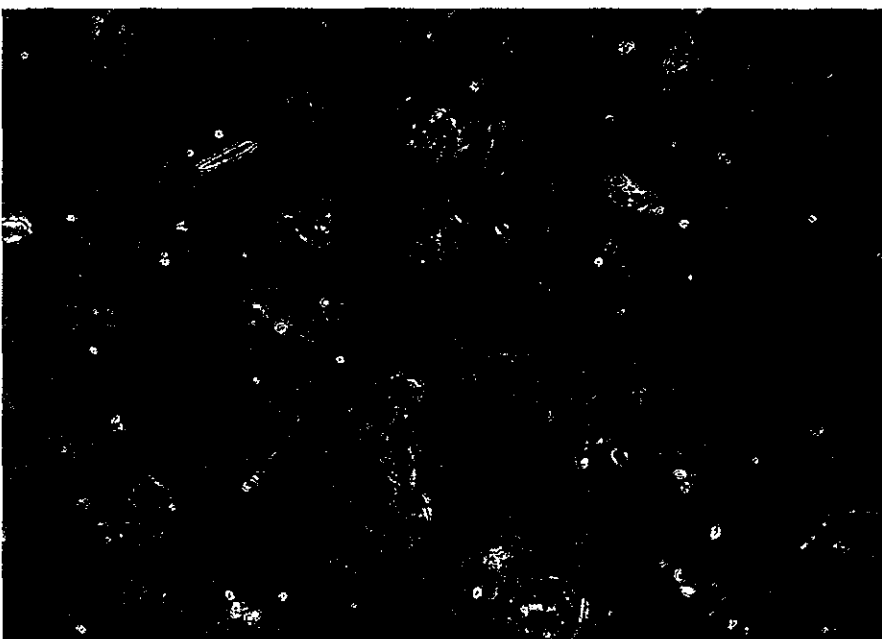
亜鈴形状の石綿小体

⇒繊維の両端が丸い分節で包まれる

2 2本の石綿小体



3



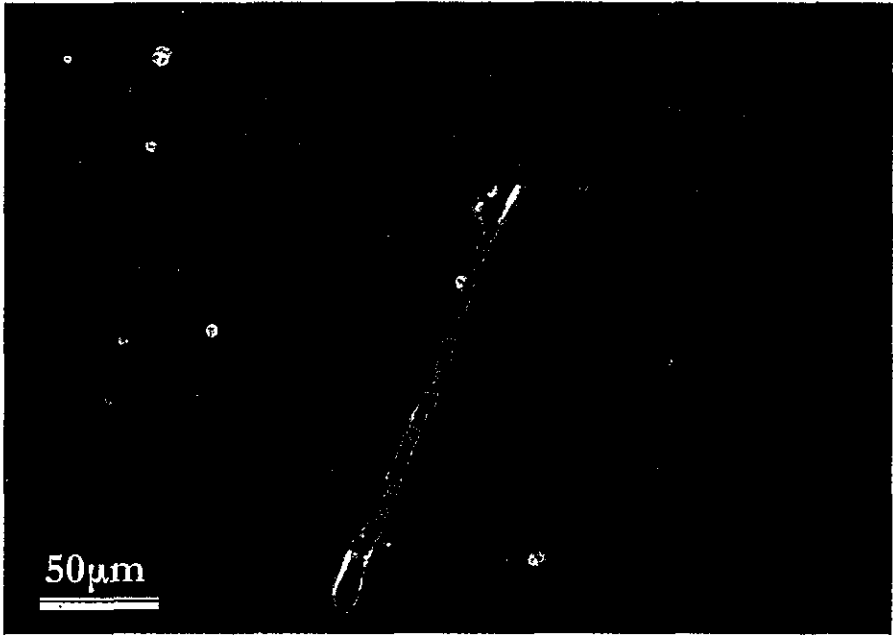
4



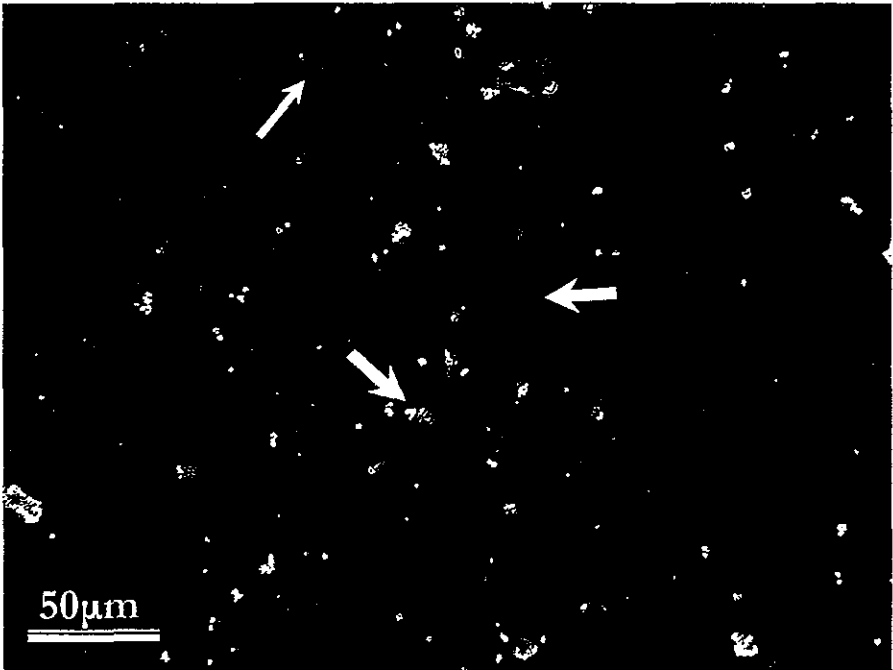
壺鈴形状の石綿小体

⇒繊維の両端が丸い分節で包まれる

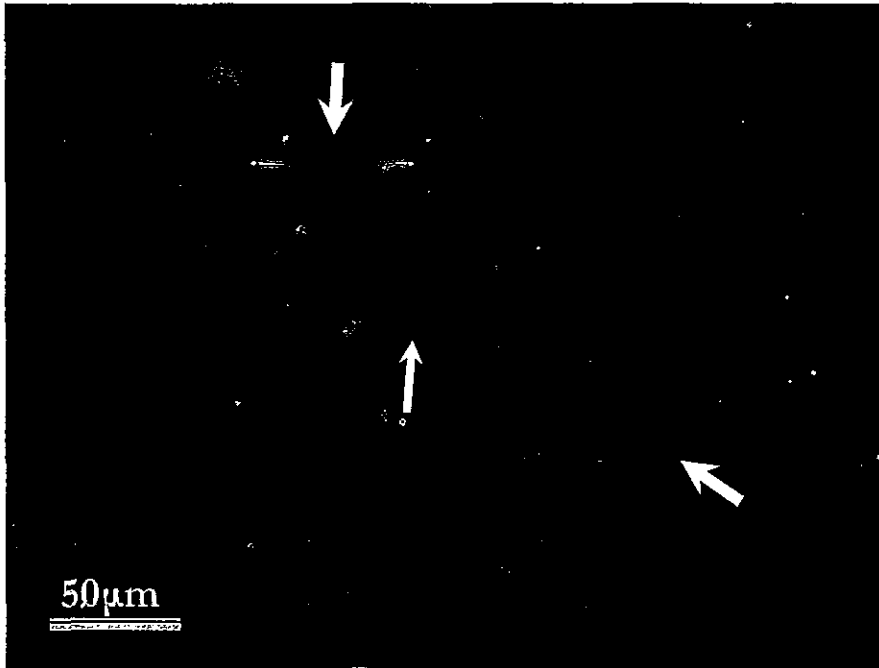
5



6



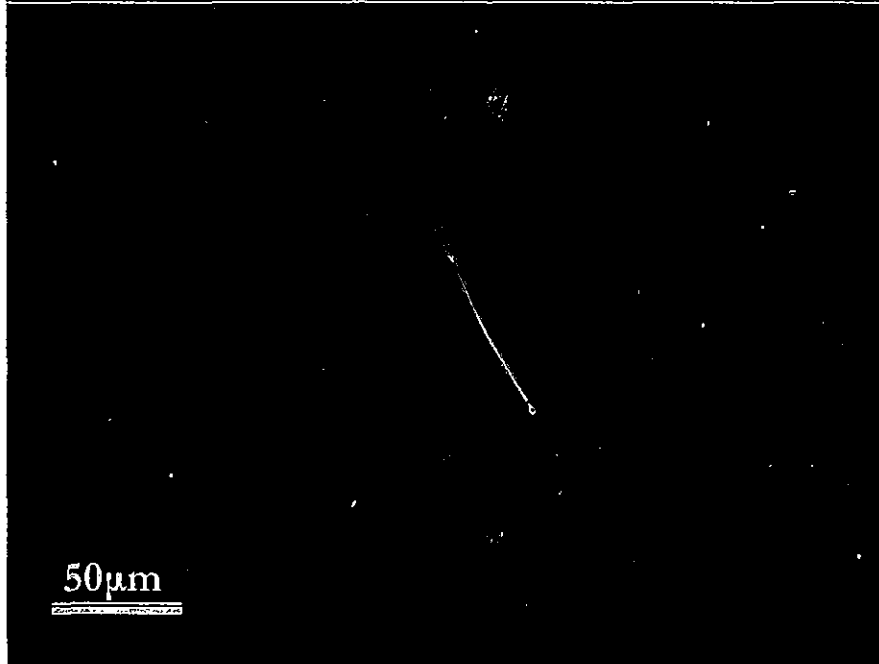
7 太矢印で示す2本の石綿小体。中央上の石綿小体は一端のみに丸い分節を持つ



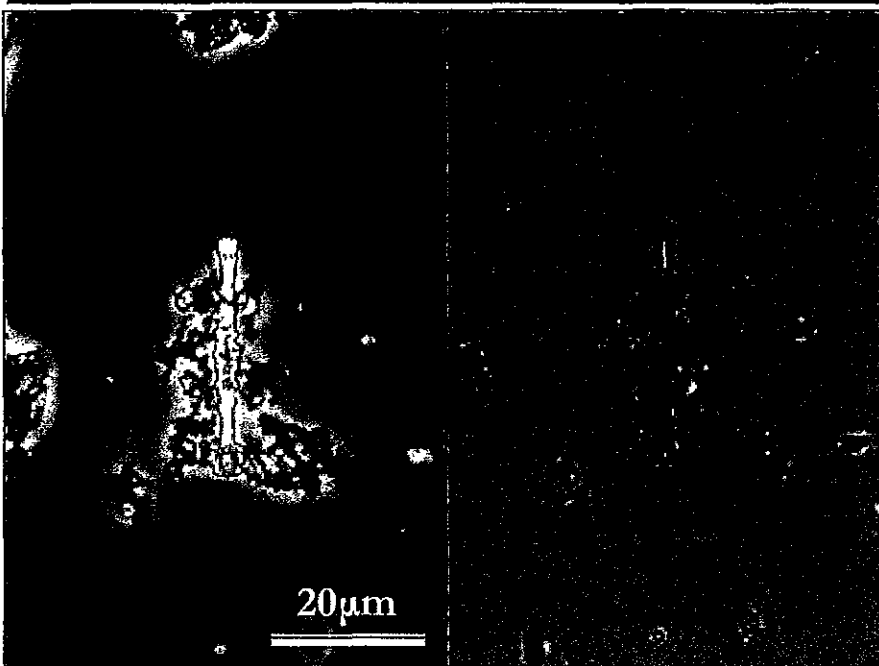
亜鈴形状の石綿小体

⇒繊維の両端が丸い分節で包まれる

8 太矢印で示す 2 本の石綿小体。中央は一端のみに丸い分節を持つ



9



10 位相差顕微鏡.(左)と生物顕微鏡(右)像で比較

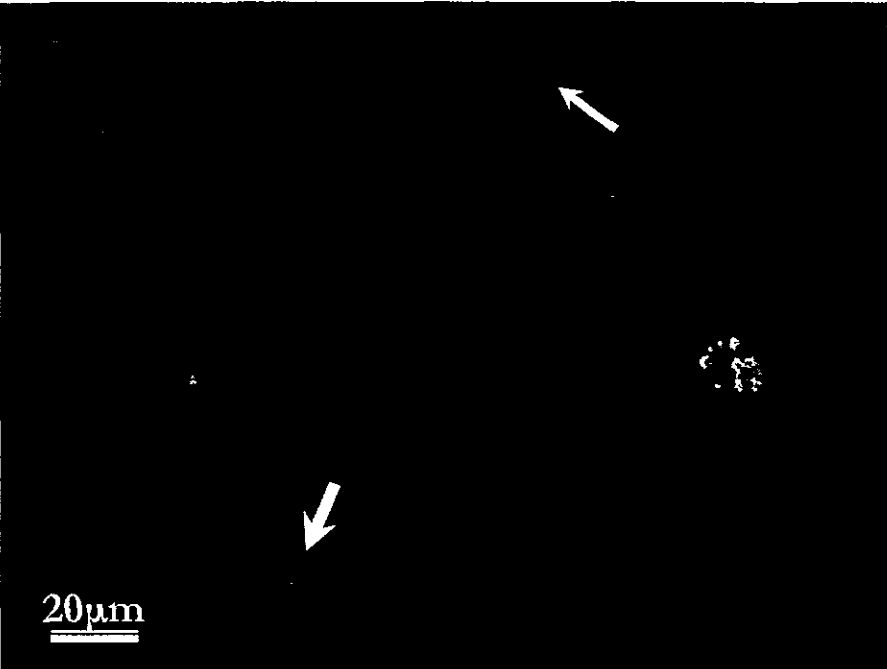
数珠~団子形状の石棉小体
⇒丸い分節が連なる



11



12

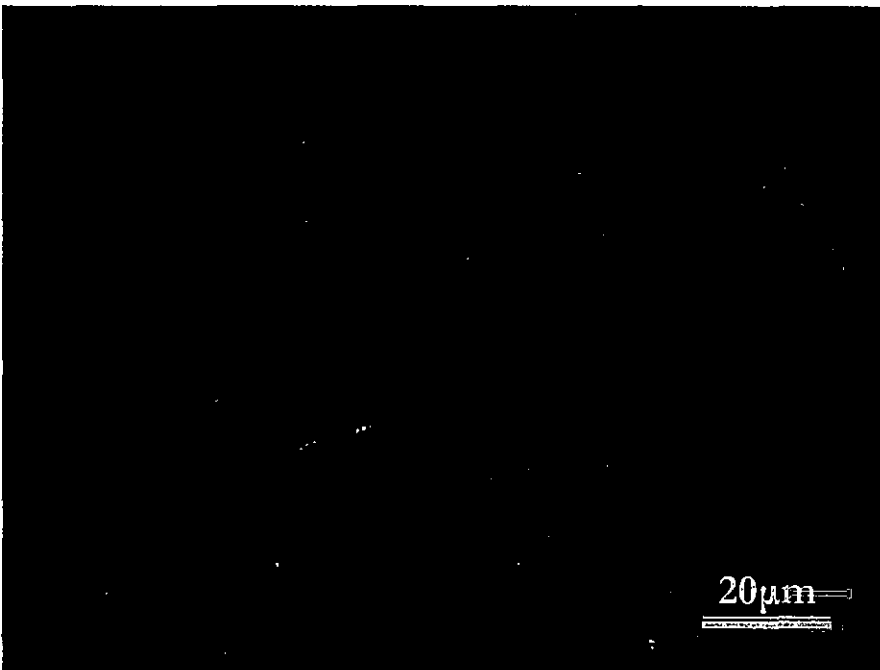


13 下の太矢印で示す石棉小体。上は繊維が長く覆われる石棉小体

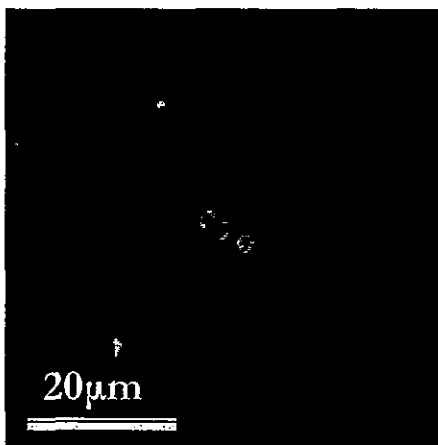
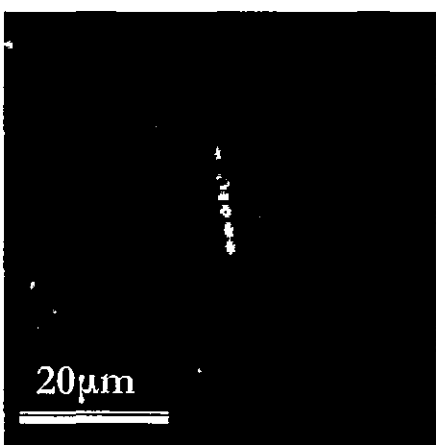
数珠~団子形状の石綿小体
⇒丸い分節が連なる



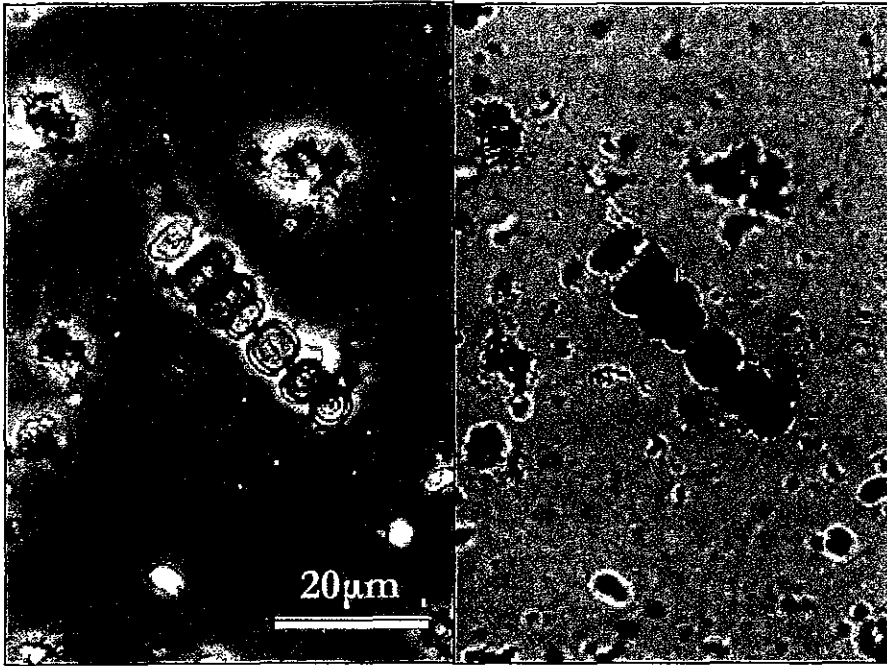
14



15

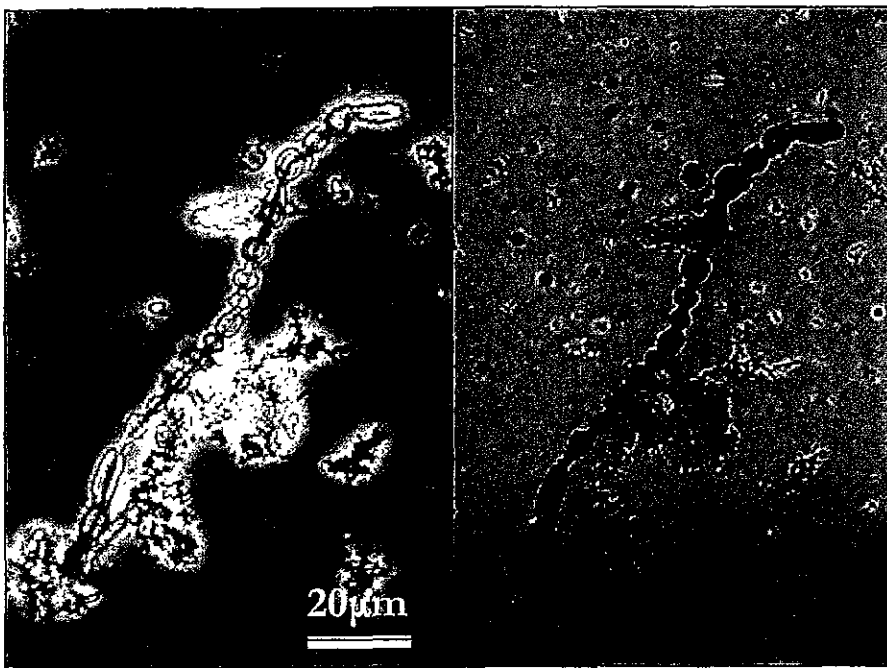


16、17

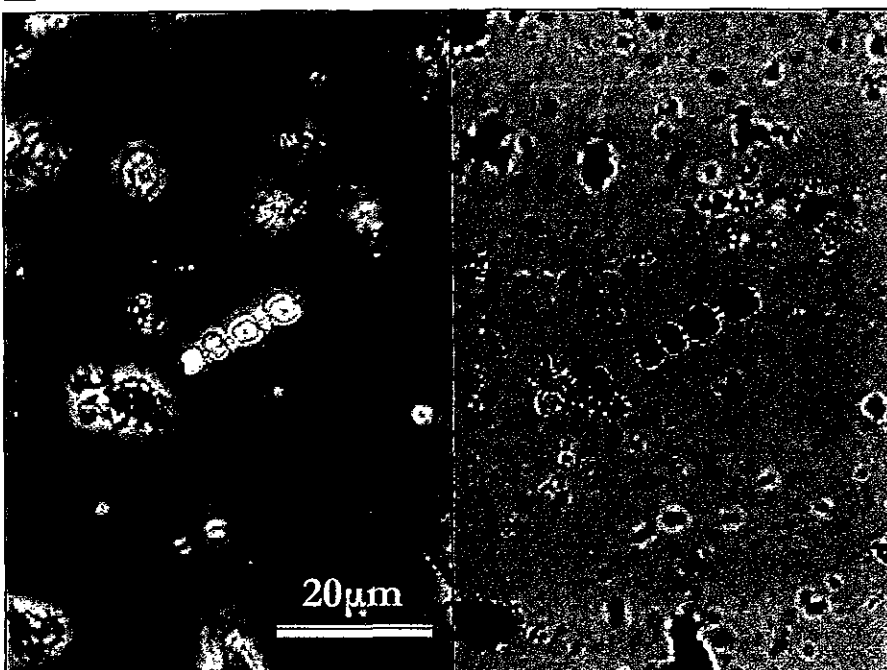


数珠~団子形状の石綿小体
⇒丸い分節が連なる

18 位相差顕微鏡（左）と生物
顕微鏡（右）像で比較

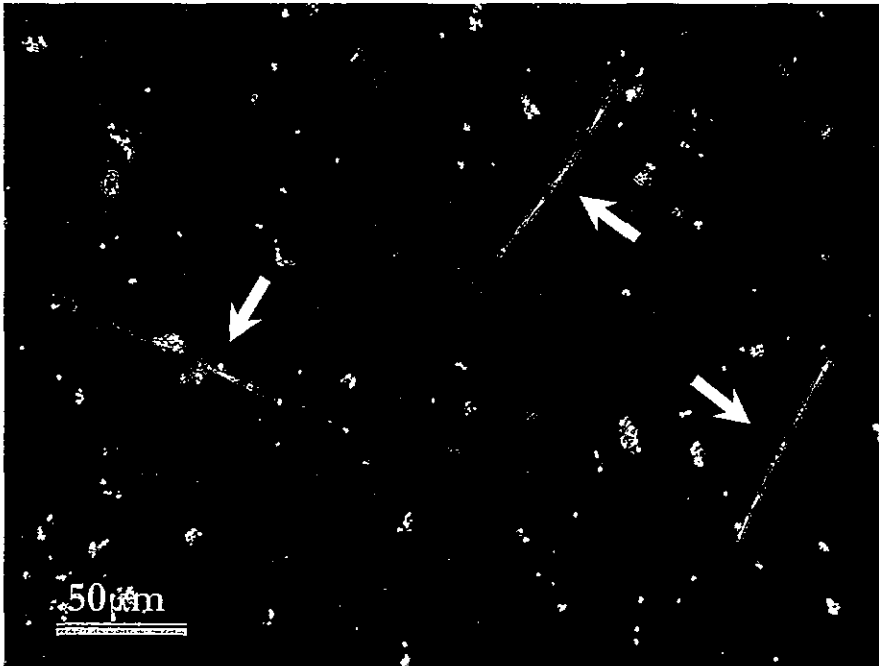


19 位相差顕微鏡（左）と生物
顕微鏡（右）像で比較

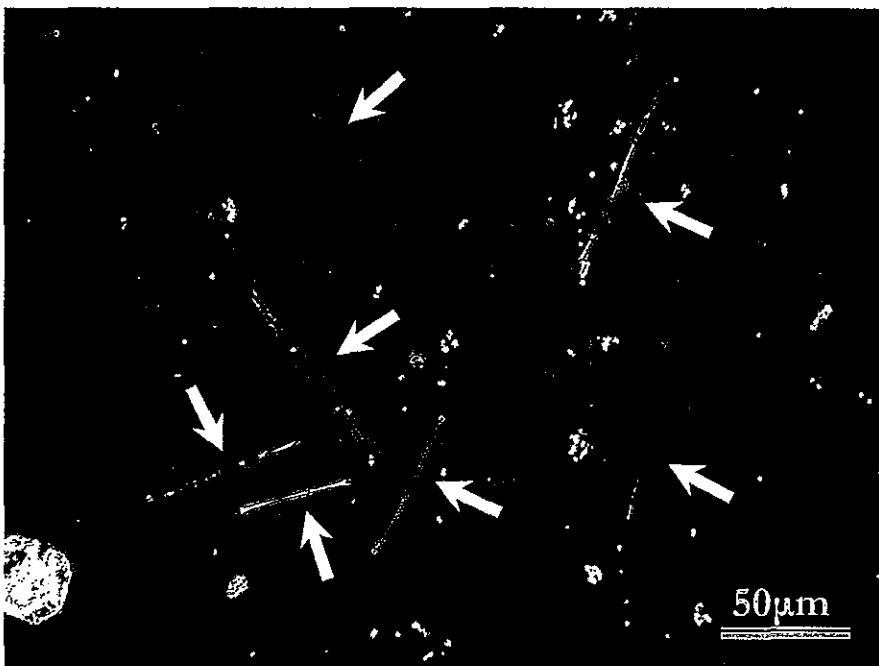


20 位相差顕微鏡（左）と生物
顕微鏡（右）像で比較

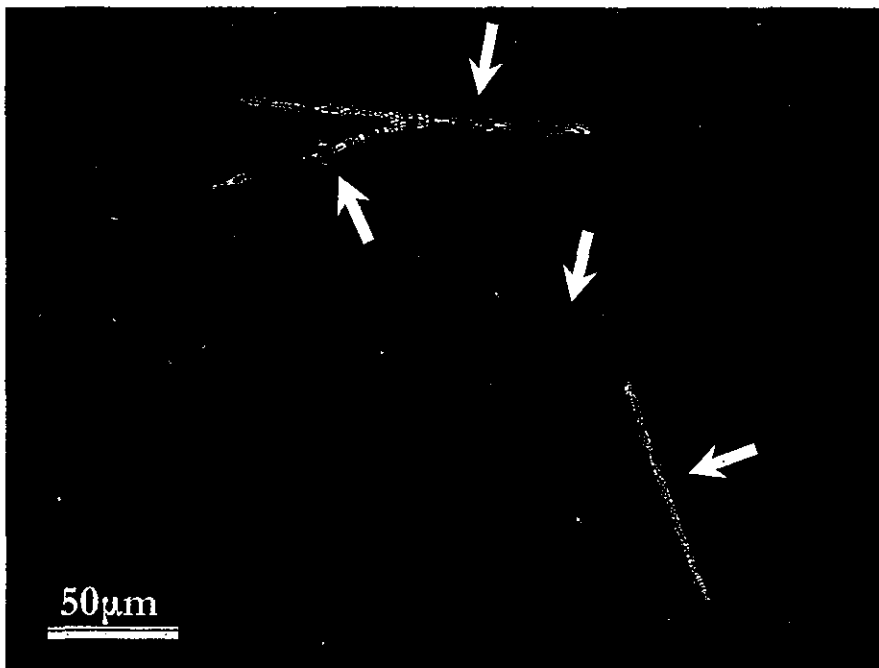
長繊維に伴う種々の形状
の石棉小体



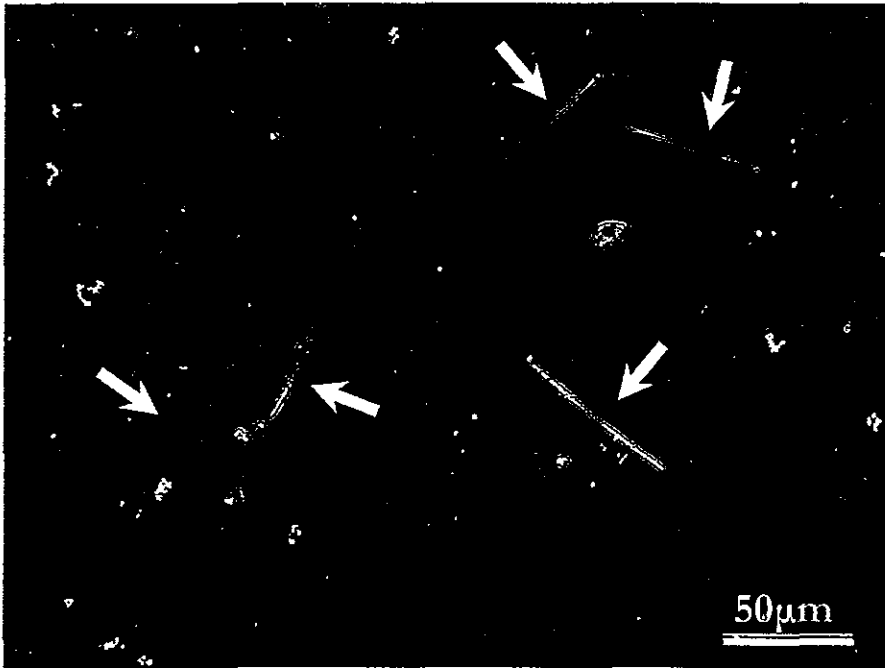
21 3本の石棉小体



22 大小7本の石棉小体

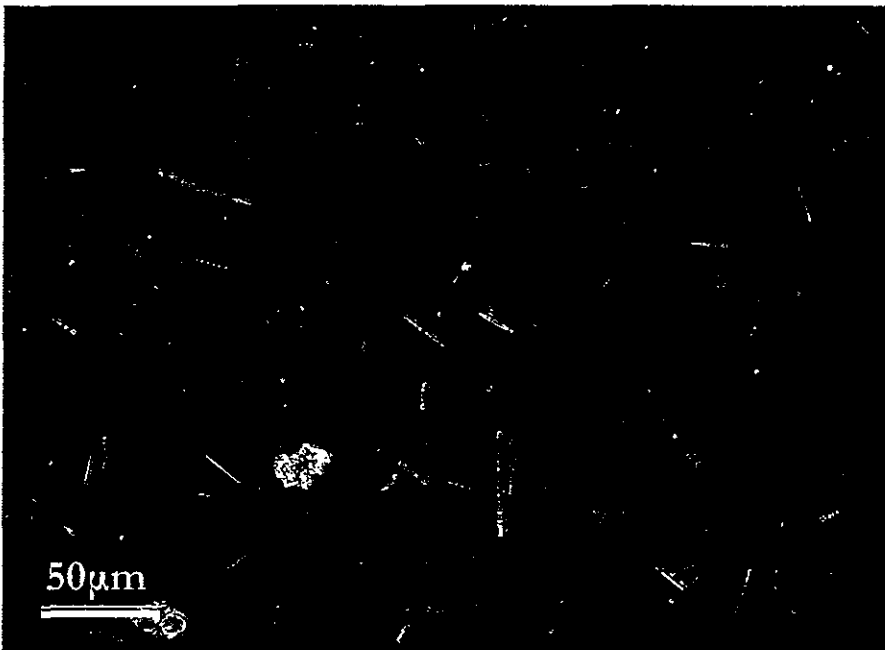


23 4本の石棉小体

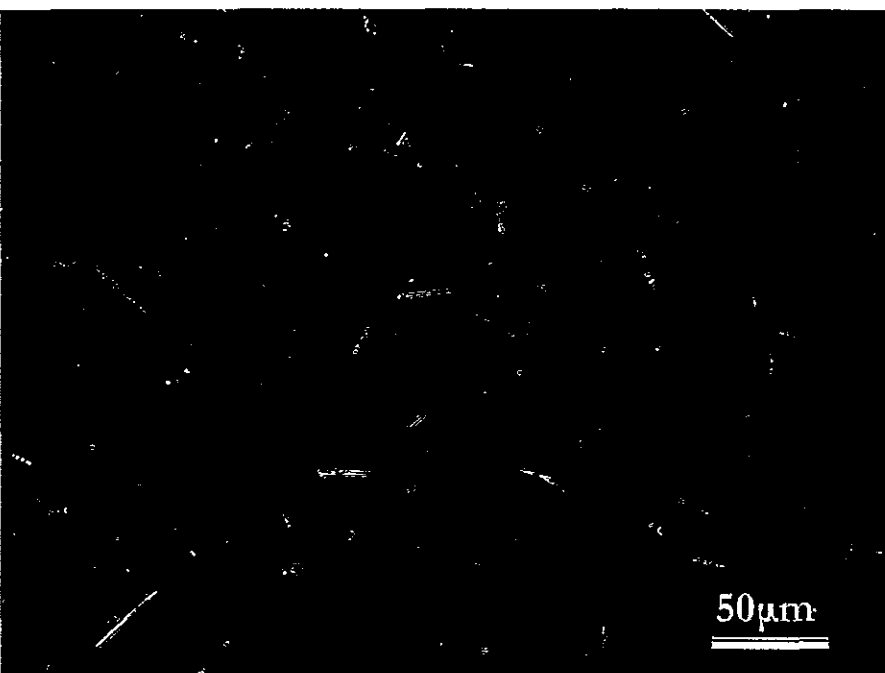


長繊維に伴う種々の形状
の石綿小体

24 5本の石綿小体



25 多数（10本以上）の種々の
形状の石綿小体

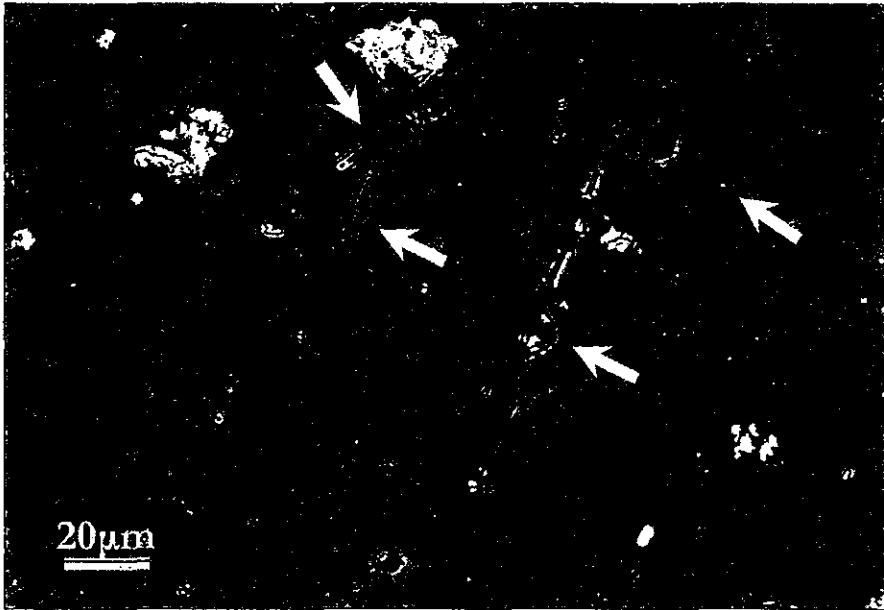


26 多数（10本以上）の種々の
形状の石綿小体

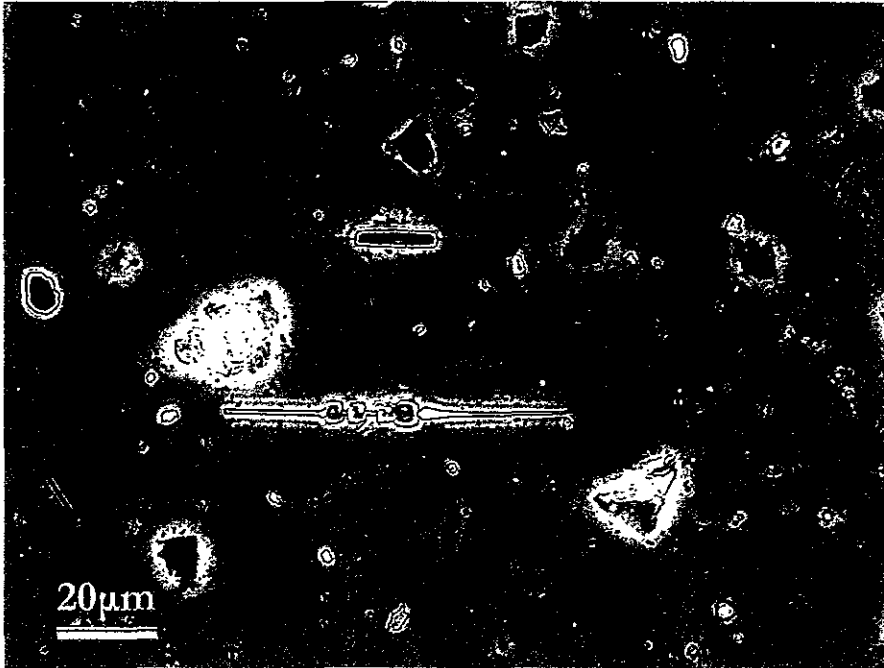


長繊維に伴う種々の形状の石綿小体

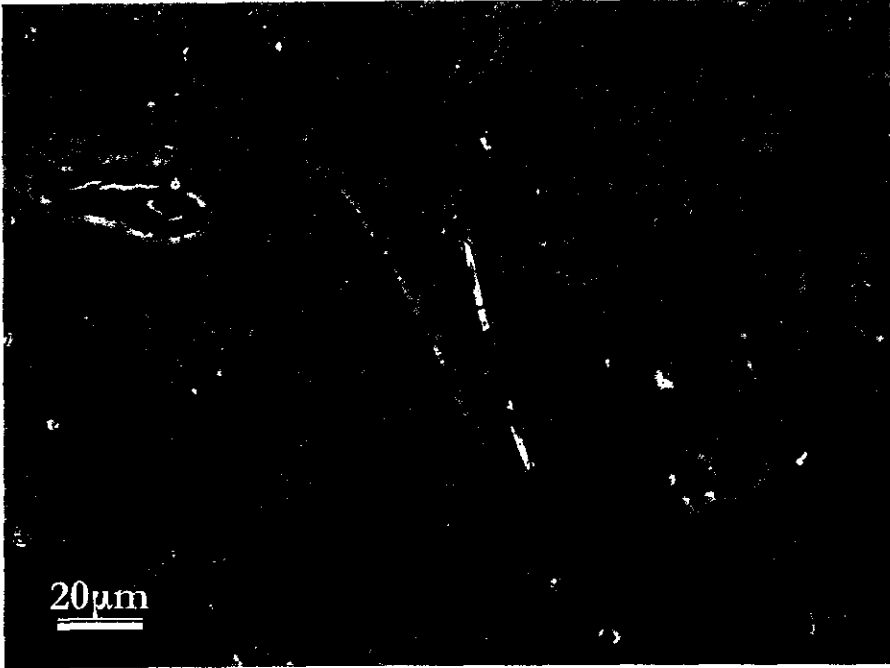
27 3本の石綿小体



28 少なくとも3本の石綿小体が認められる。左上は繊維が確認できれば、石綿小体として計数

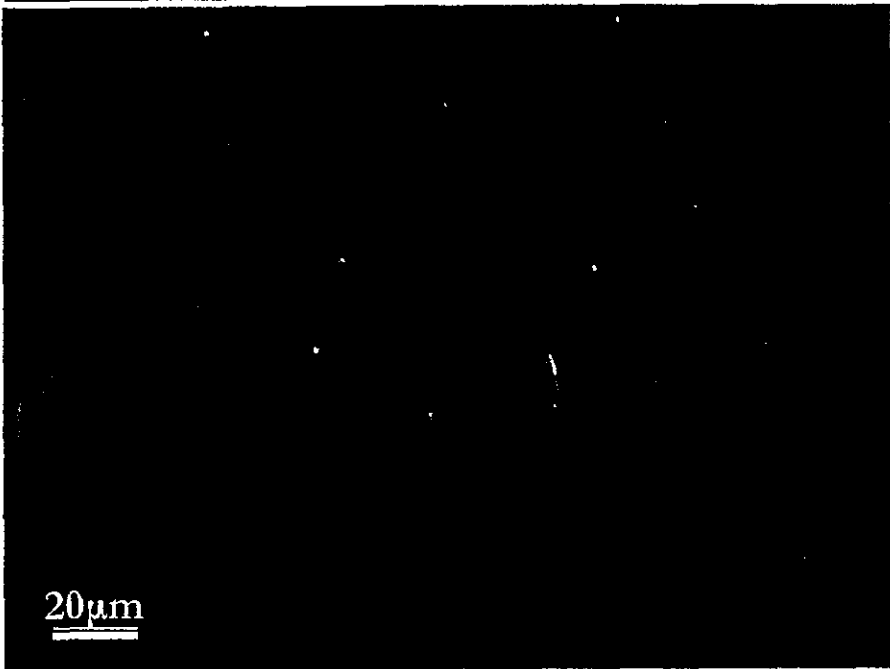


29 2本の石綿小体

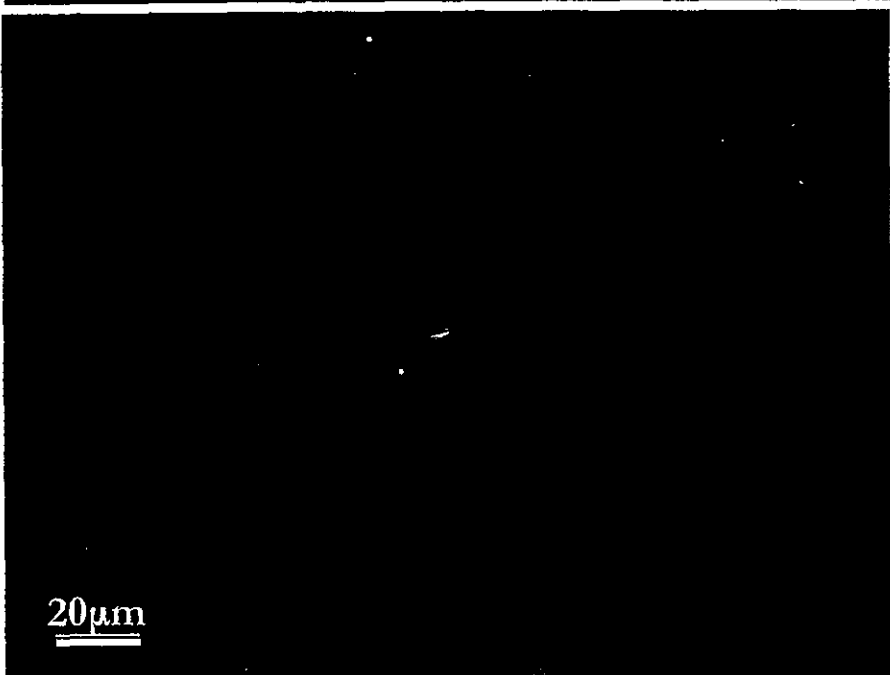


繊維が長く覆われる形状
の石綿小体

30



31 中央に2本の石綿小体

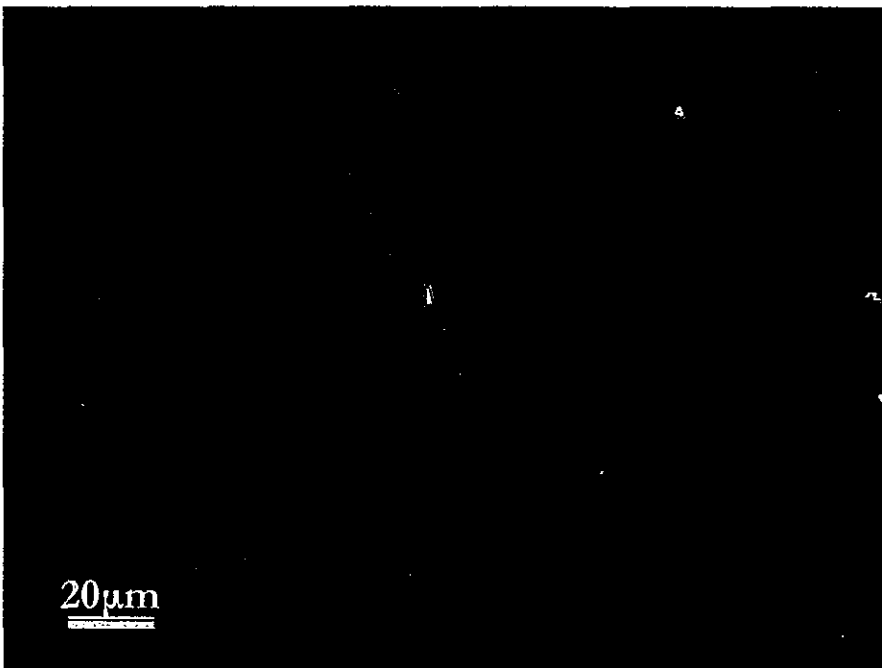


32

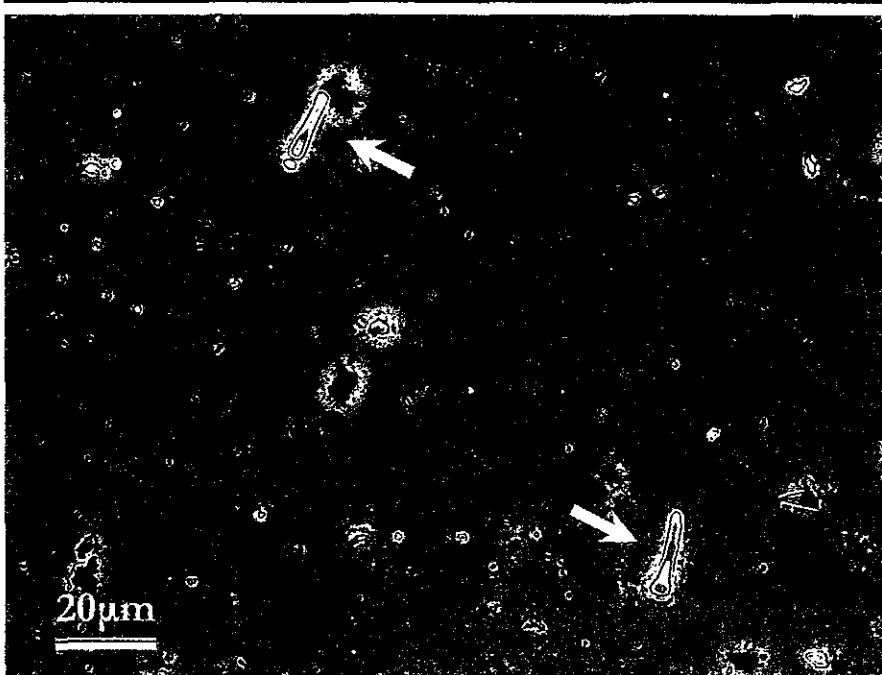


繊維が長く覆われる形状
の石綿小体

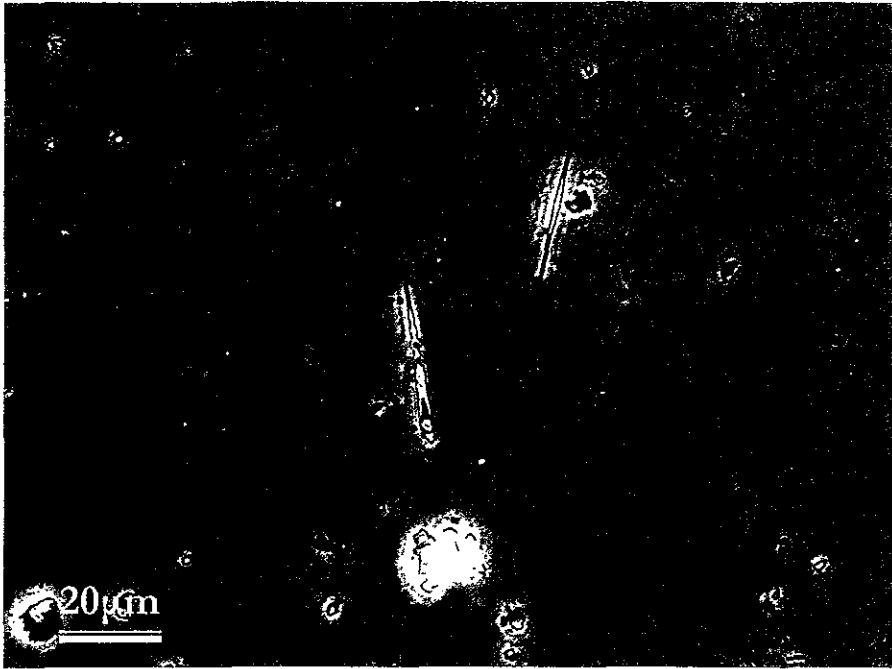
33



34

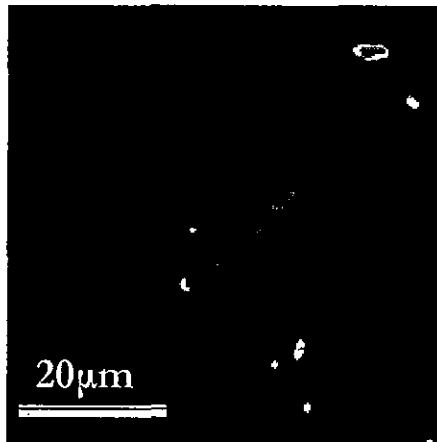
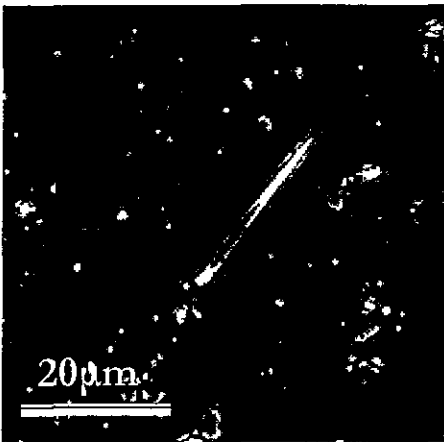


35 左上はくびれ部に繊維が
確認できる。右下は下端部に繊
維の先が確認できる。

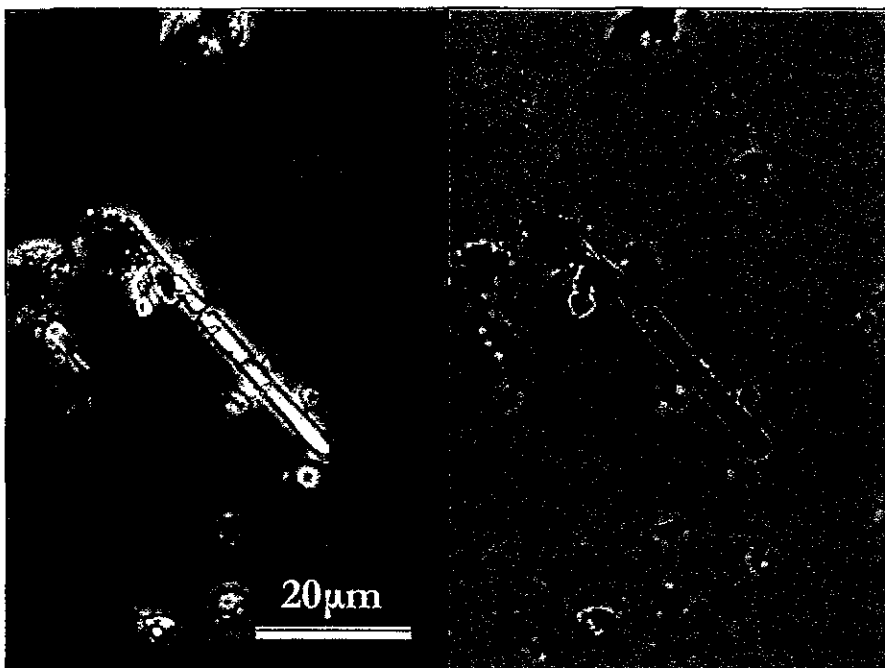


繊維が長く覆われる形状
の石綿小体

36 2本の石綿小体



37、38



39 位相差顕微鏡（左）と生物
顕微鏡（右）像で比較

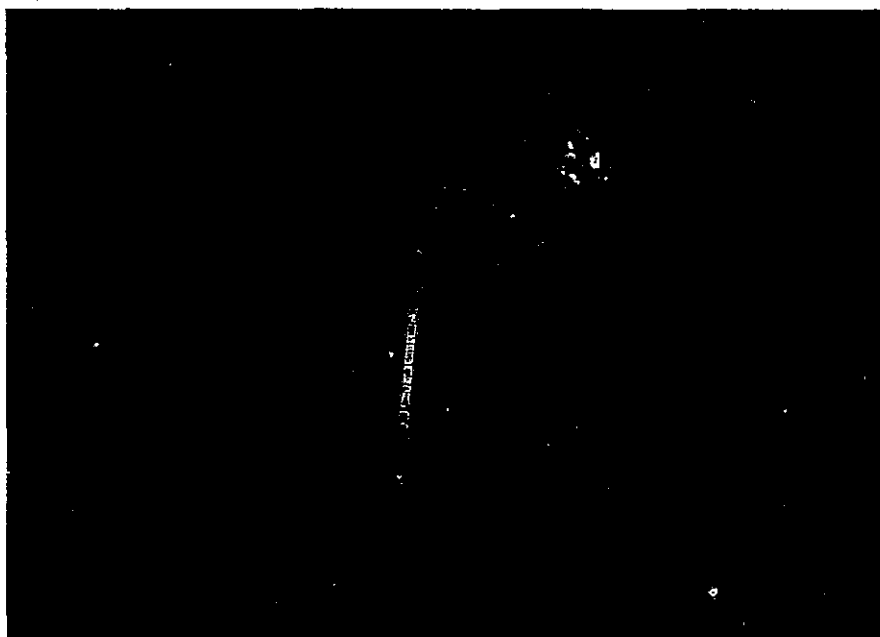
多数の分節で繊維が長く
覆われる石綿小体



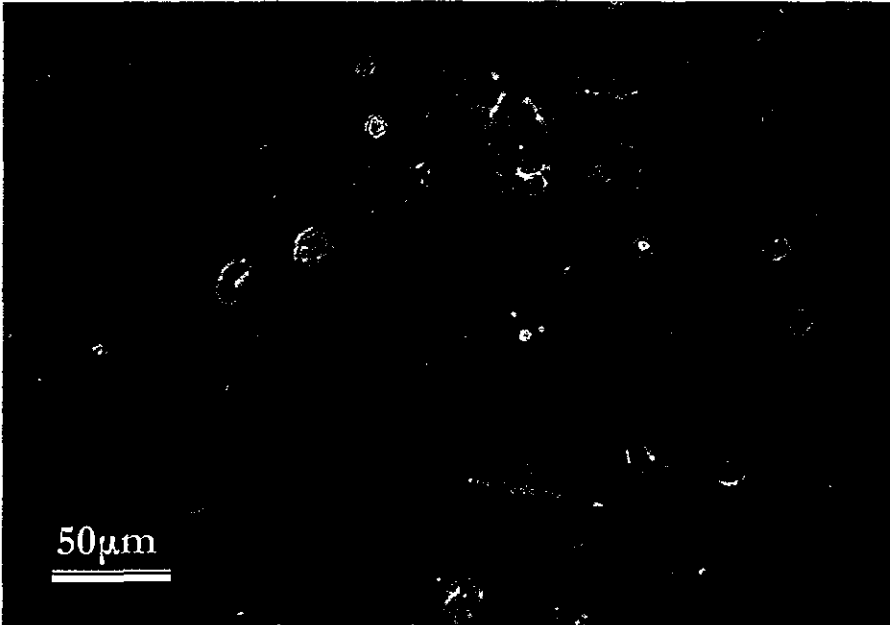
40



41

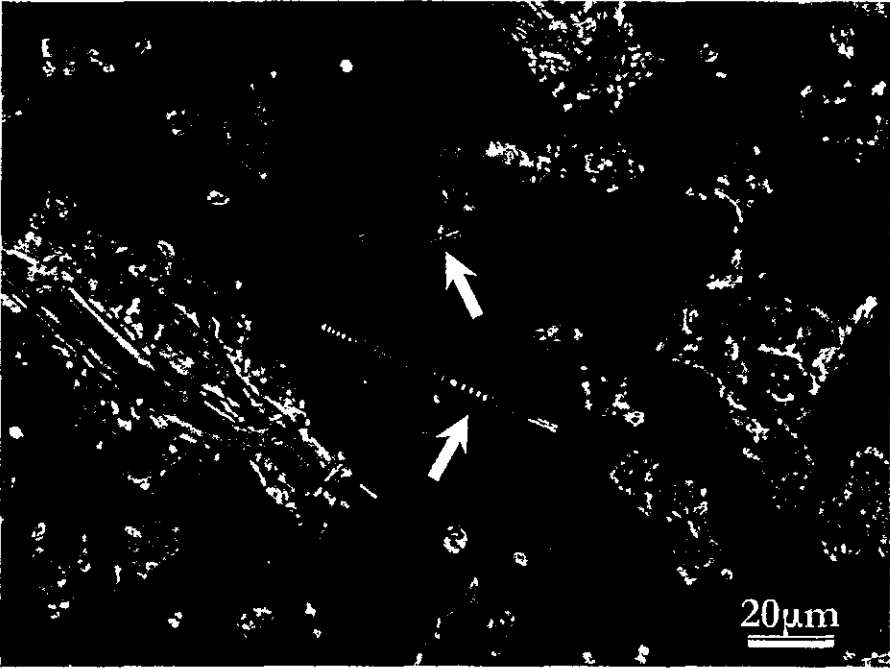


42

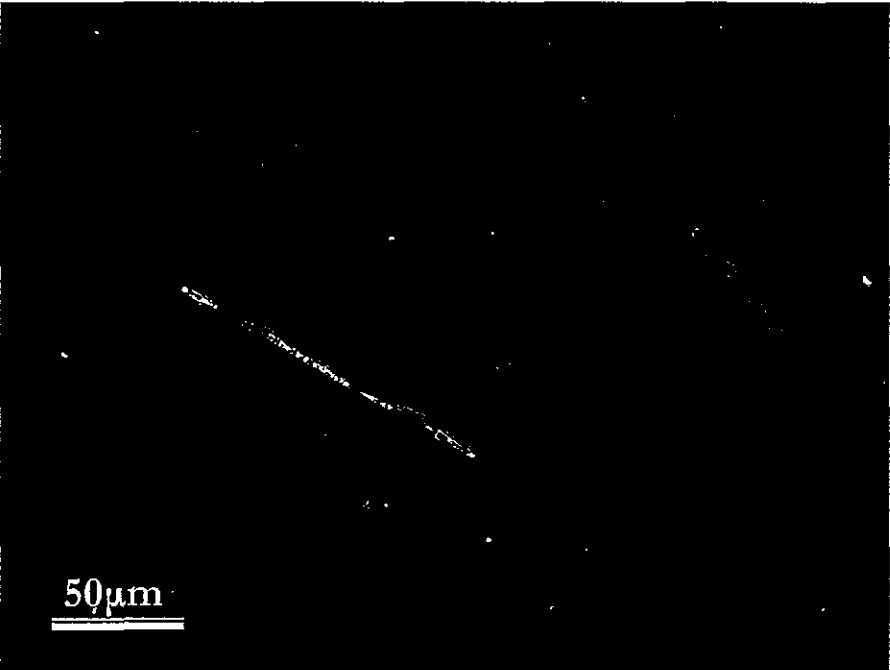


多数の分節で繊維が長く覆われる石綿小体

43



44

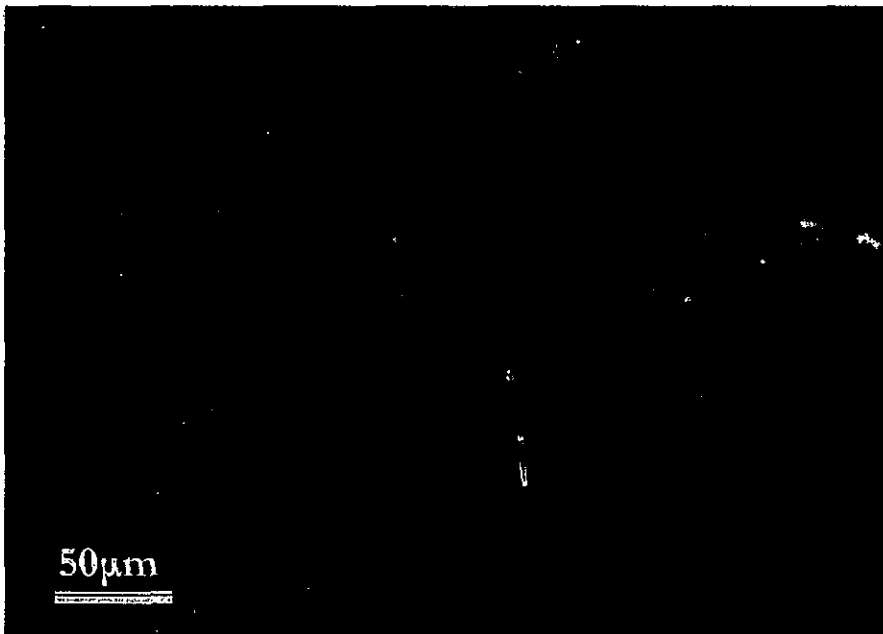


45 2本の石綿小体

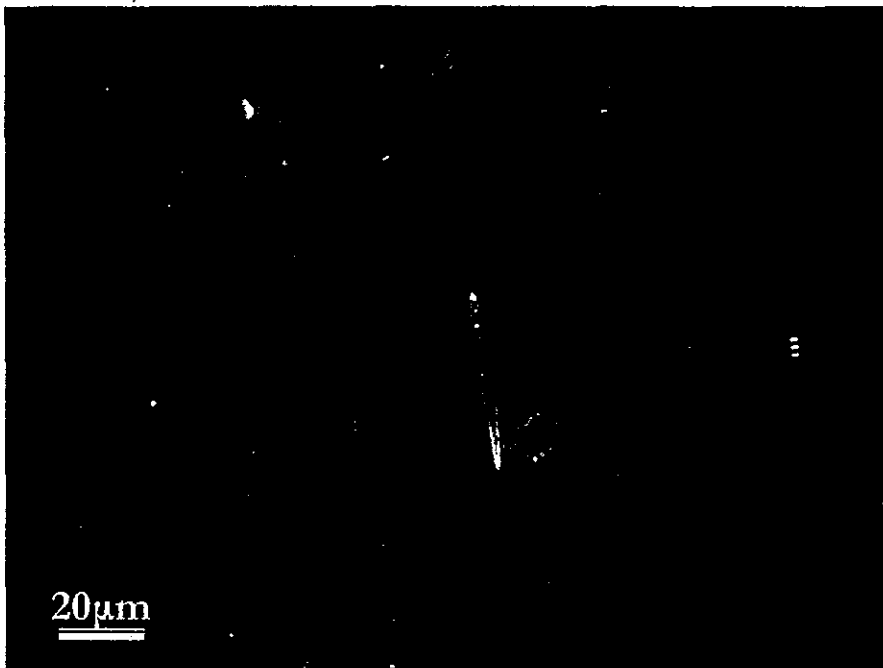
多数の分節で繊維が長く
覆われる石綿小体



46



47

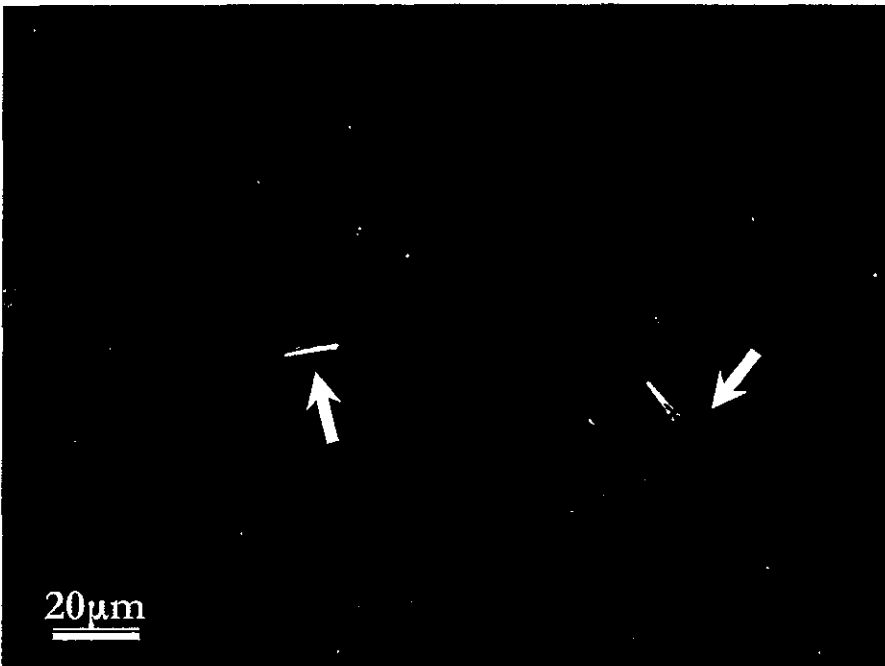


48

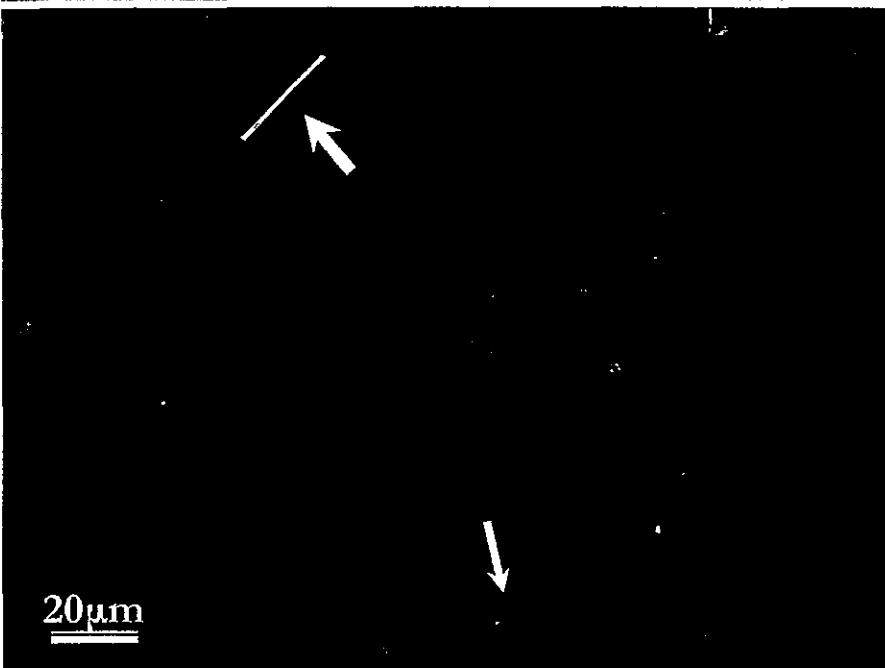
繊維が細長く覆われる
形状の石綿小体



49

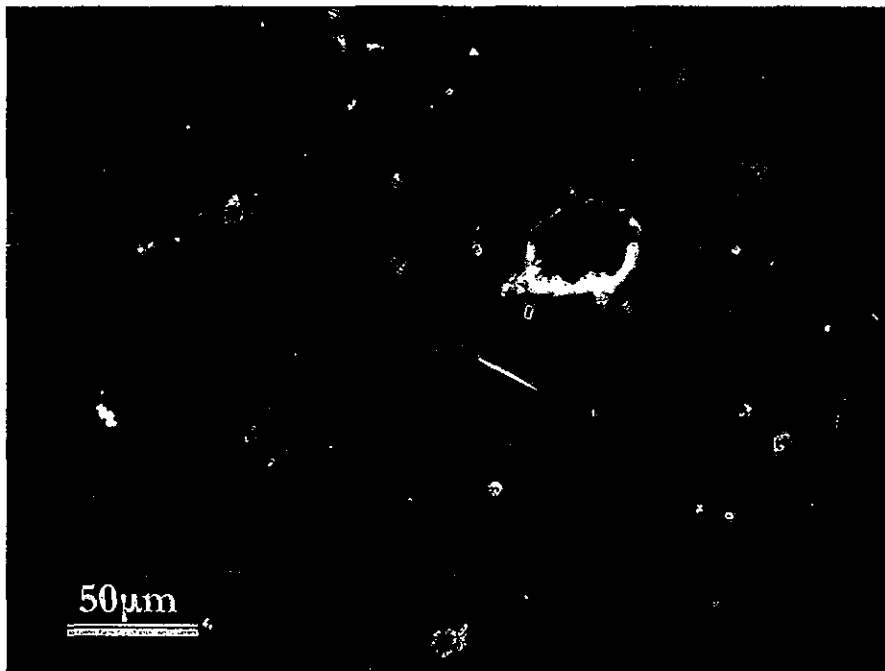


50 左の石綿小体は両端部に
繊維が確認できる。右の石綿
小体は下に細い繊維が伸びる



51 下の石綿小体は少量付
着型

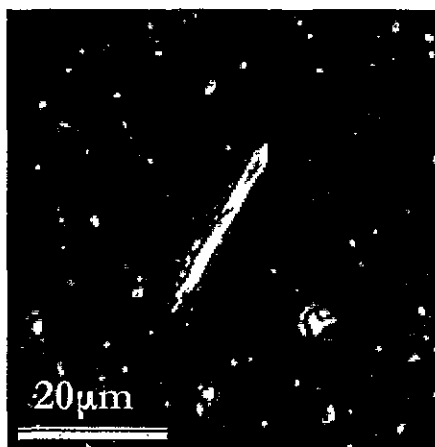
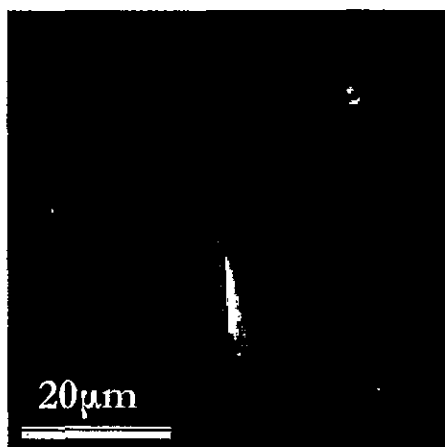
纖維が細長く覆われる
形状の石棉小体



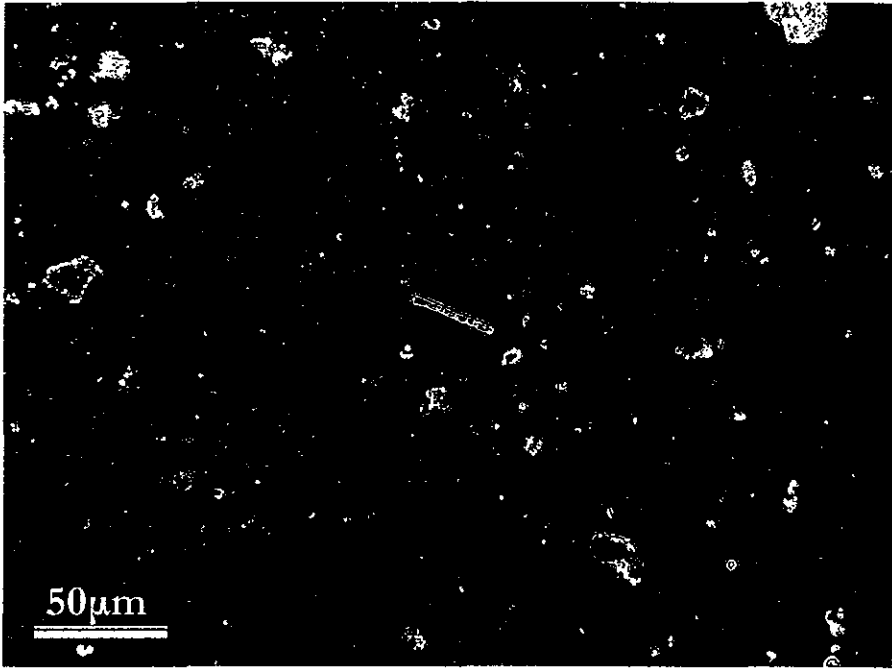
52



53

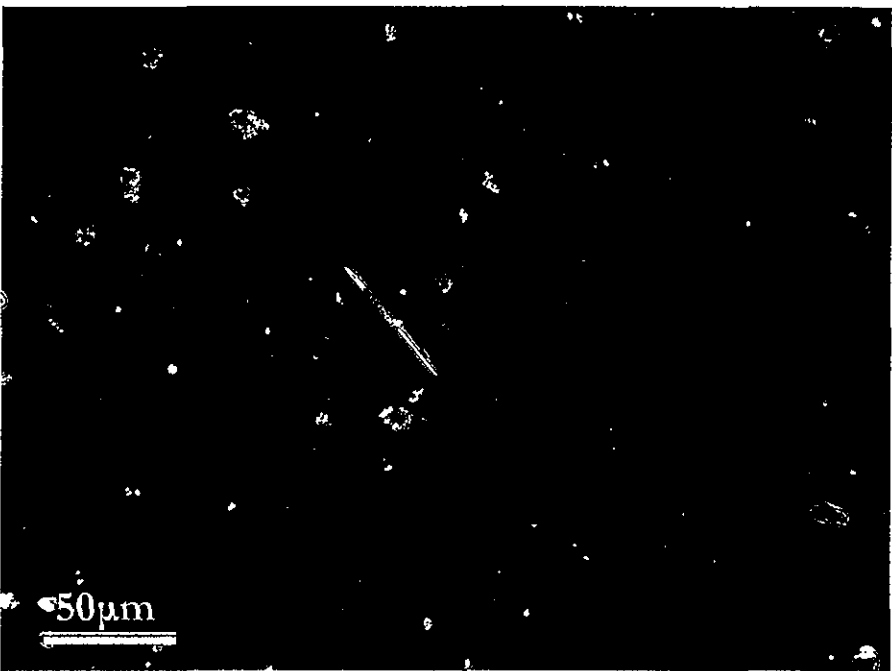


54、55



多数の分節で繊維が細長く覆われる石綿小体

56

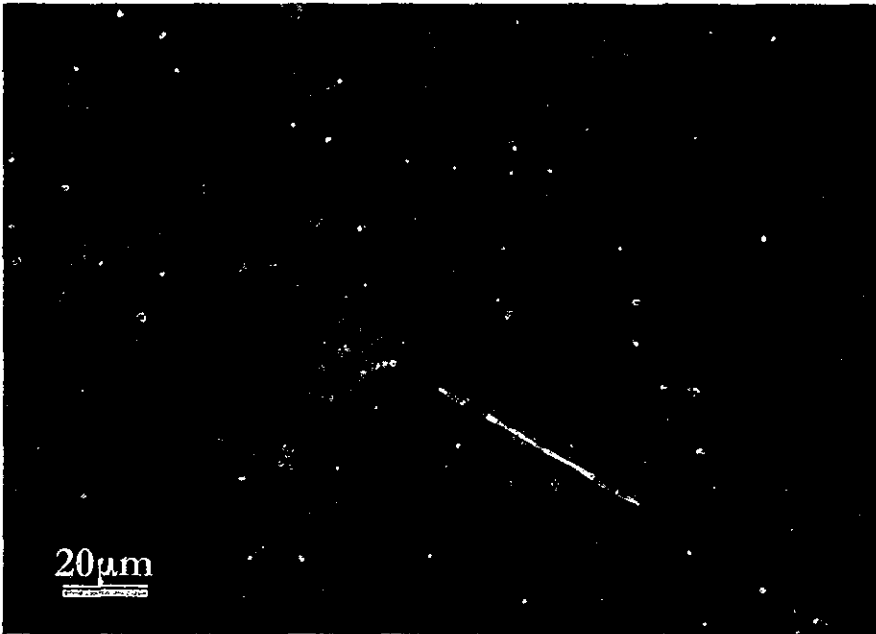


57

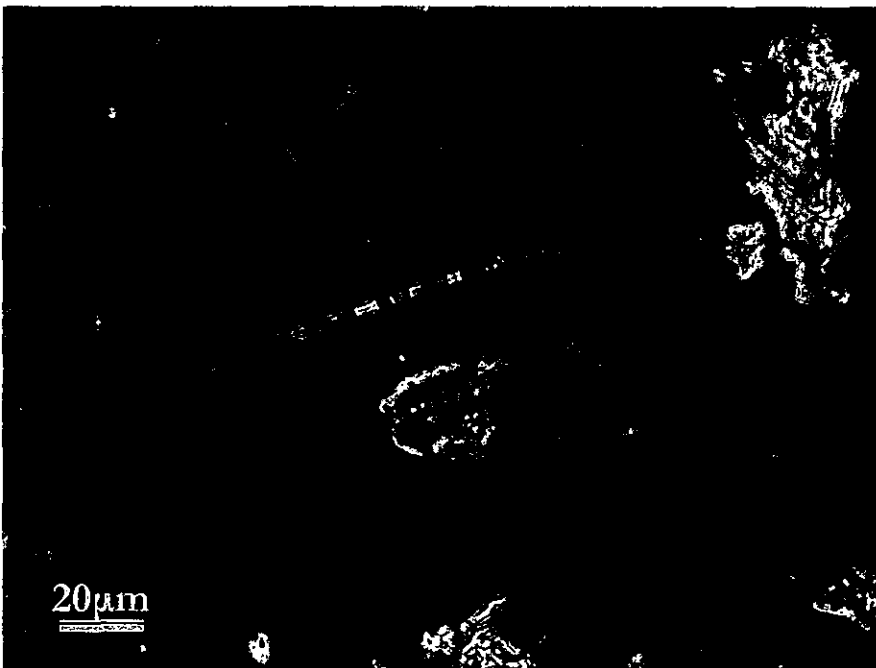


58

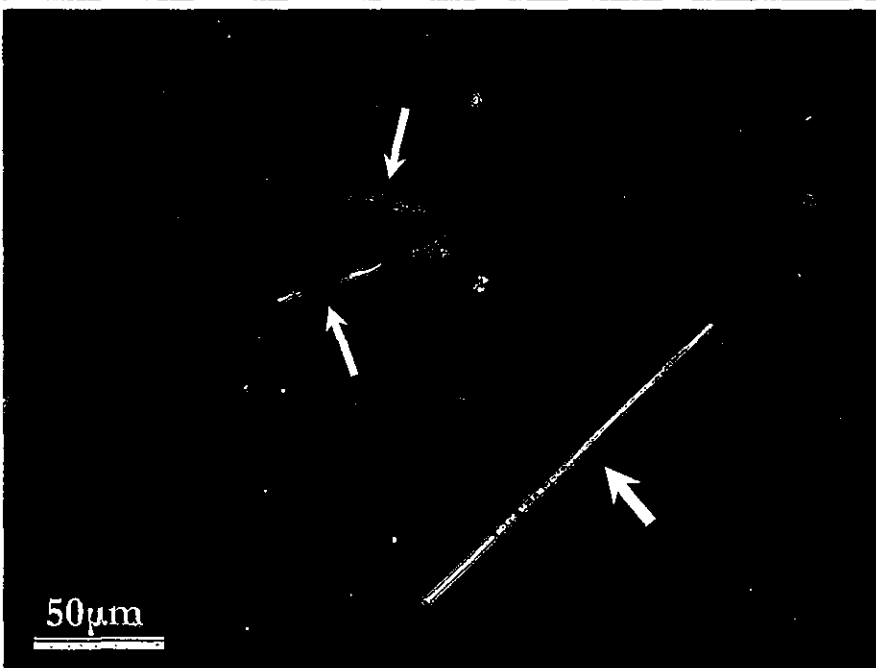
多数の分節で繊維が細長く覆われる石綿小体



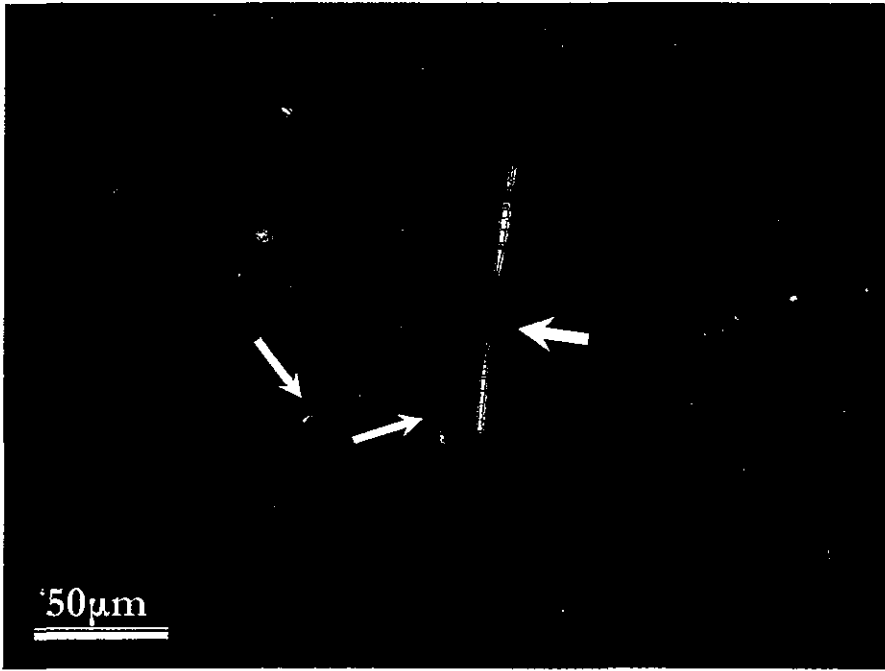
59



60

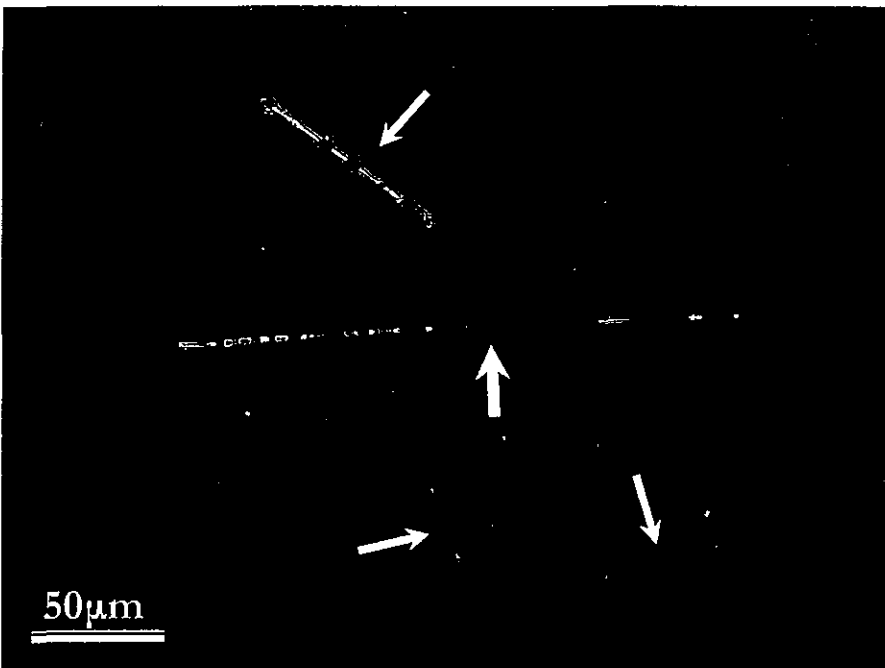


61 上の1本は鉤鈴形状

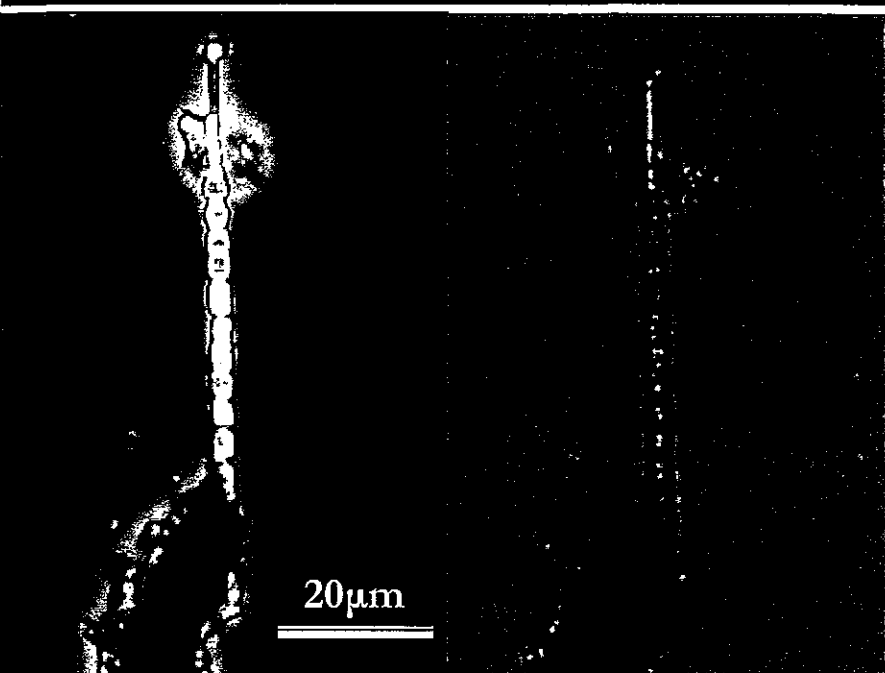


多数の分節で繊維が細長く覆われる石綿小体

62

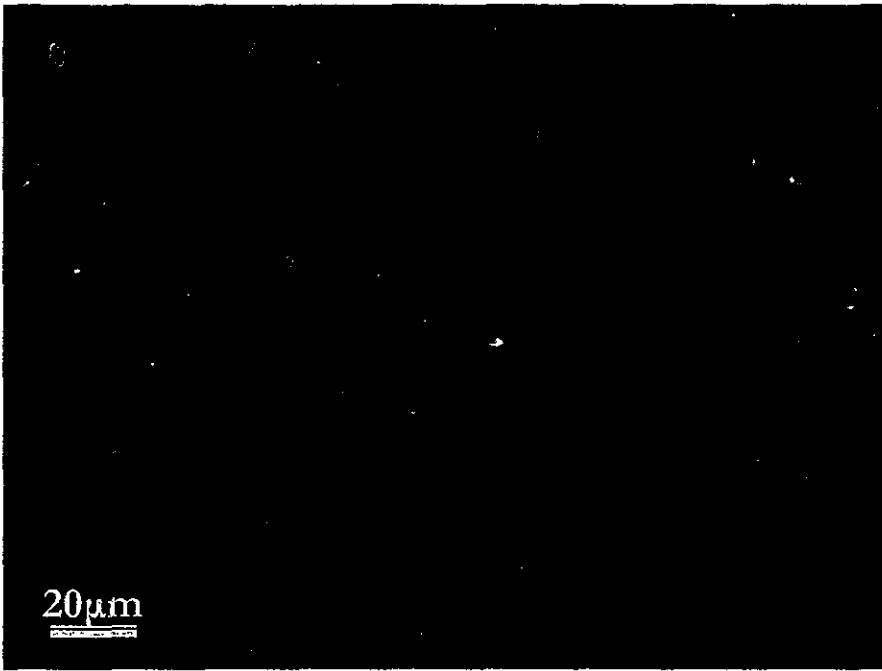


63 上と下左は鉤鈴形状、下右は少量付着型の石綿小体



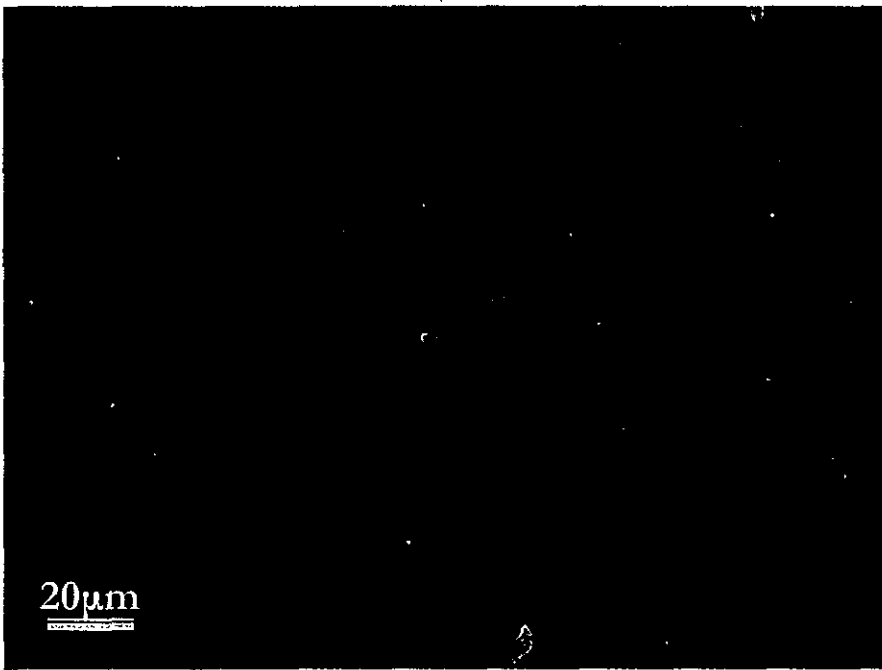
64 位相差顕微鏡（左）と生物顕微鏡（右）像で比較

短繊維に数個の分節を
伴う石綿小体



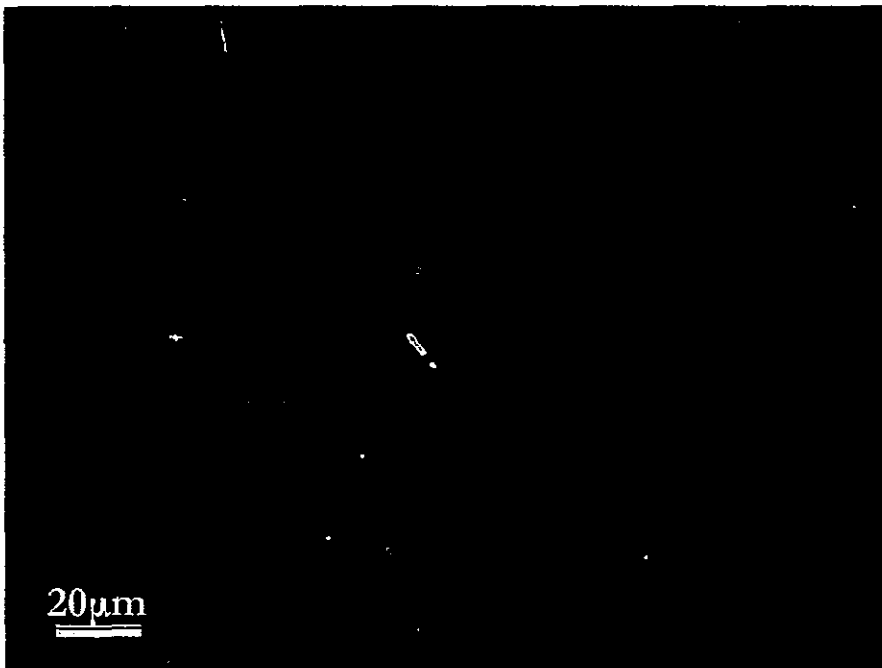
20μm

65



20μm

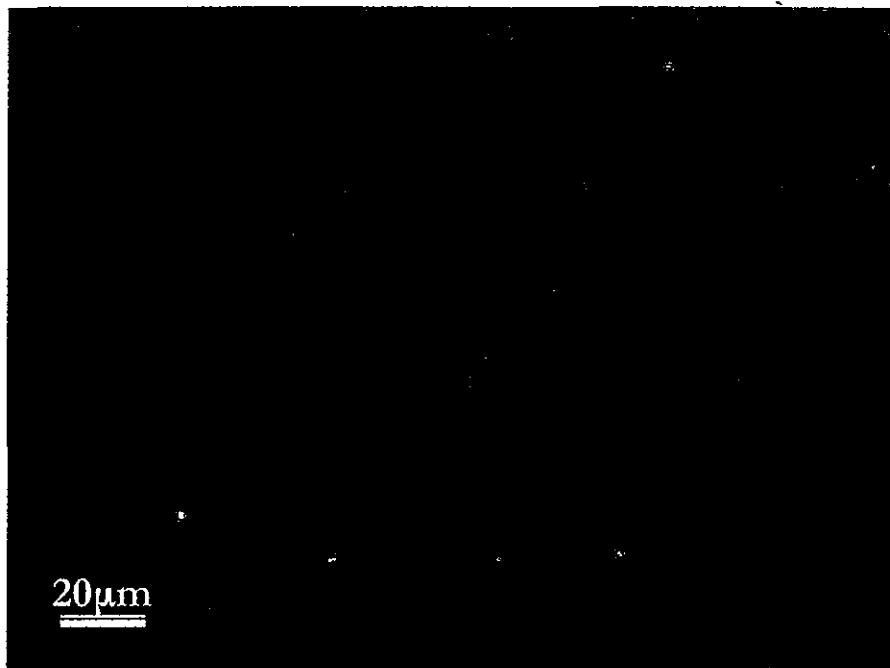
66



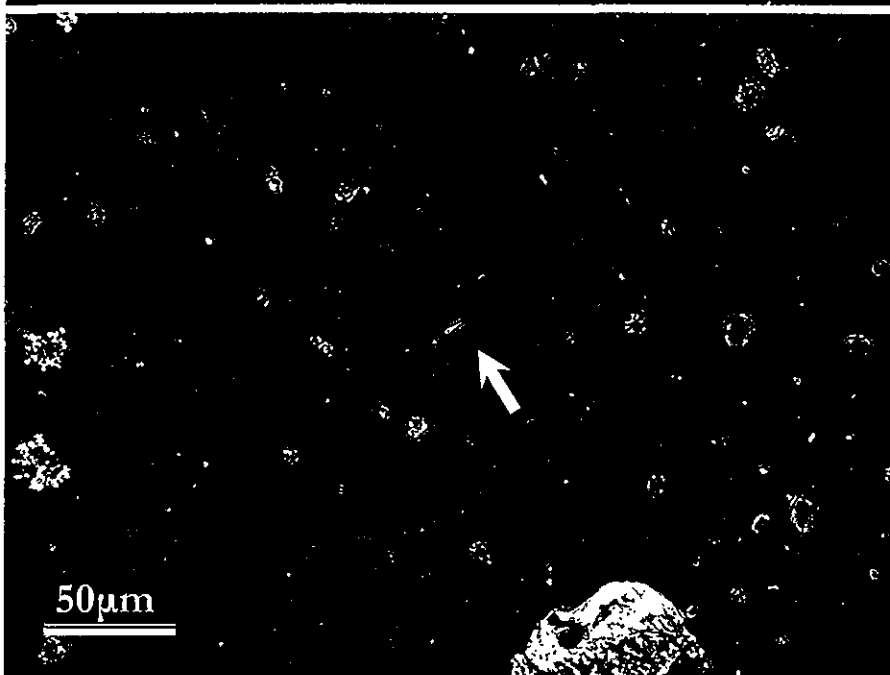
20μm

67

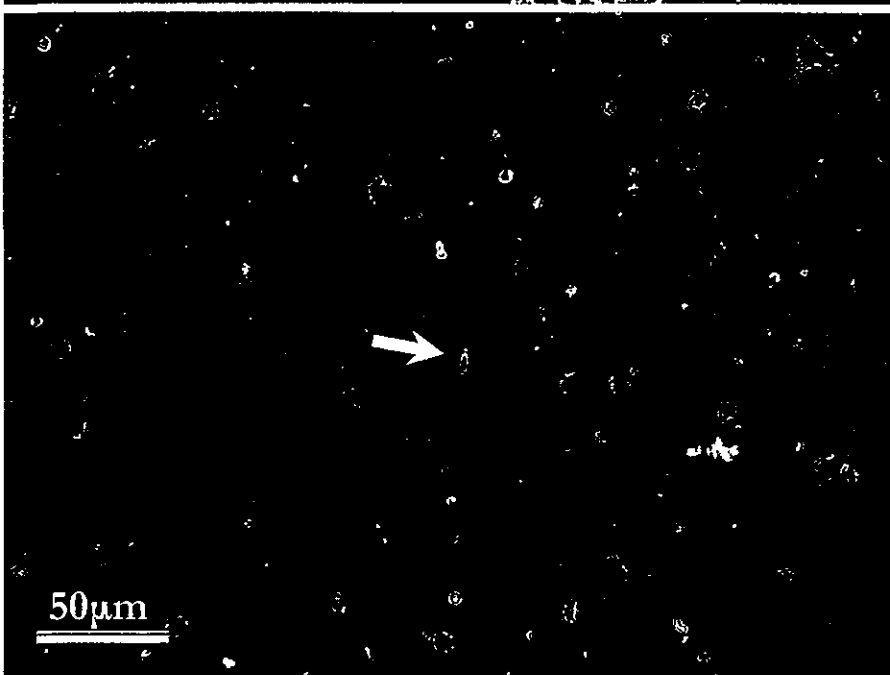
短繊維に数個の分節を
伴う石綿小体



68

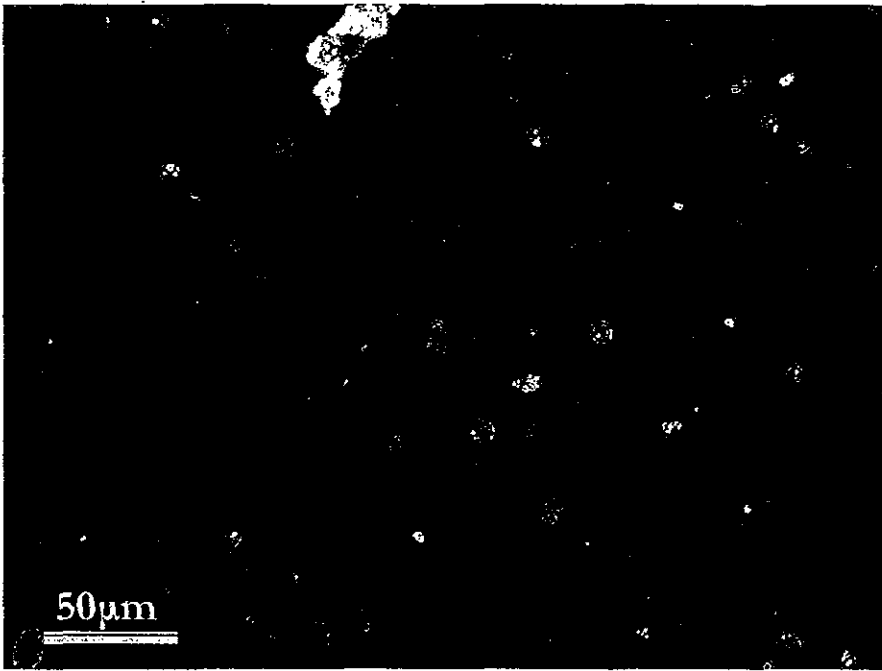


69

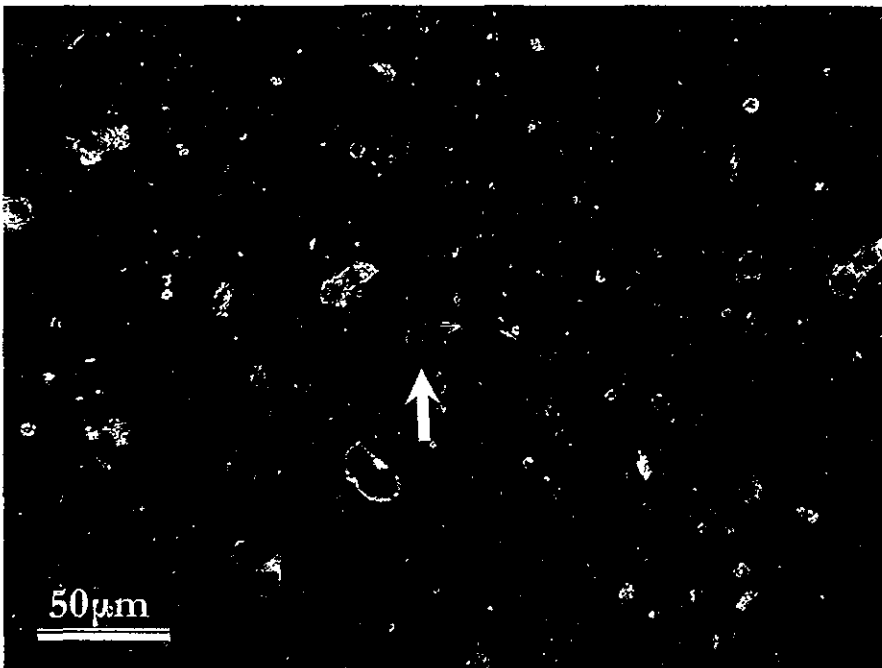


70 両端部に繊維が確認できる

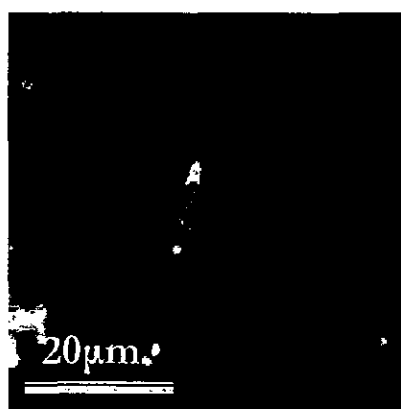
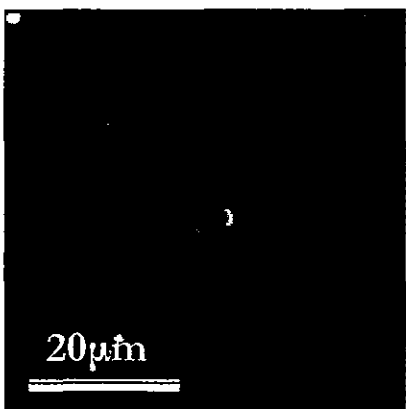
短繊維に数個の分節を
伴う石綿小体



71

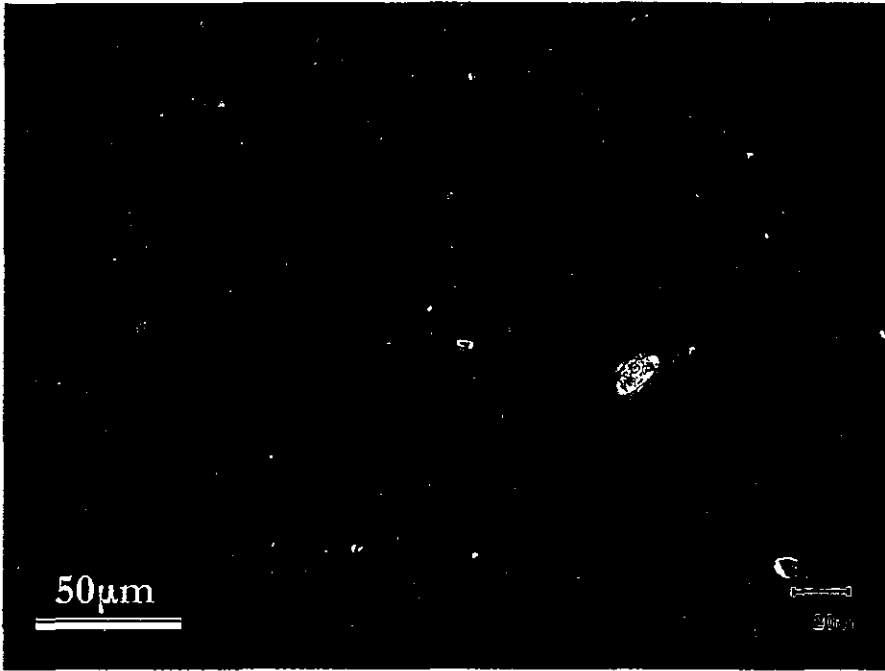


72

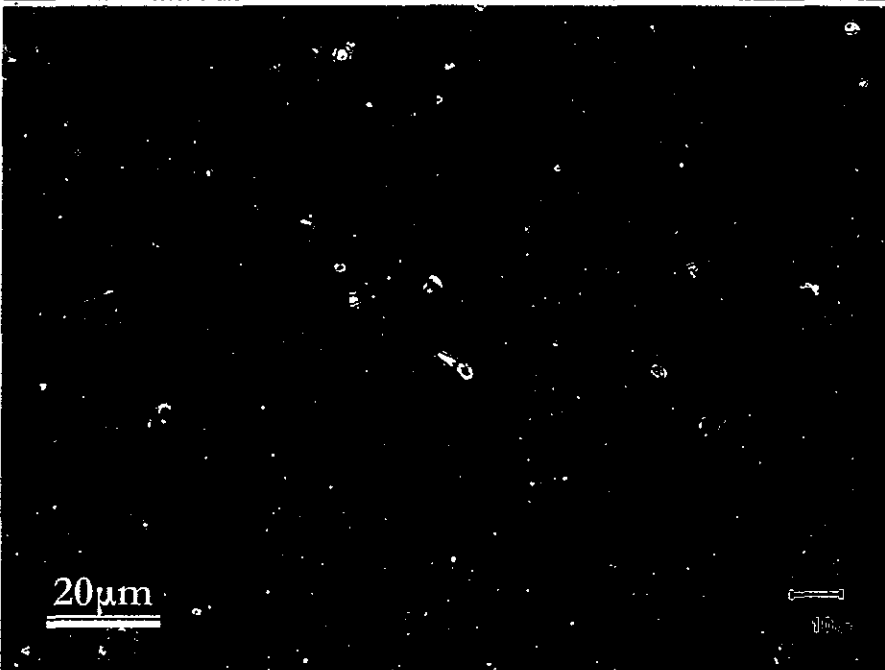


73、74

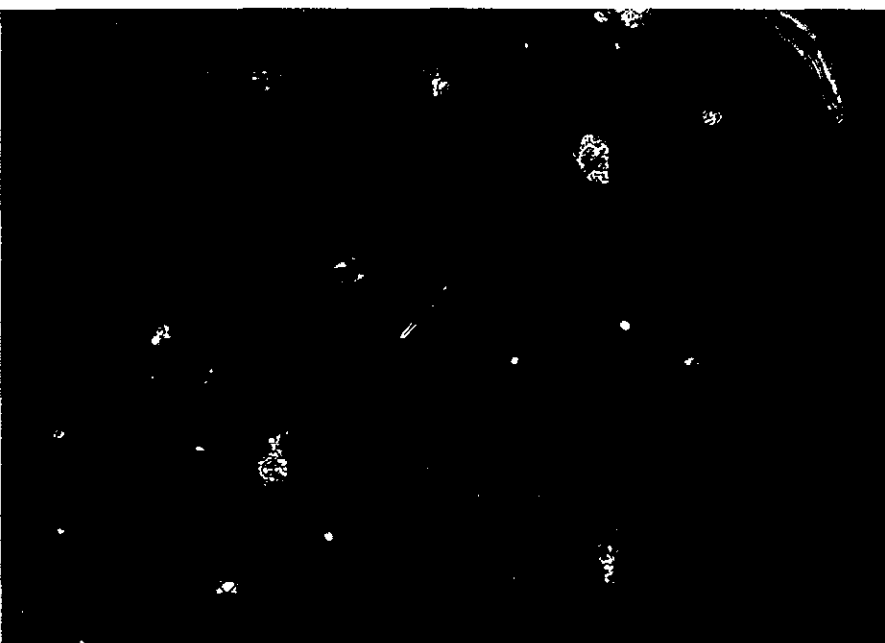
短繊維に数個の分節を
伴う石綿小体



75



76

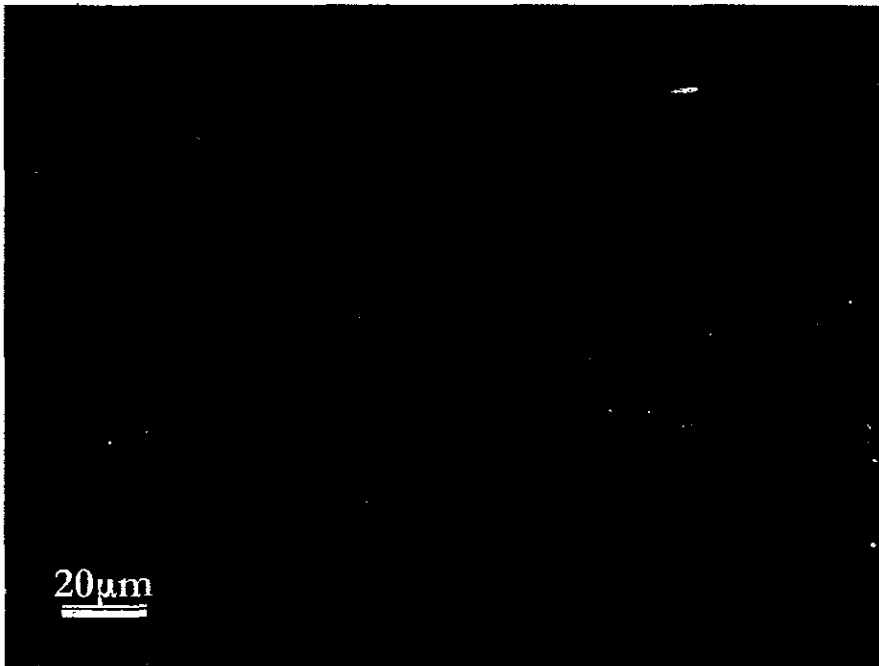


77

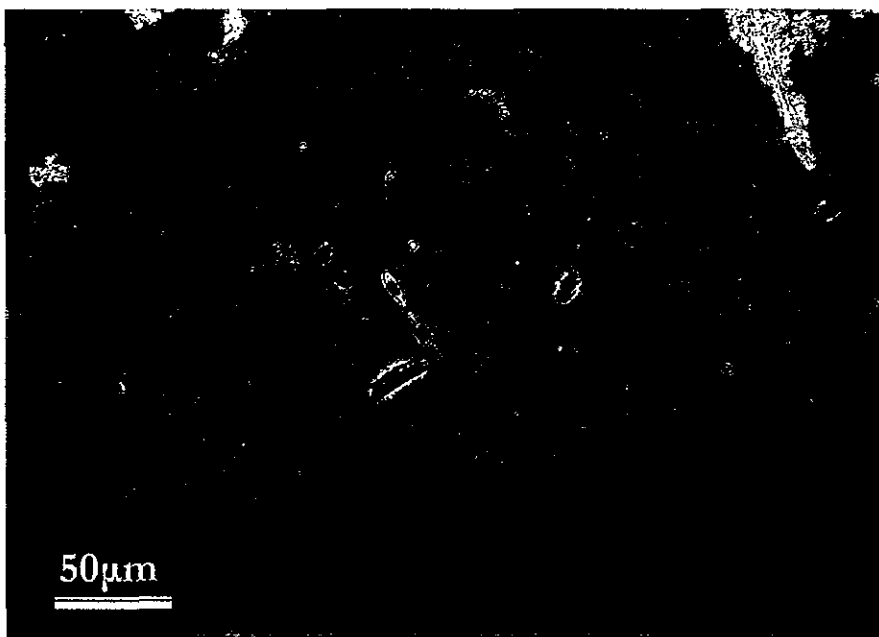
短繊維に数個の分節を
伴う石棉小体



78

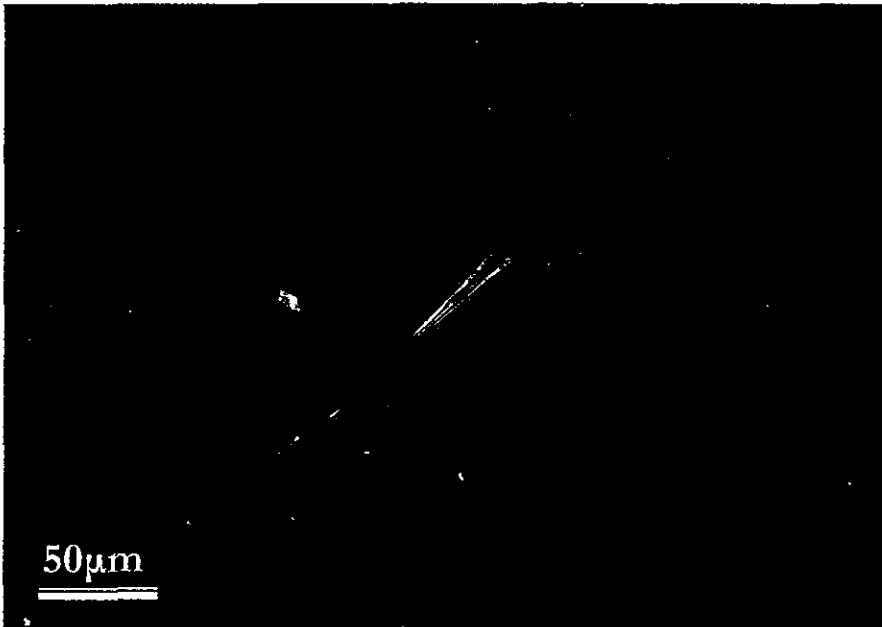


79

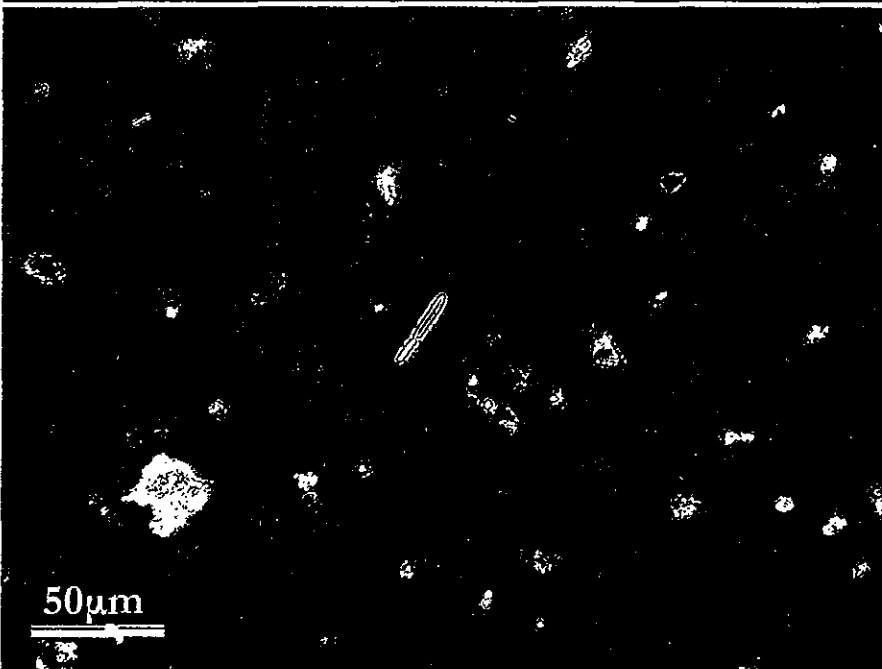


80

複数の繊維からなる
石綿小体



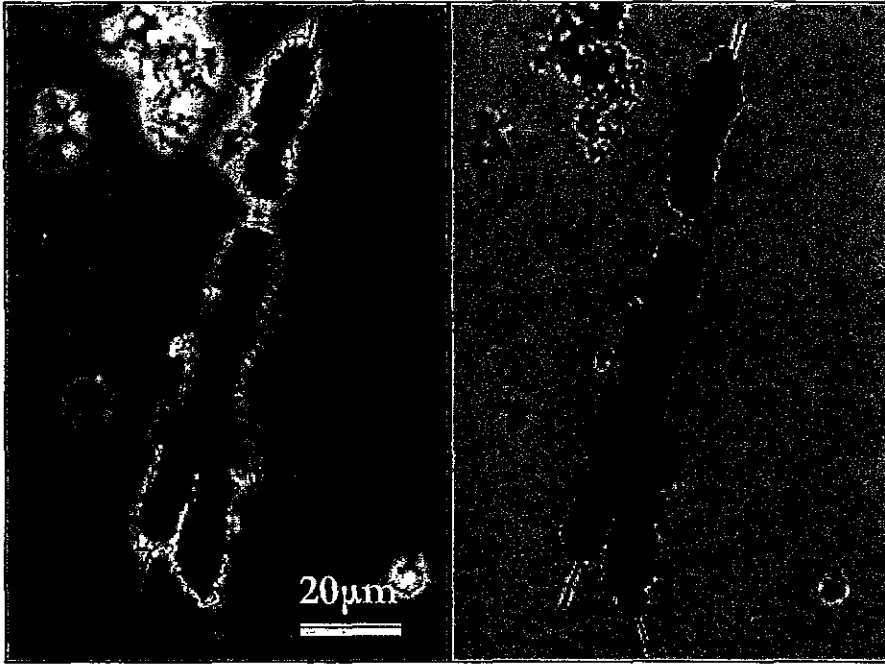
81 2本の分岐した繊維のそれぞれに付着物を伴うが、1本の石綿小体として計数



82 下端部に分岐した繊維が認められる

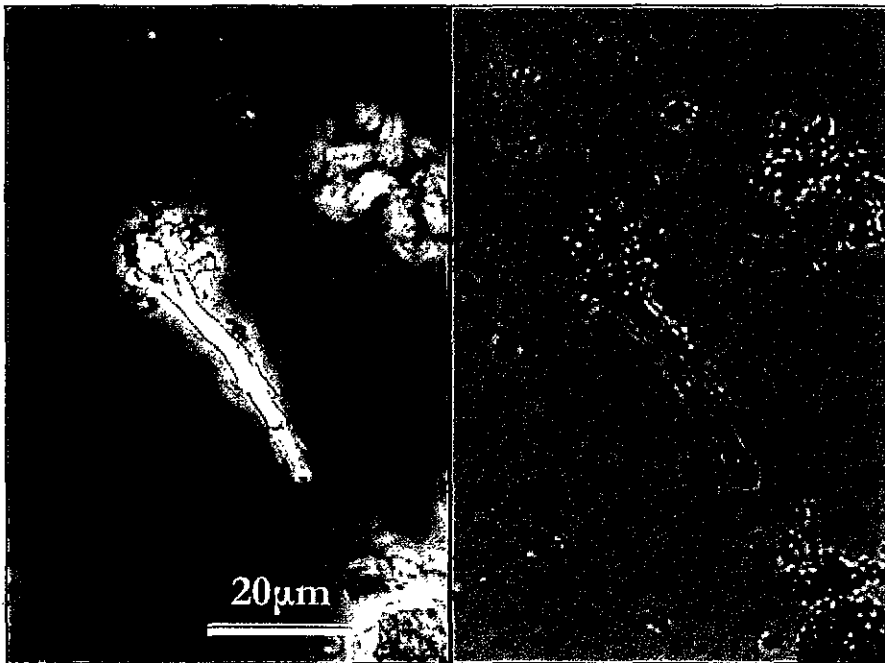


82-a 82の拡大。5~6本の細い繊維が確認される



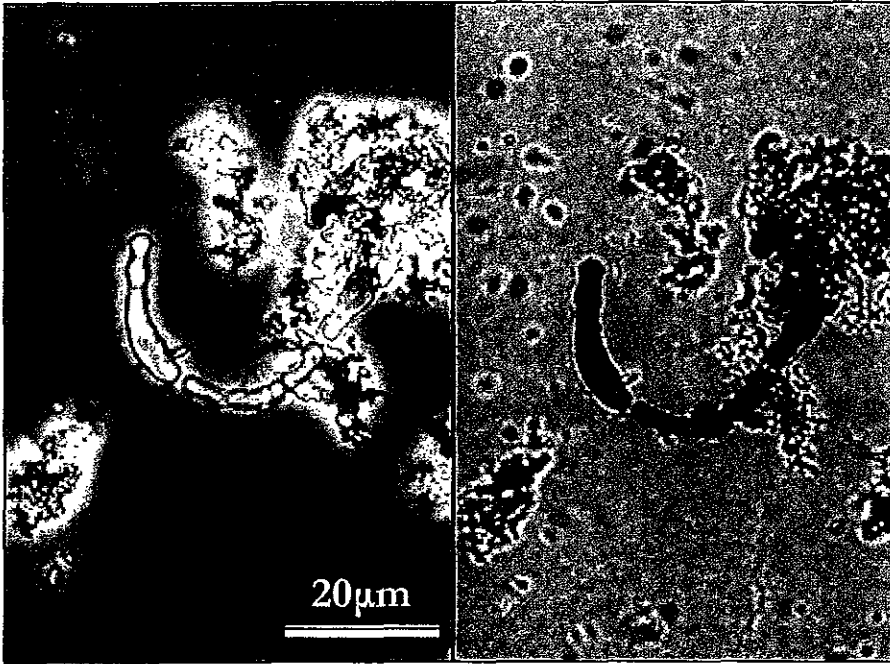
複数の繊維からなる
石綿小体

83 位相差顕微鏡 (左) と生物顕
微鏡 (右) 像で比較

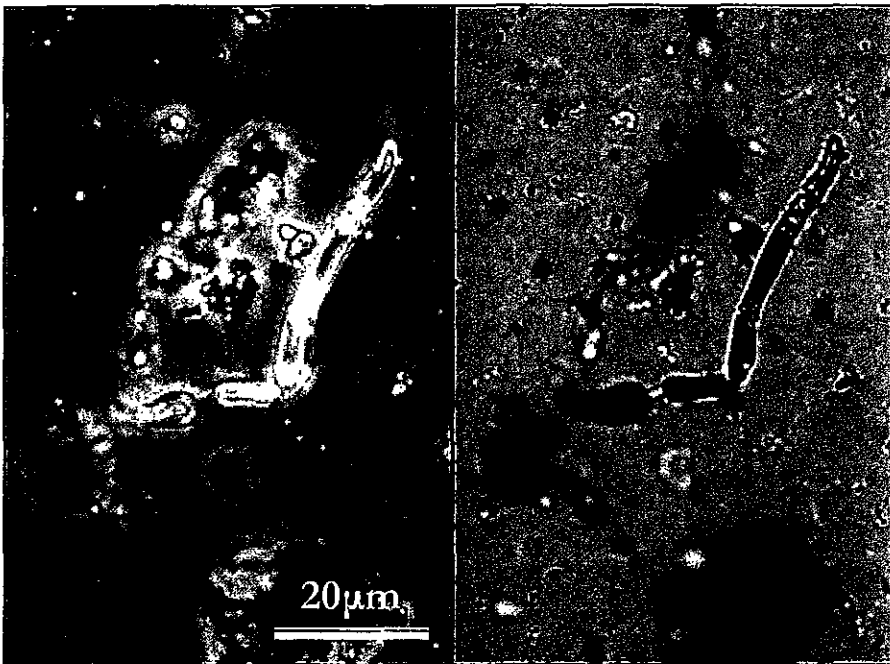


84 位相差顕微鏡 (左) と生物顕
微鏡 (右) 像で比較

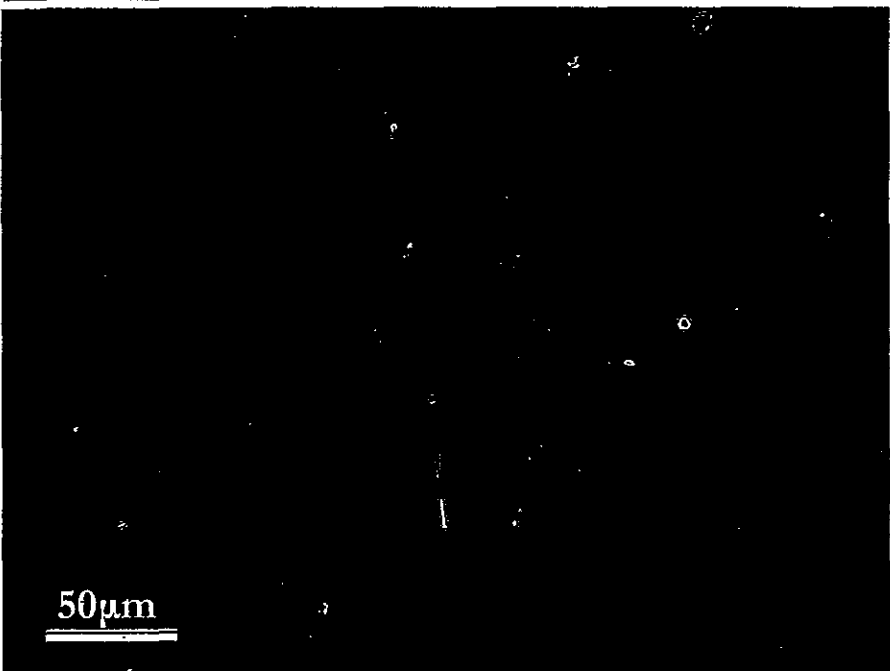
繊維が屈曲する石綿小体



85 位相差顕微鏡（左）と生物顕微鏡（右）像で比較

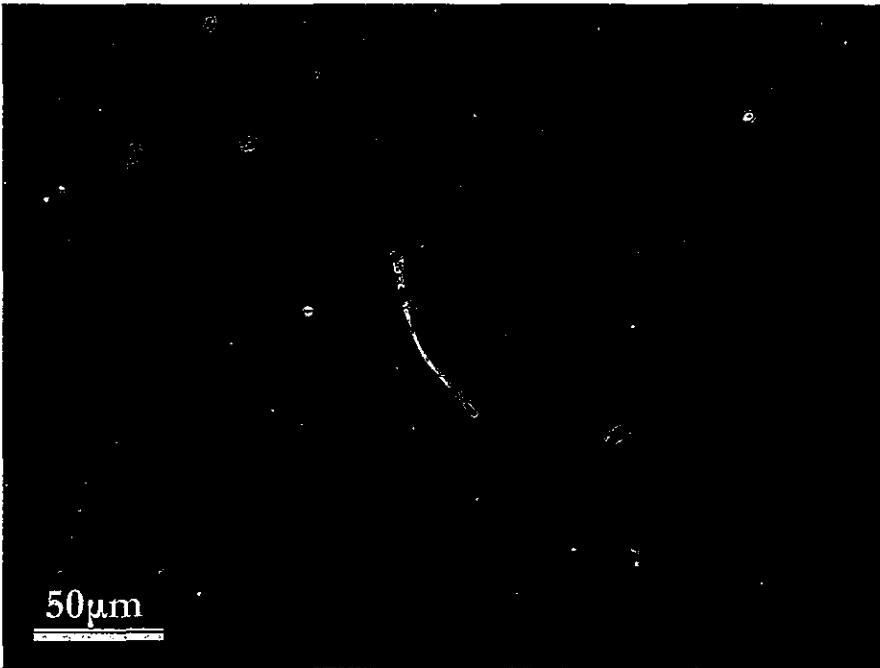


86 位相差顕微鏡（左）と生物顕微鏡（右）像で比較

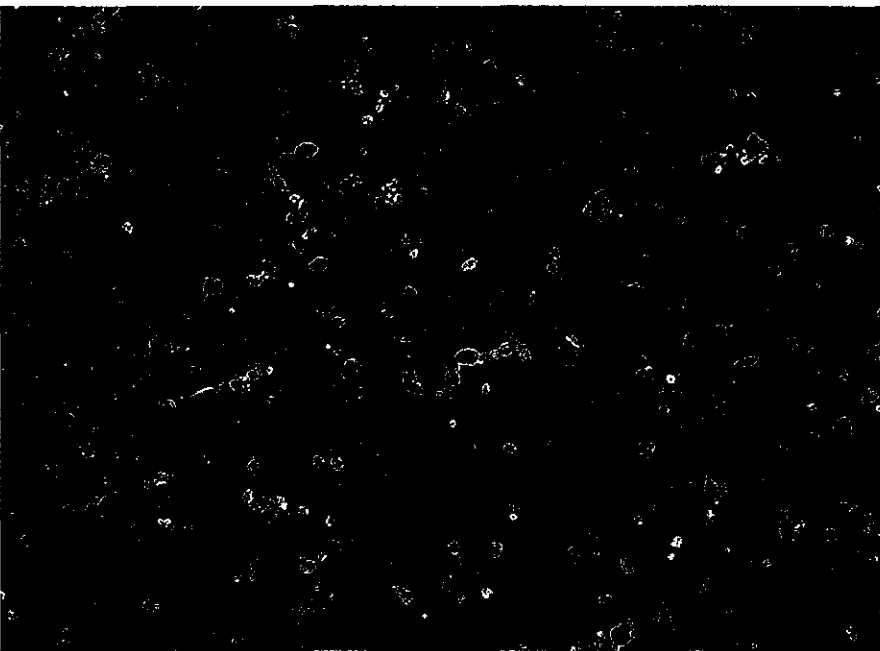


87

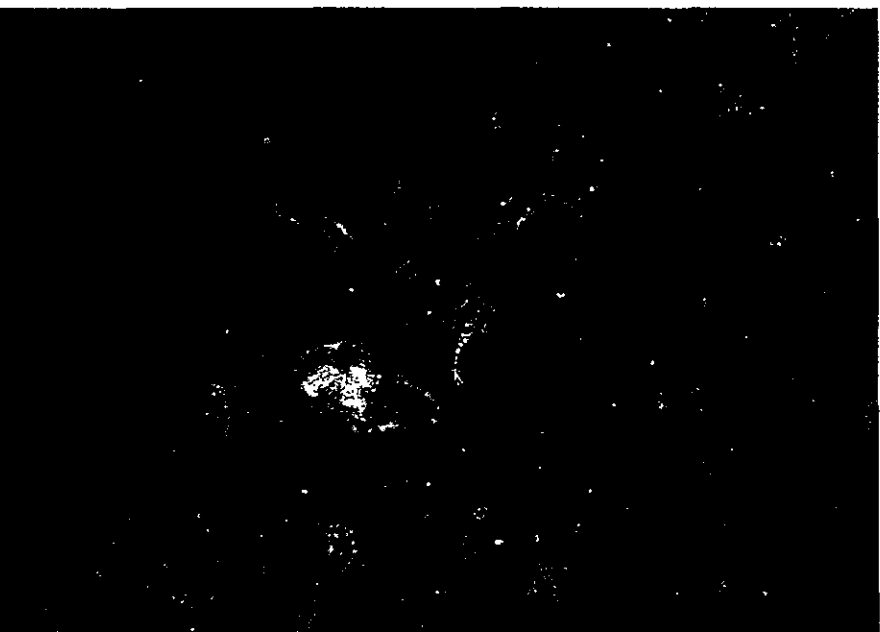
纖維が屈曲する石綿小体



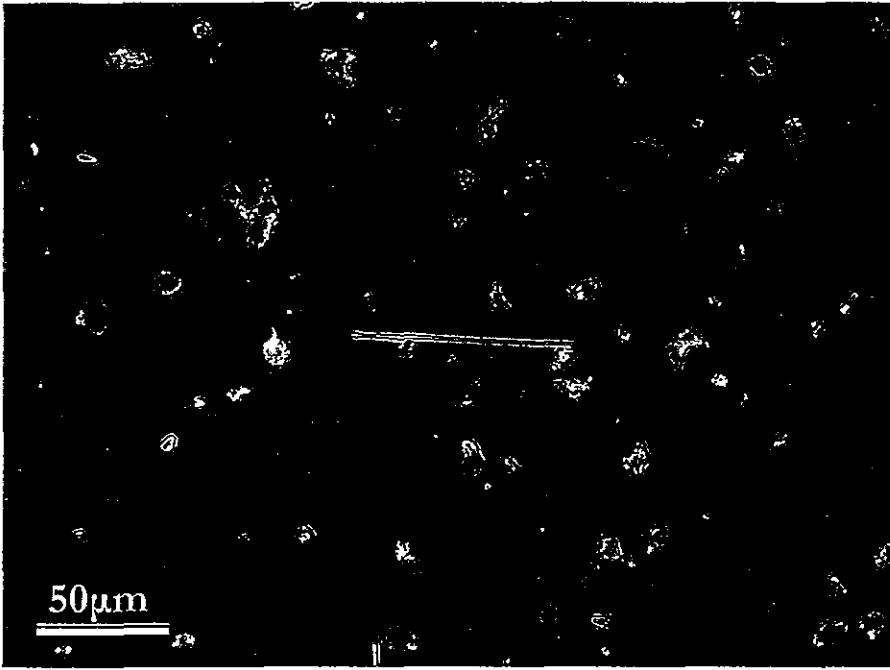
88



89

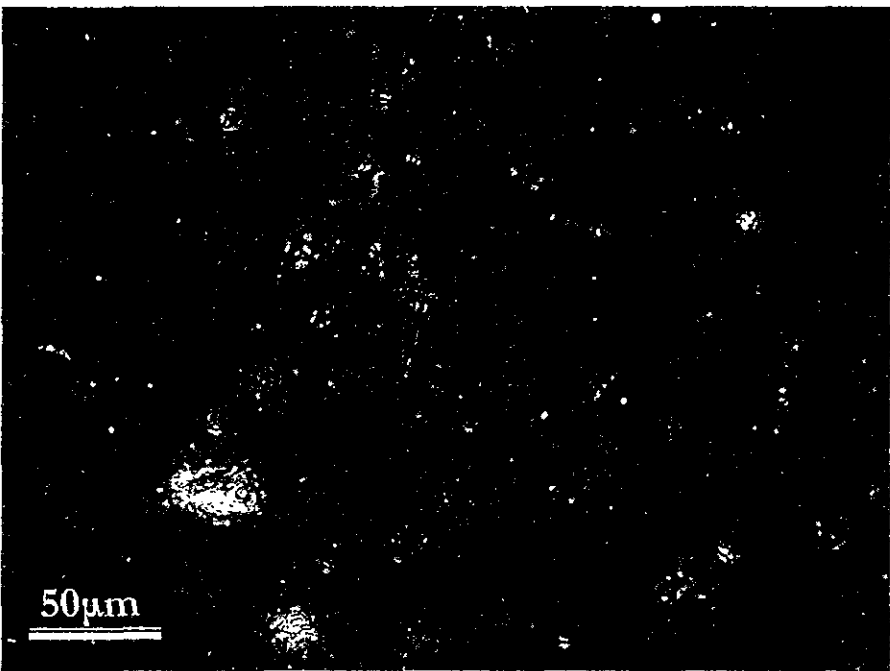


90



少量の付着物質からなる
石綿小体

91

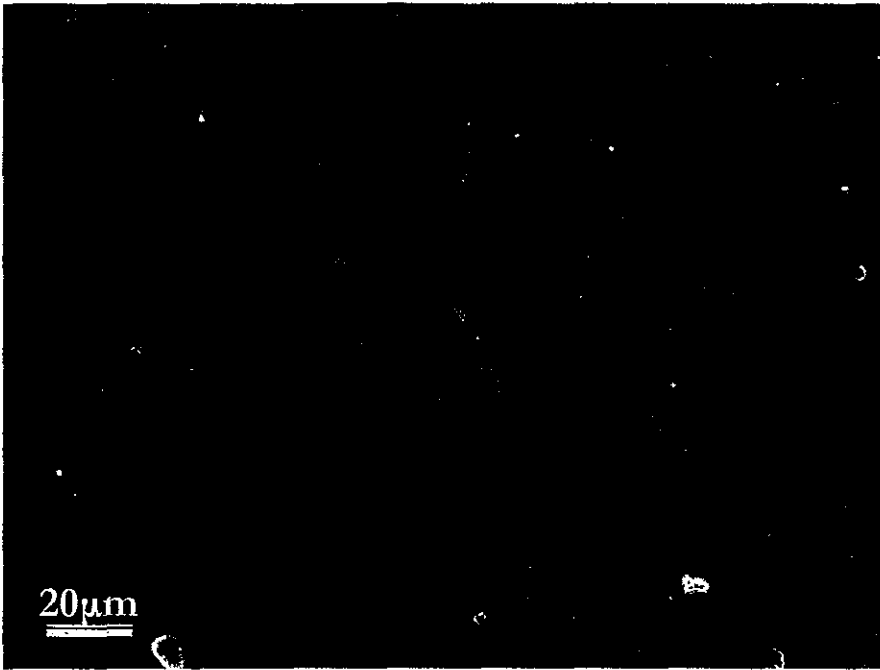


92

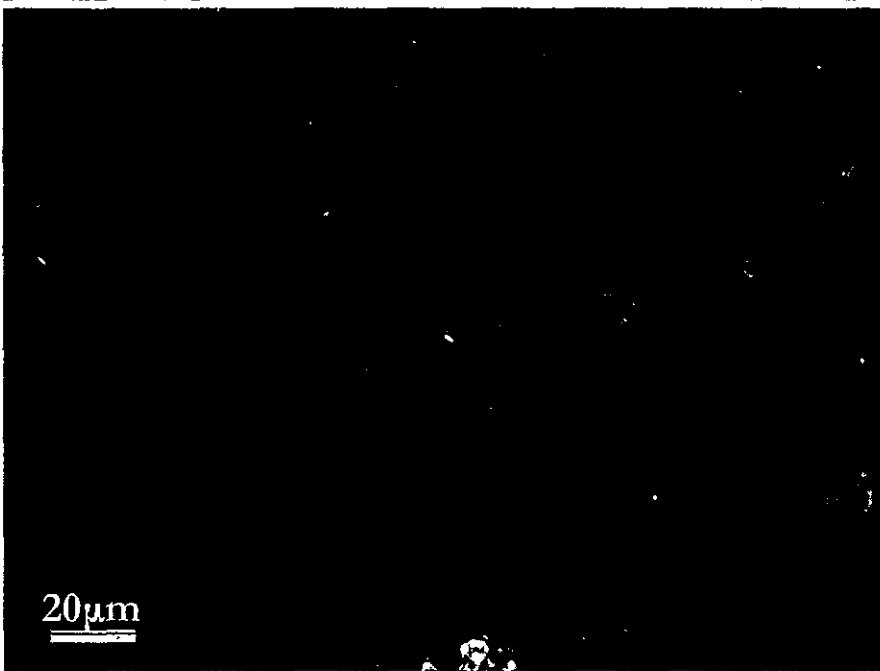


93 右上は多数の分節で覆わ
れる石綿小体

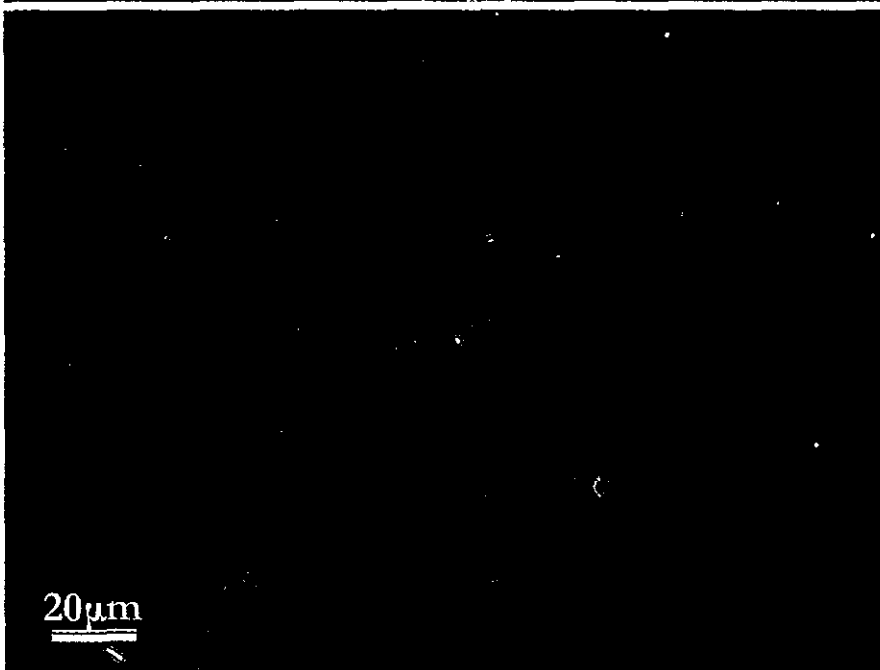
少量の付着物質からなる
石綿小体



94

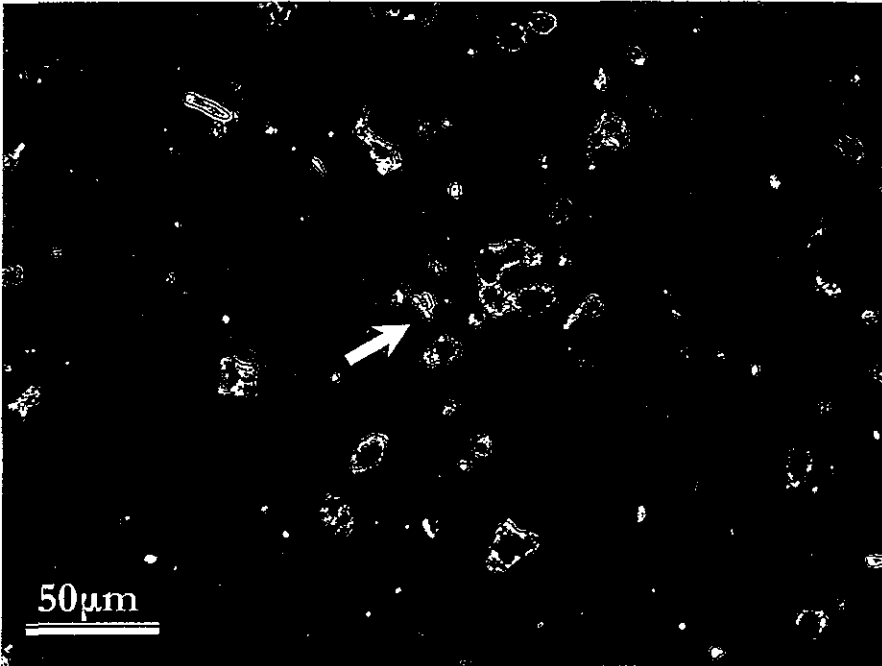


95

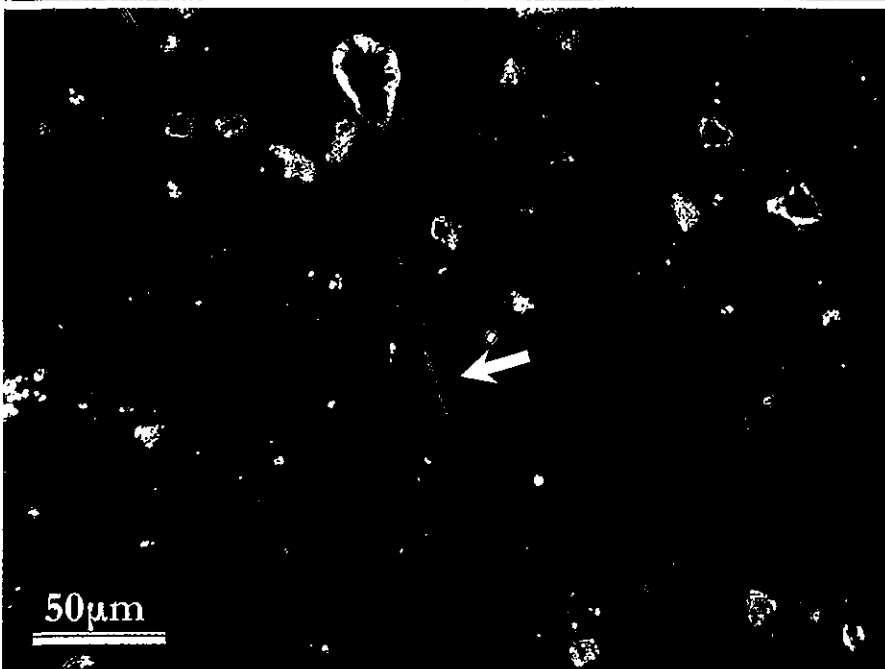


96

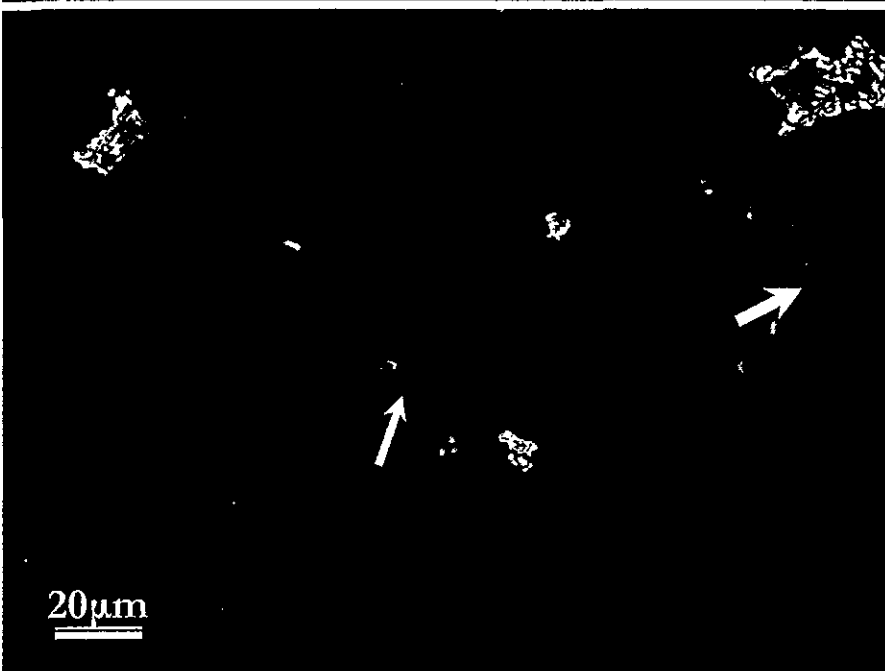
少量の付着物質からなる
石棉小体



97

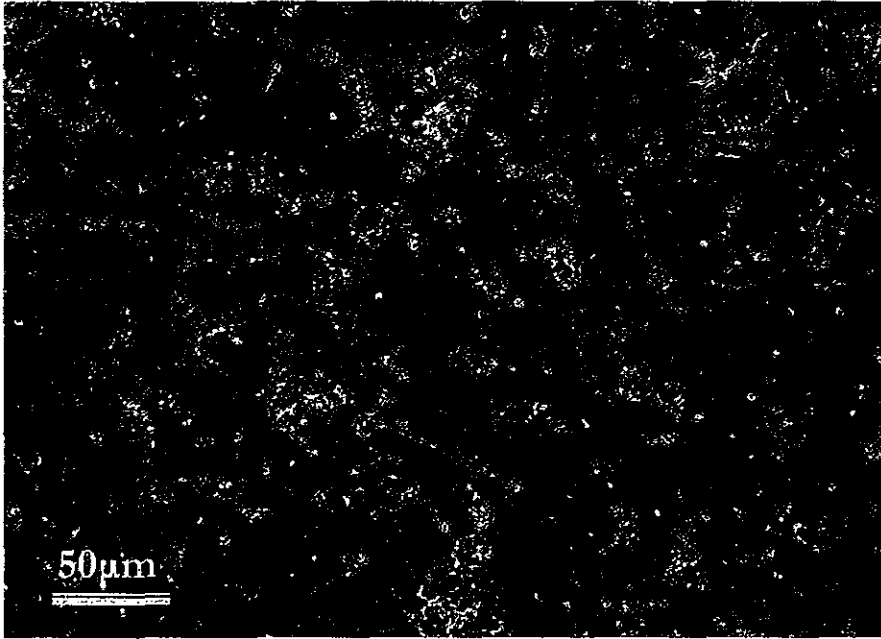


98

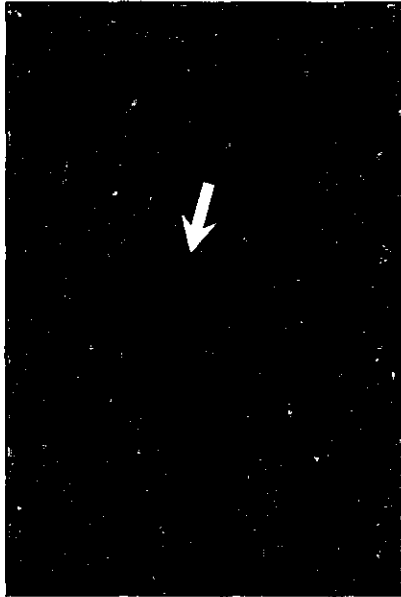
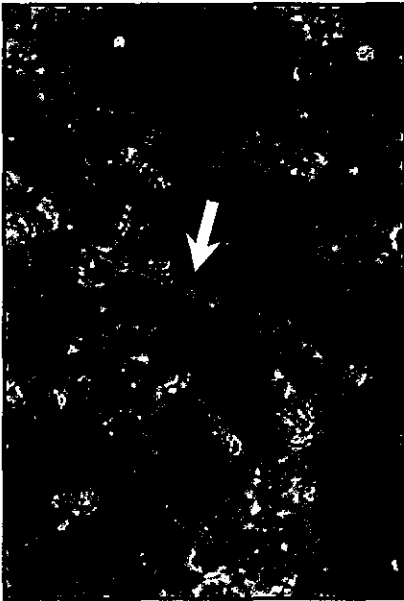


99 中央の石棉小体は多数の
分節で覆われる例

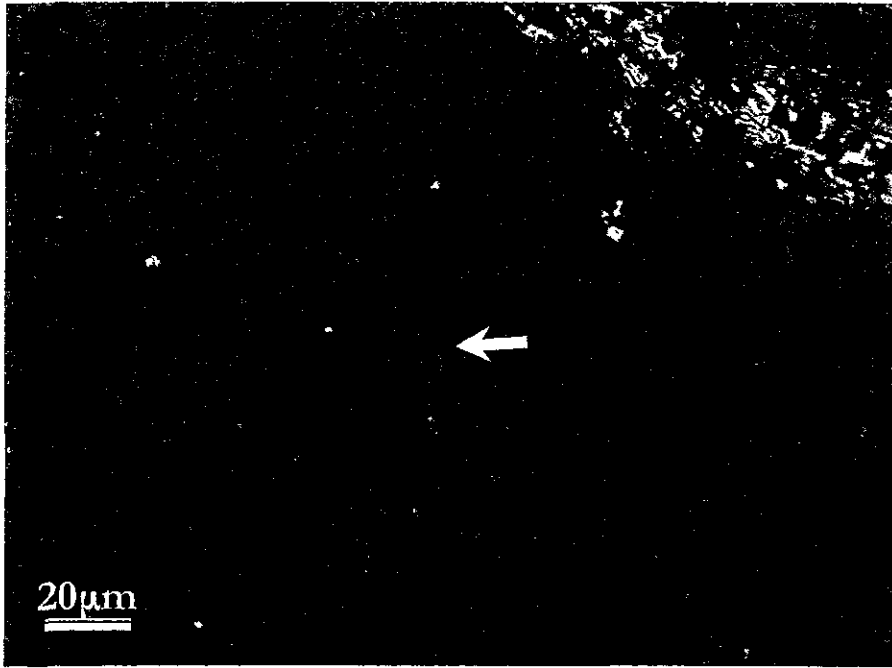
残渣中に埋もれて確認
しにくい例



100

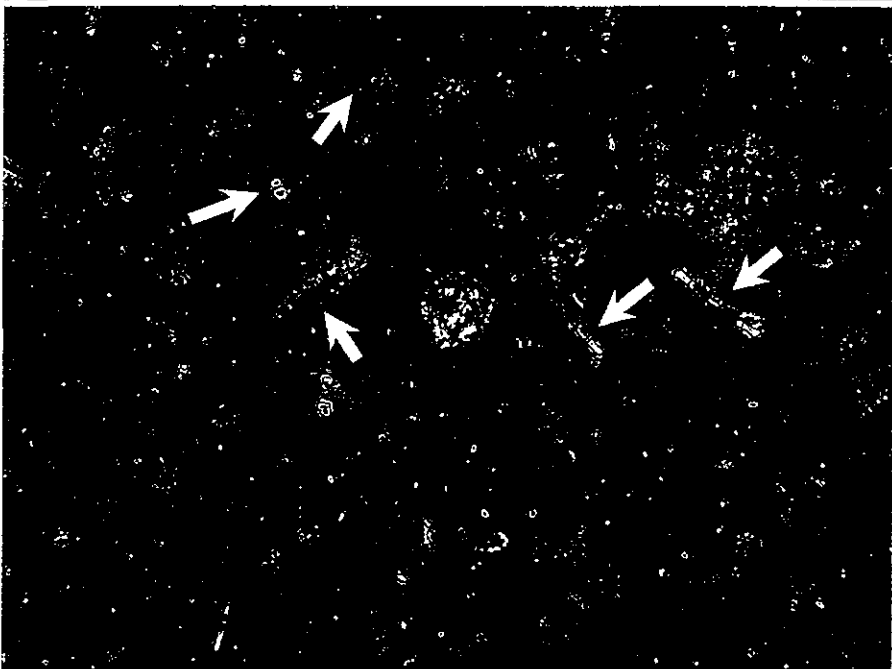


101

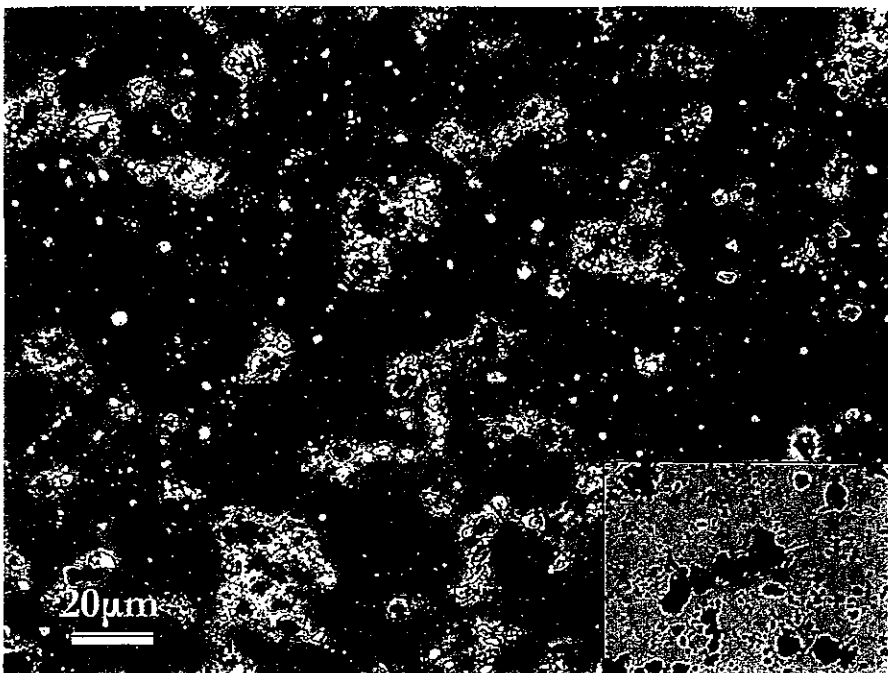


残渣中に埋もれて確認
しにくい例

102

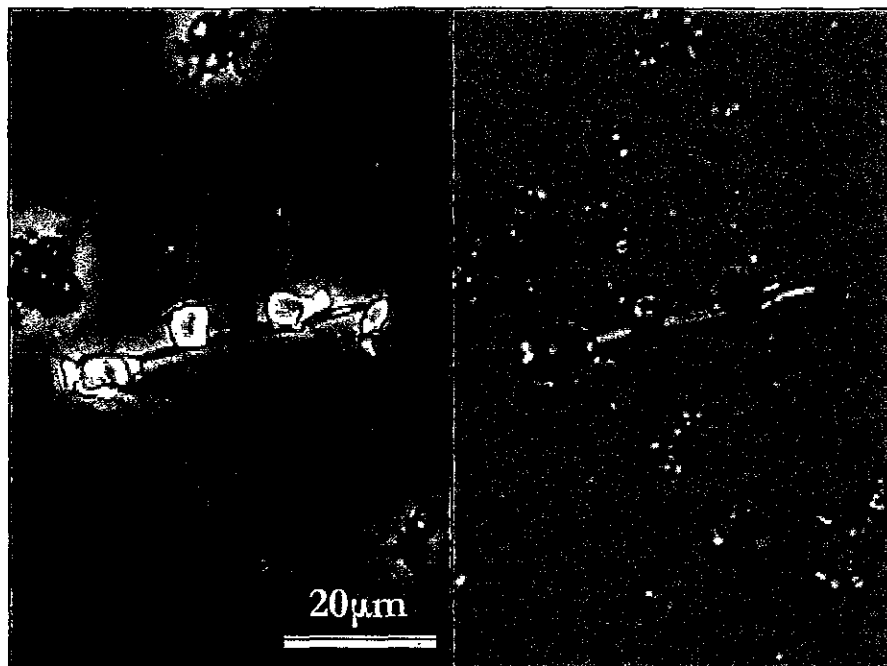


103 5本の石綿小体

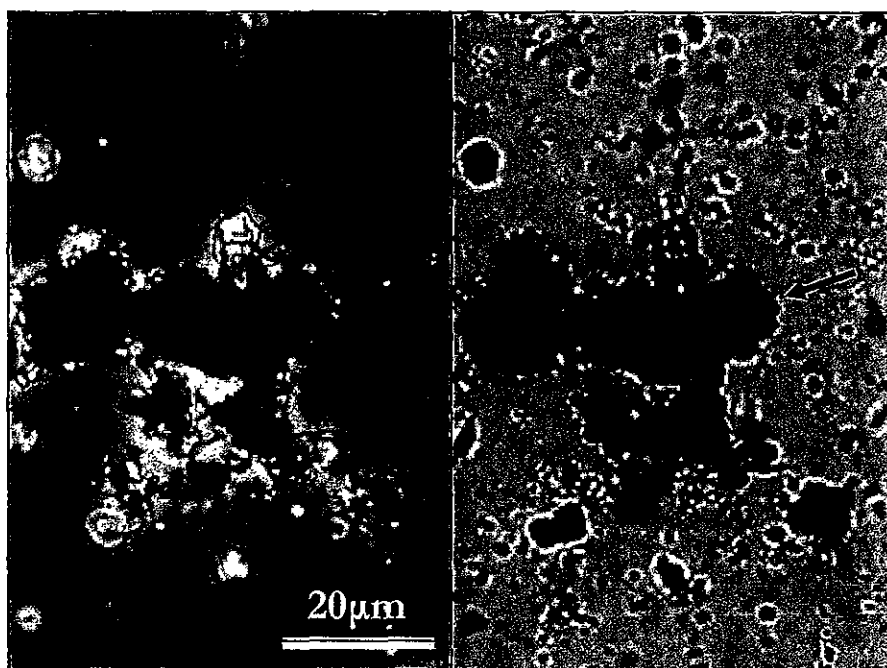


104 右下の挿入は生物顕微
鏡像

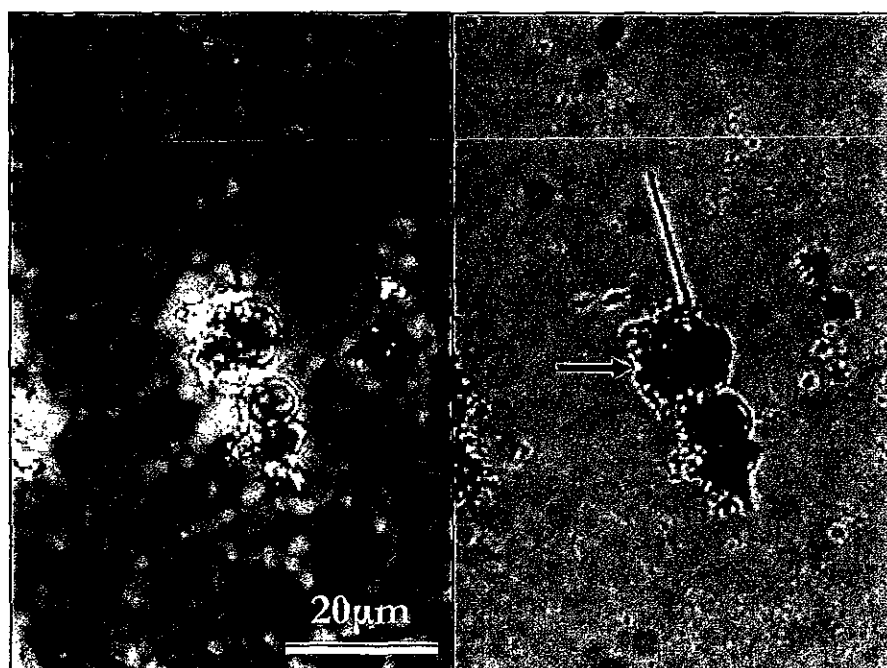
他の粒子が重なる例



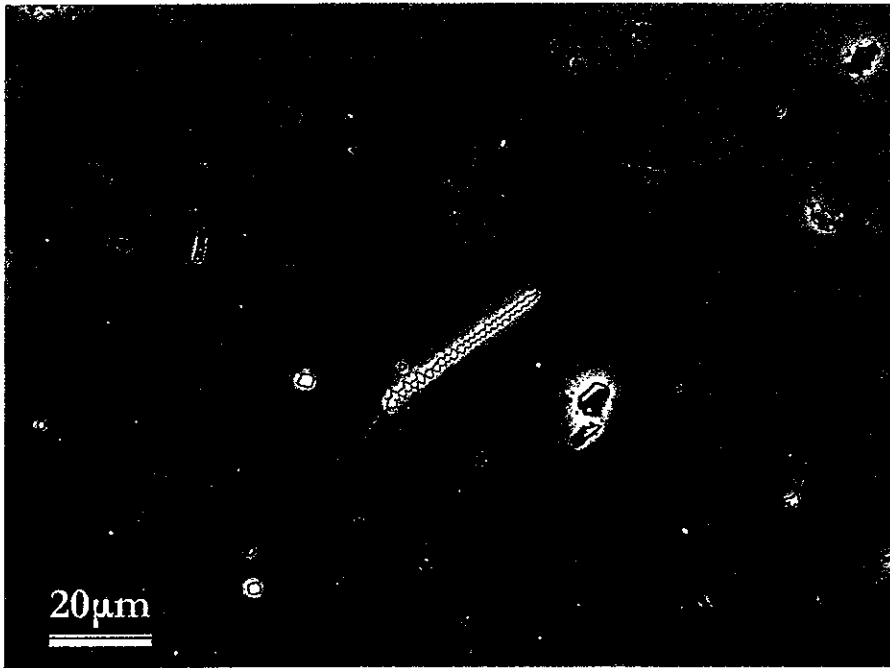
105 黒い矢印は重なる粒子を示す。位相差顕微鏡（左）と生物顕微鏡（右）像で比較



106 黒い矢印は重なる粒子を示す。位相差顕微鏡（左）と生物顕微鏡（右）像で比較

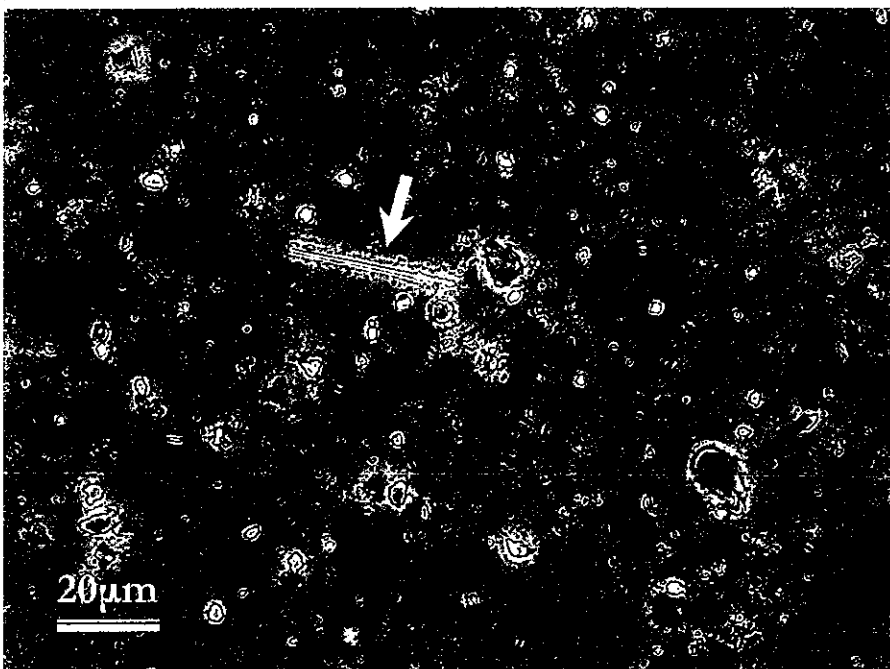


107 黒い矢印は重なる粒子を示す。位相差顕微鏡（左）と生物顕微鏡（右）像で比較

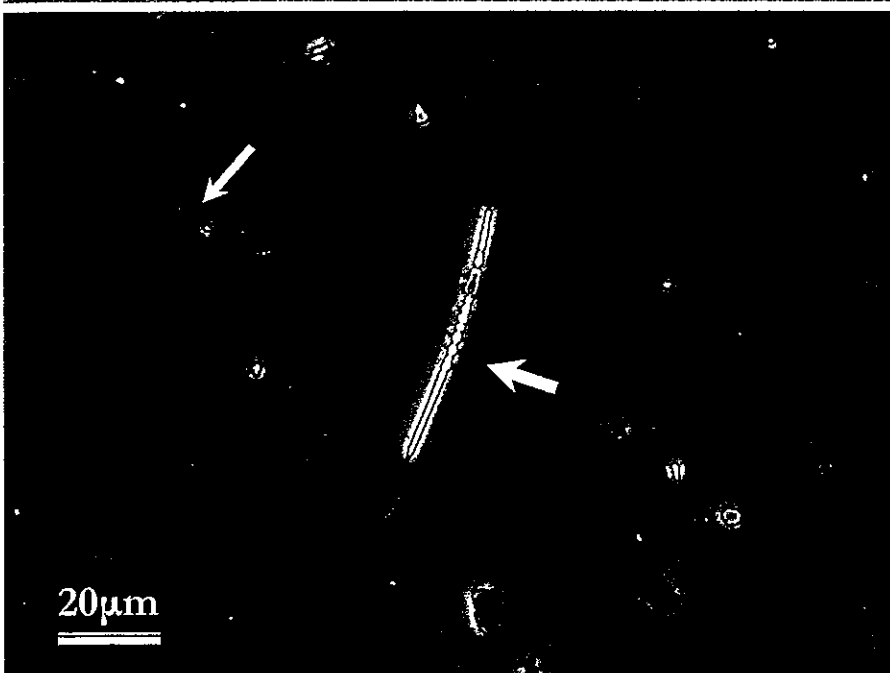


コーティング形状から繊維が推定できる石綿小体

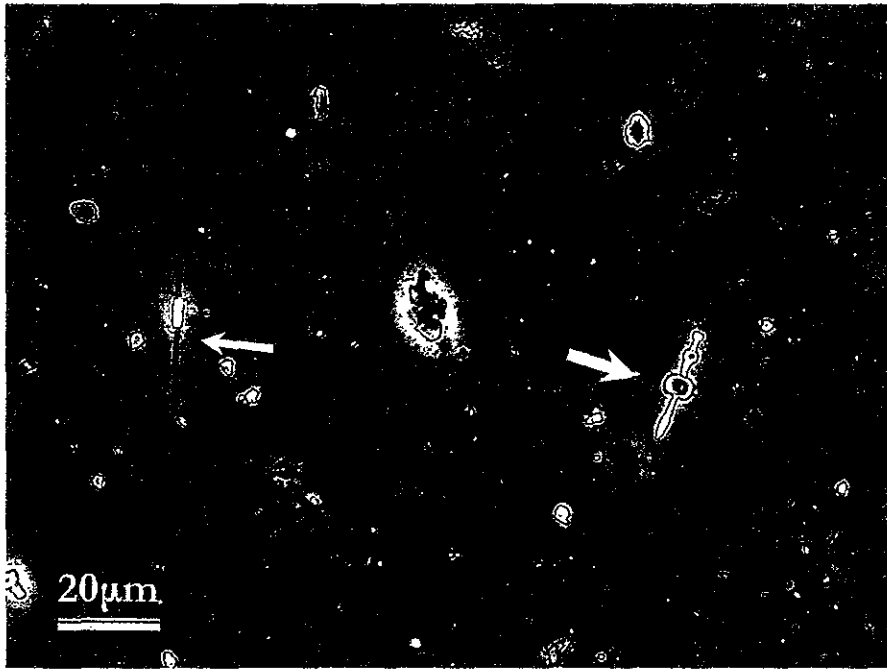
108



109 黒矢印で示す右側の粒子は石綿小体に計数しない

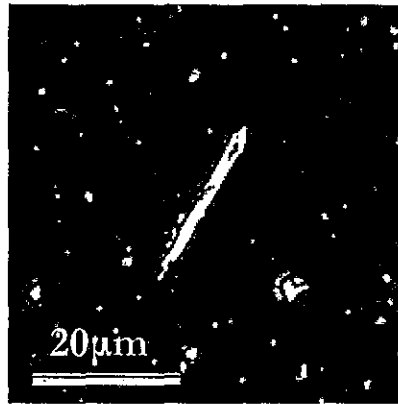
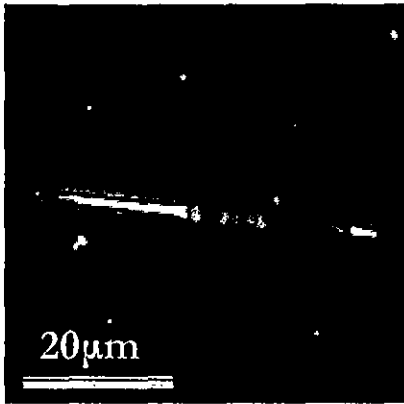


110 左側は少量の付着物質を伴う例

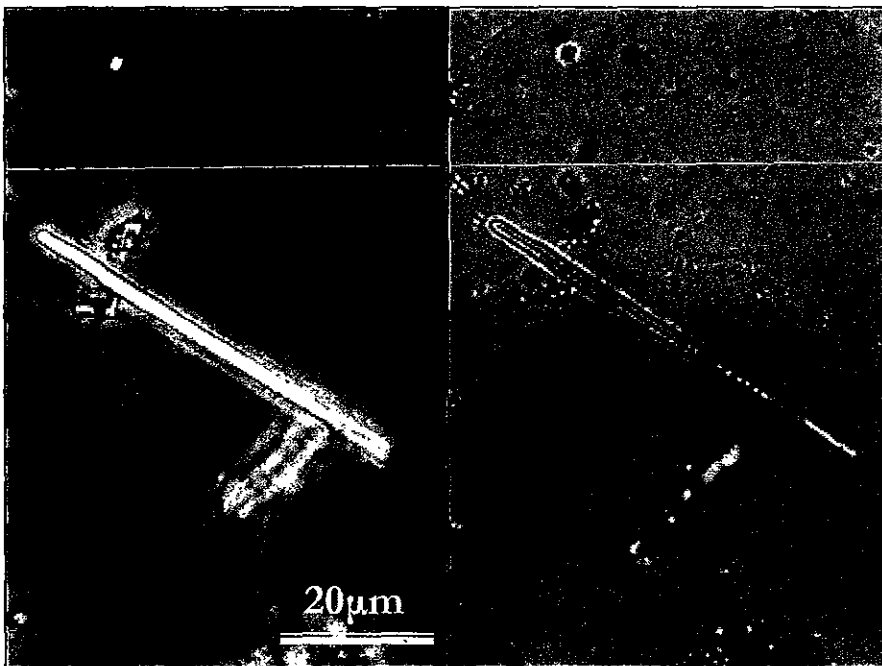


コーティング形状から繊維が推定できる石綿小体

111 左は1個の分節を伴う石綿小体



112、113

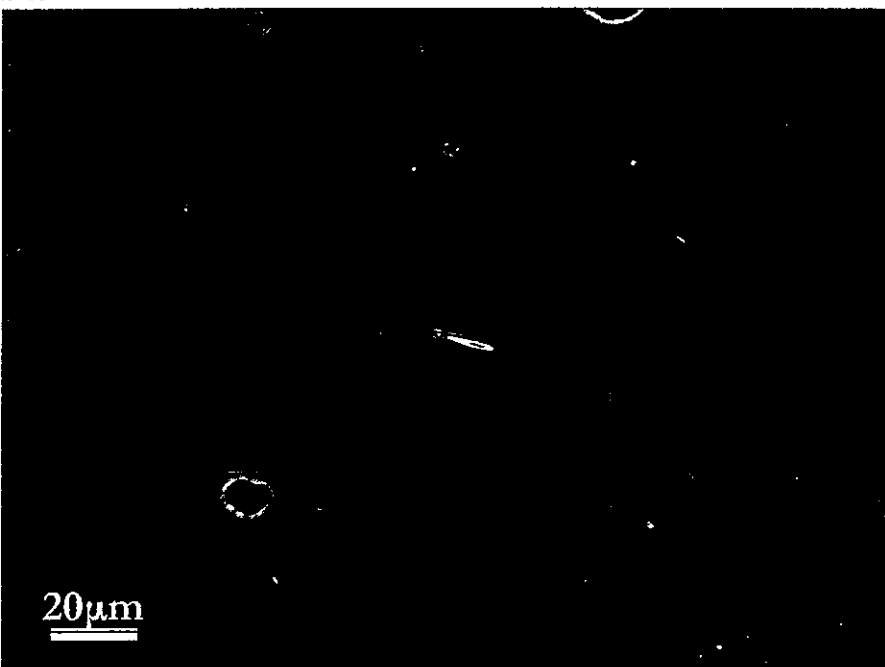


114 位相差顕微鏡（左）と生物顕微鏡（右）像で比較

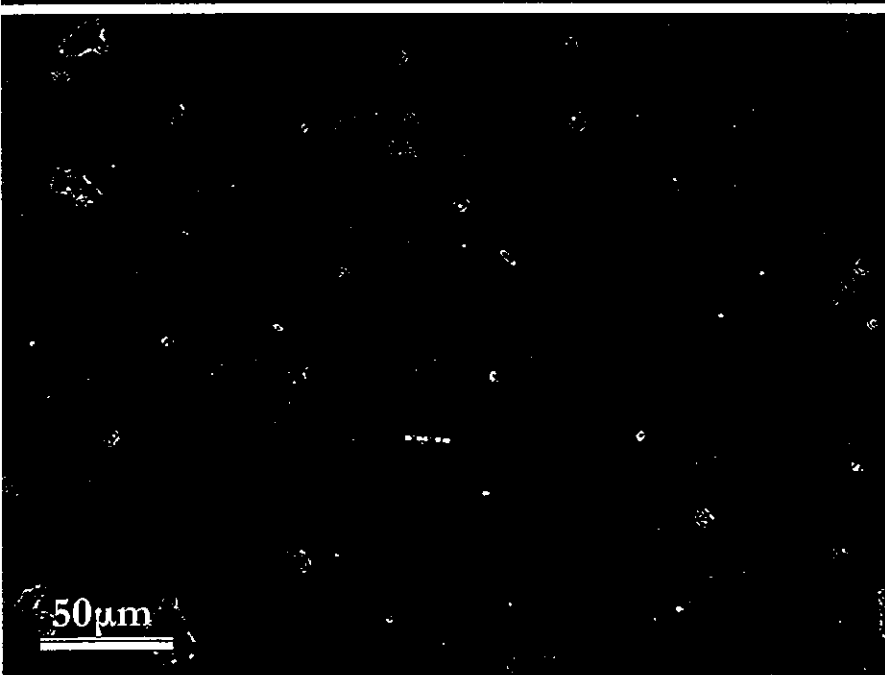


配列などを加味して石綿小体と判断できる例
⇒焦点の微動、明視野（生物）観察で繊維が確認できることもある。繊維が非常に細く確認できなくても粒子の配列状態から石綿小体と判定する例。

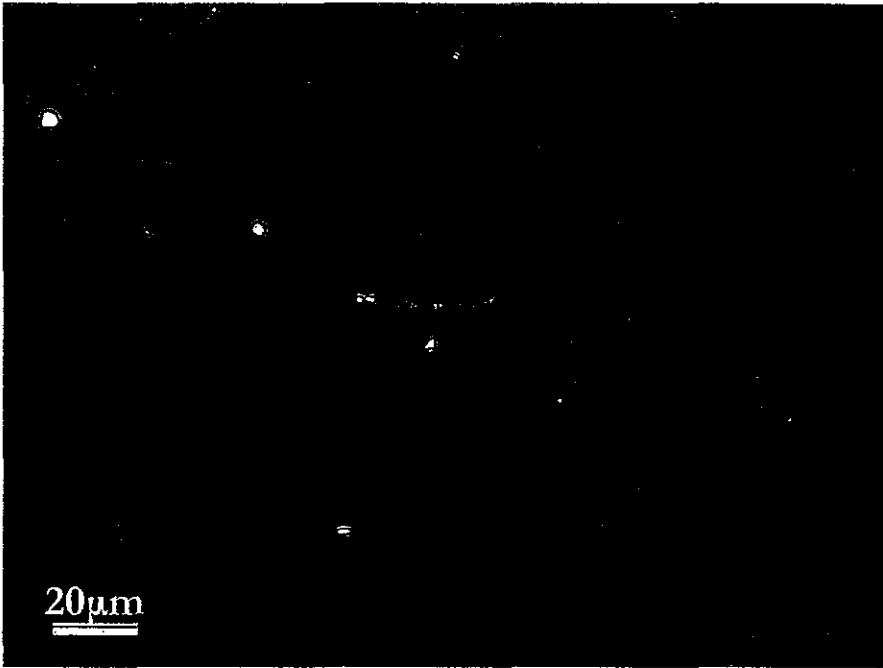
115 黒矢印で示す右側の粒子は石綿小体に計数しない



116

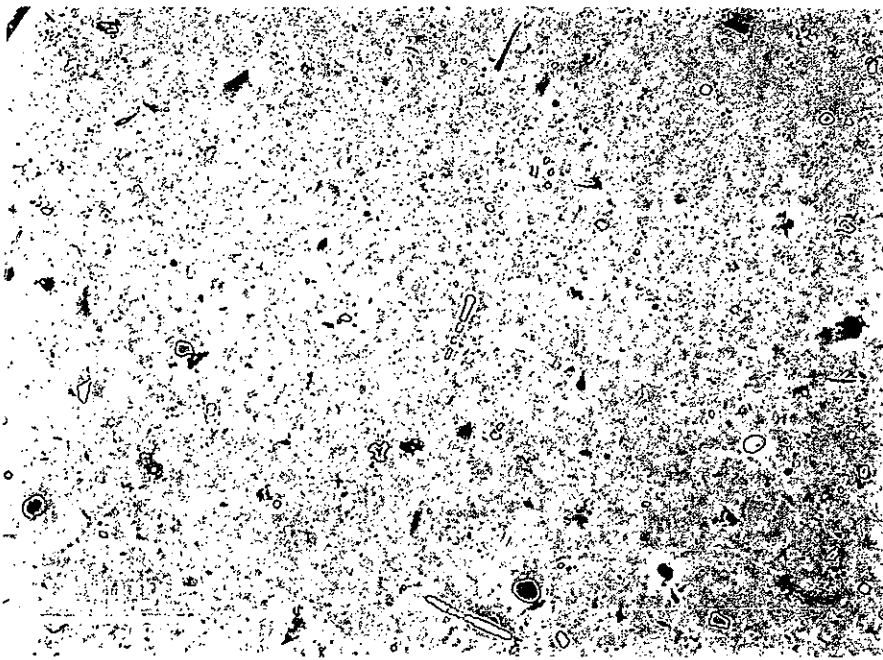


117

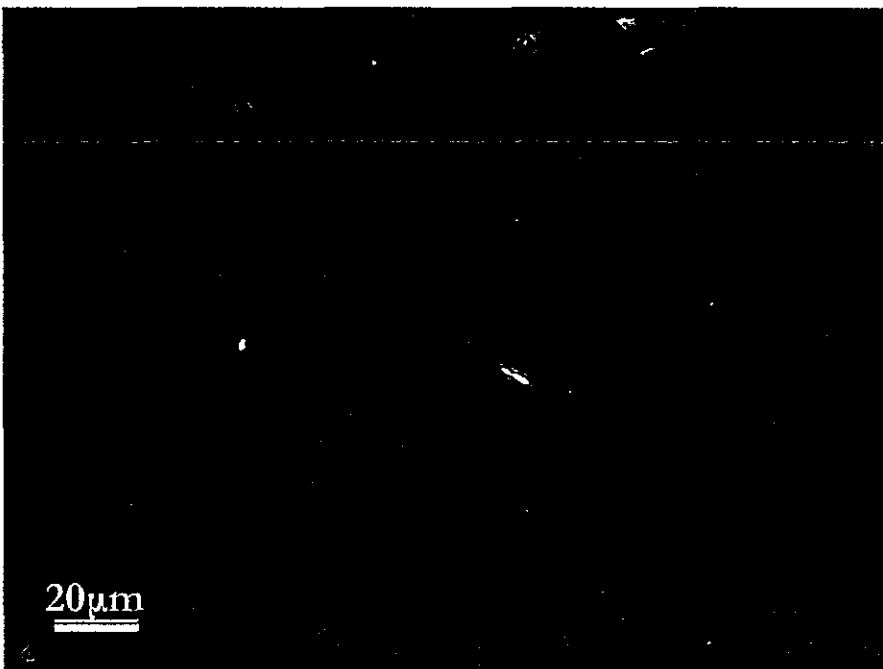


配列などを加味して石綿小体と判断できる例
⇒焦点の微動、明視野（生物）観察で繊維が確認できることもある。繊維が非常に細く確認できなくても粒子の配列状態から石綿小体と判定する例。

118

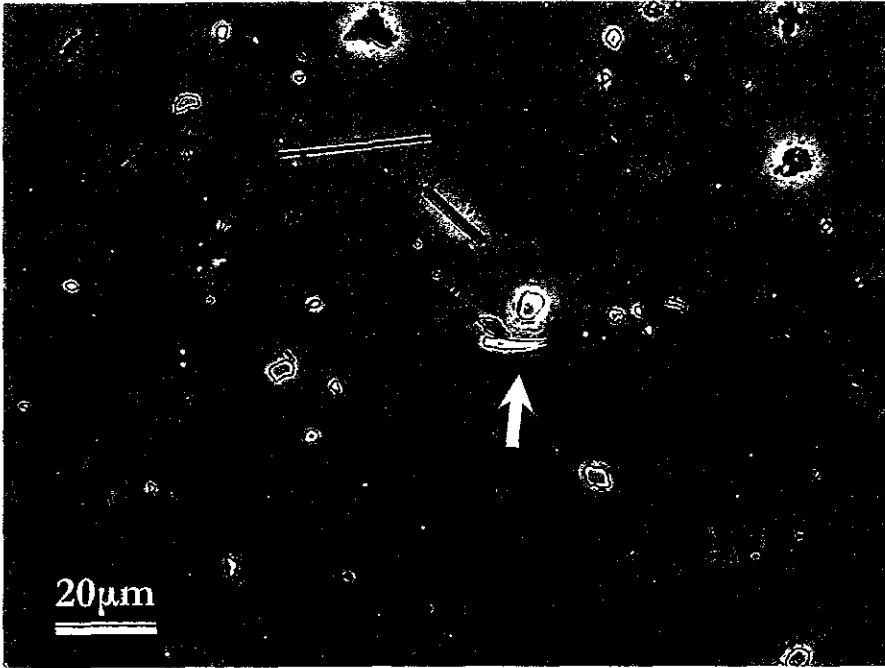


119 中央下の石綿小体は右端に繊維が確認される

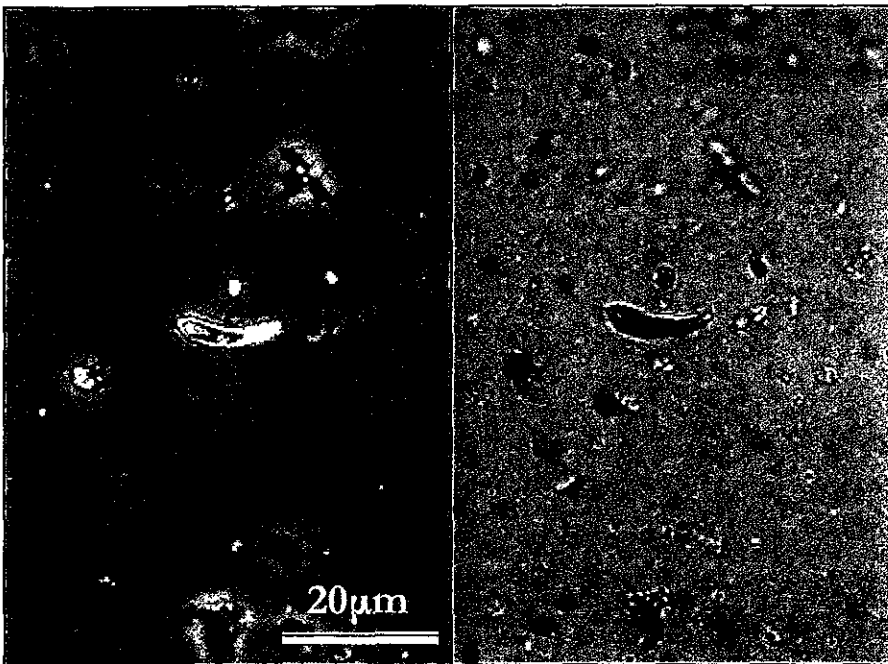


120

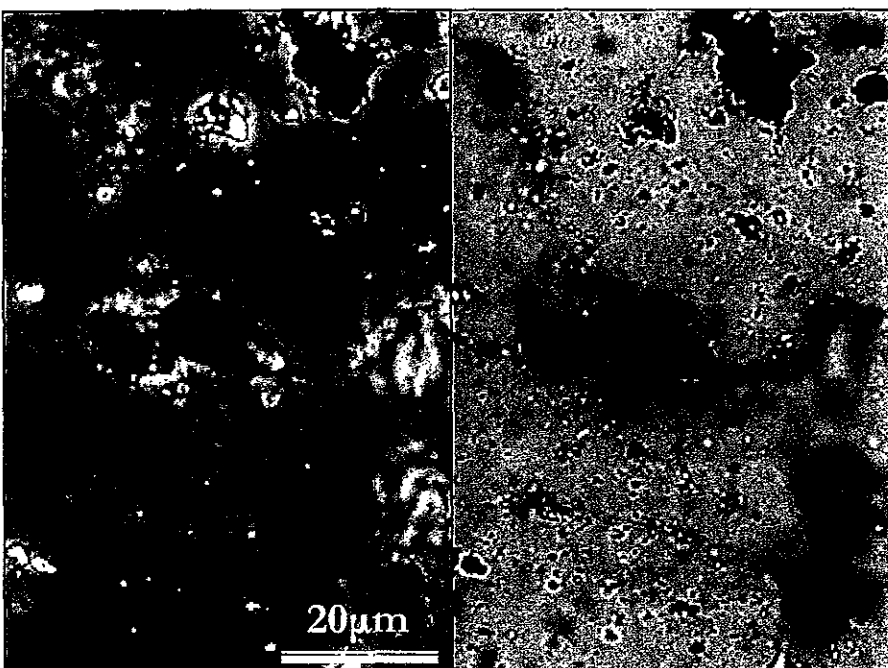
繊維の有無の確認から
石棉小体と判断する例



121 右端部に繊維が確認できる

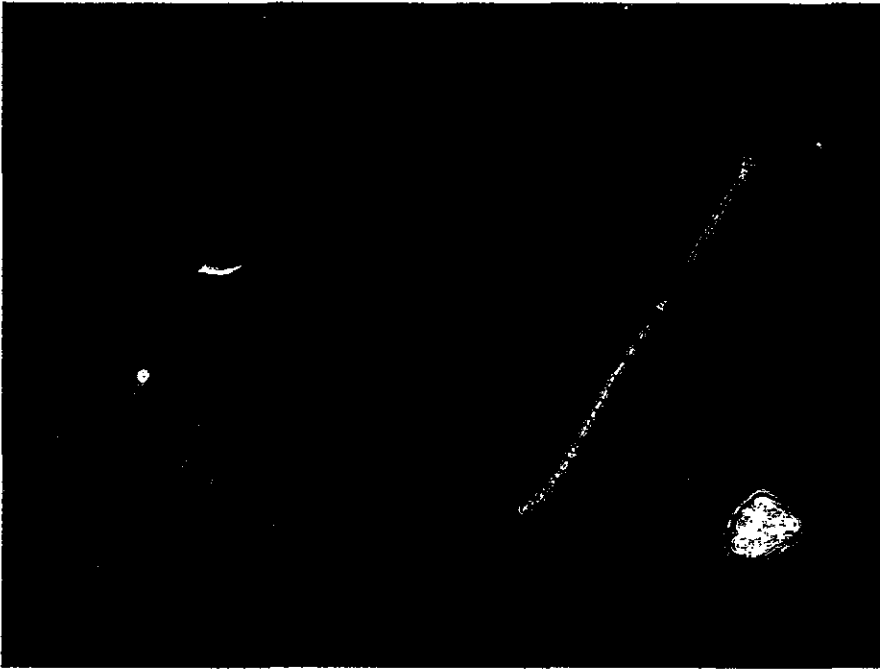


122 生物顕微鏡像で右端部に繊維が確認できる。位相差顕微鏡（左）と生物顕微鏡（右）像で比較

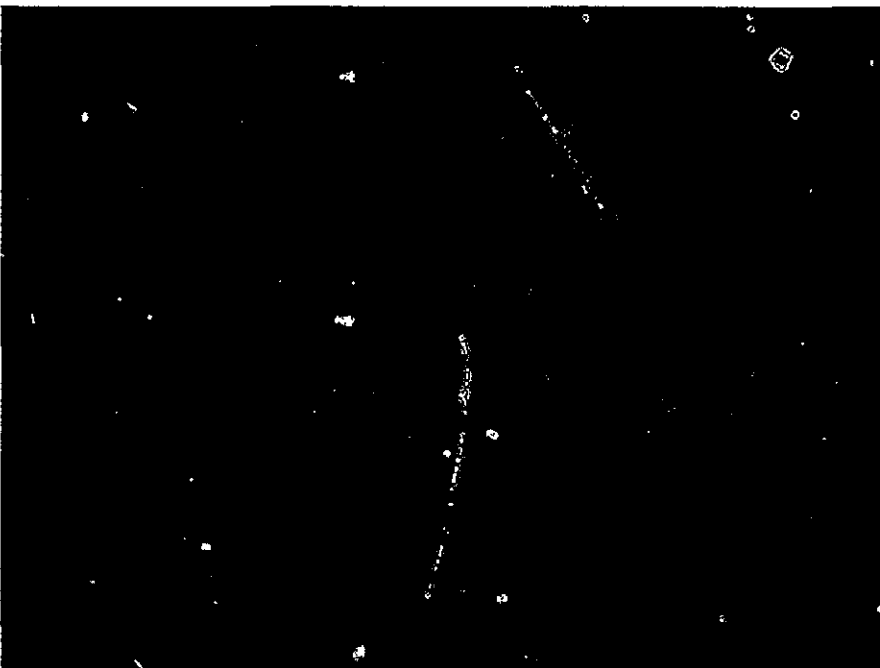


123 左端部に繊維が確認できる。位相差顕微鏡（左）と生物顕微鏡（右）像で比較

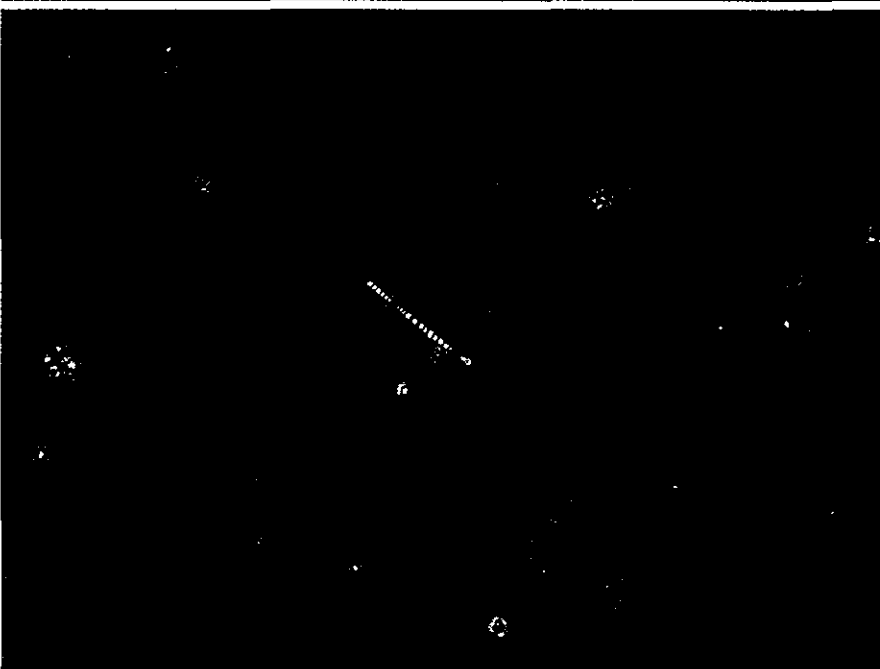
BALF中の石綿小体の例



124 分節が連なった石綿小体
中央に繊維が見られる



125 上：亜鈴様石綿小体
下：分節が連なった石綿小体

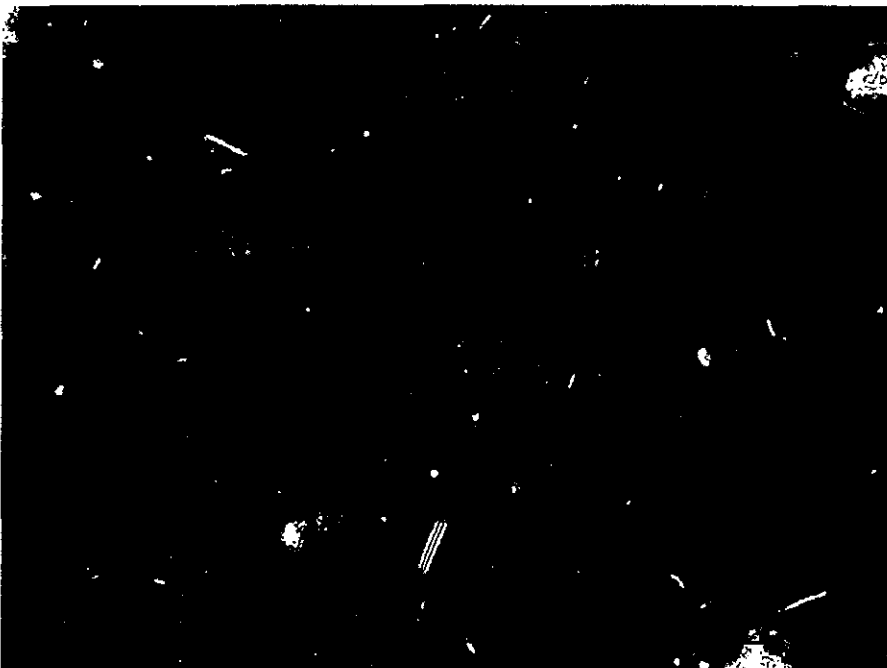


126 分節、色調とも典型的な
石綿小体

BALF中の石綿小体の例



127 分両端に橙色の付着物を持つ石綿小体

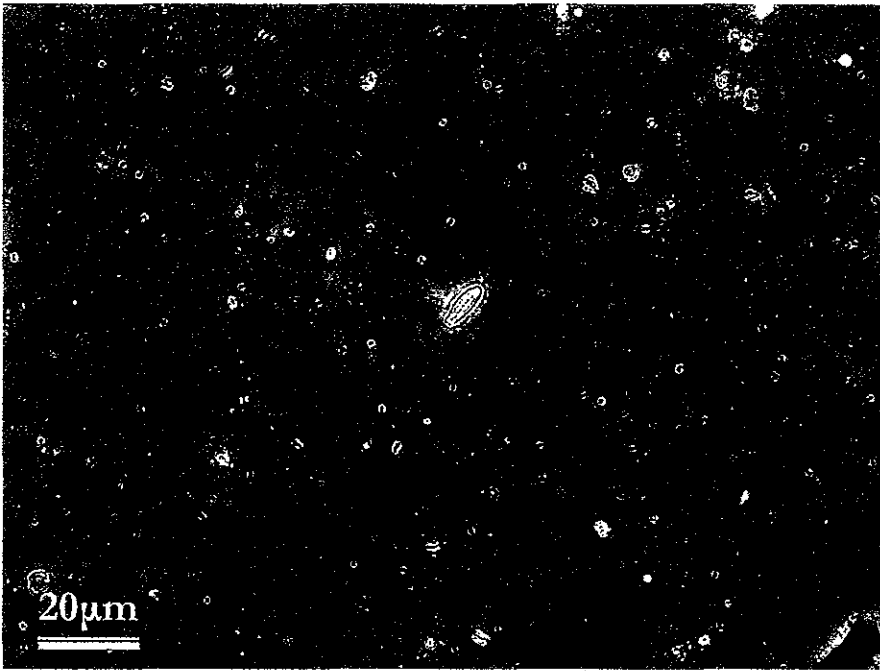


128 下方部分に付着物が見られる石綿小体

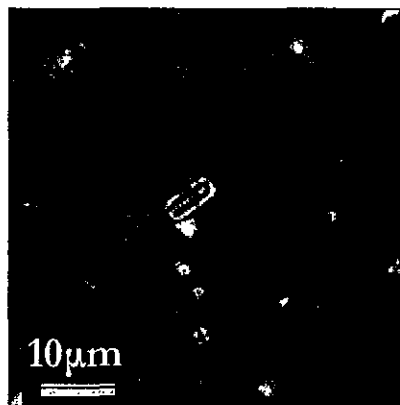
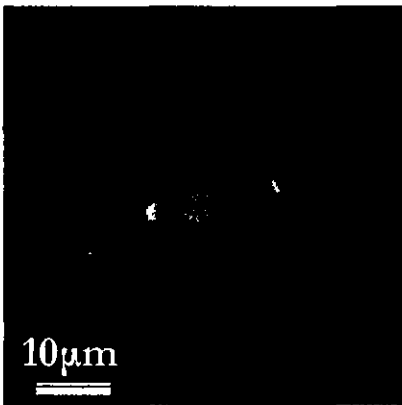


129 繊維がS字状に屈曲した石綿小体

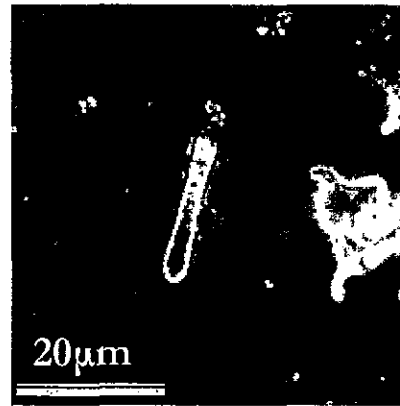
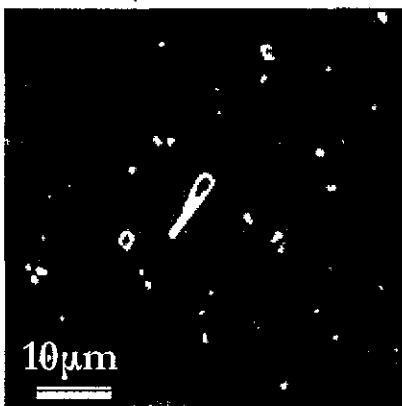
石綿小体に計数しない
粒子状、繊維状物質



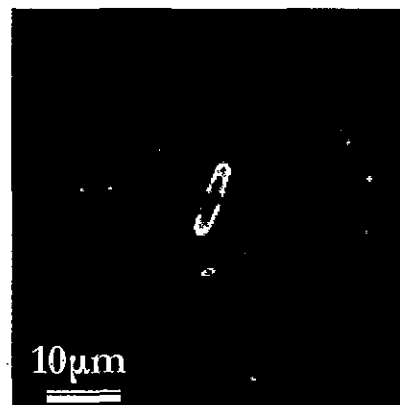
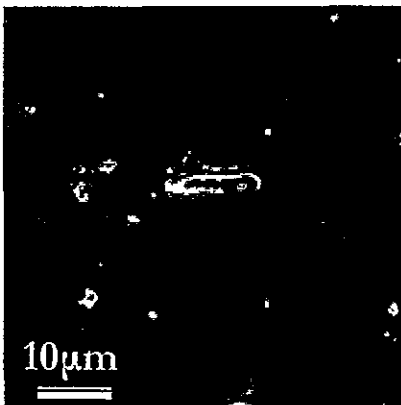
130 中心に穴状の構造を持つが、端部に繊維が確認できない



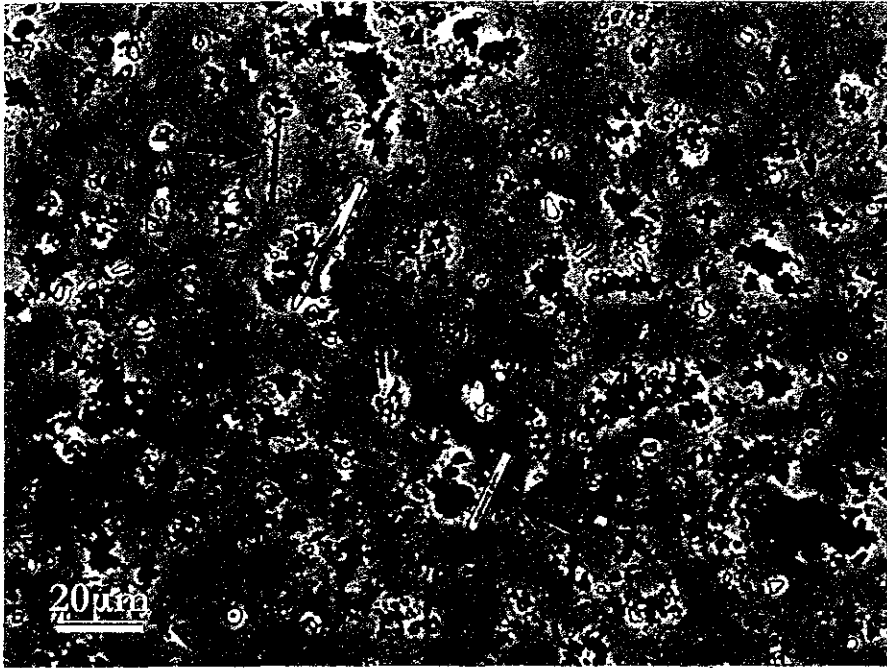
131, 132 中心に穴状の構造を持つが、端部に繊維が確認できない



133, 134 全体がコーティングされ、形状からは繊維が推定できない



135, 136 全体がコーティングされ、形状からは繊維が推定できない

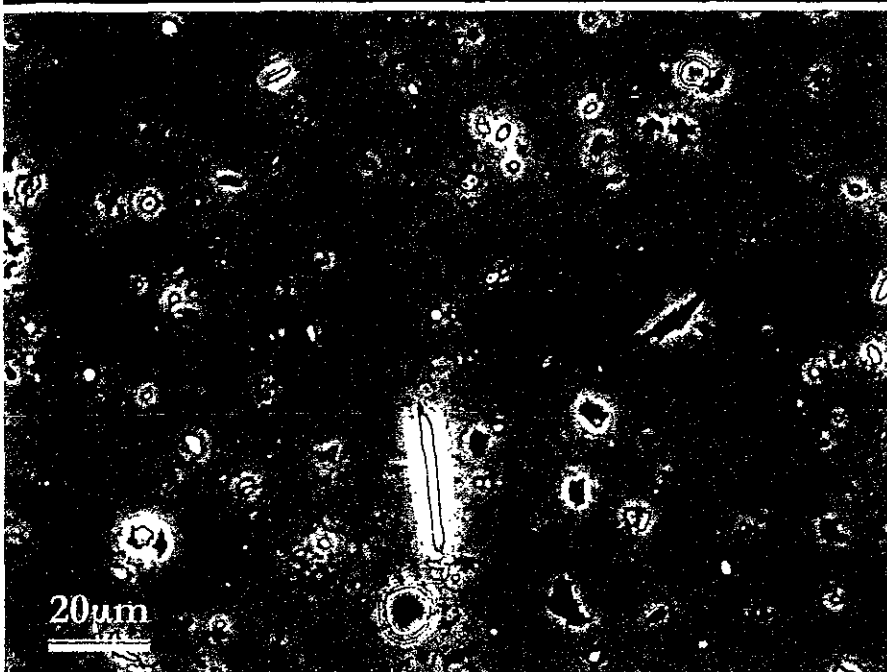


石綿小体に計数しない
粒子状、繊維状物質

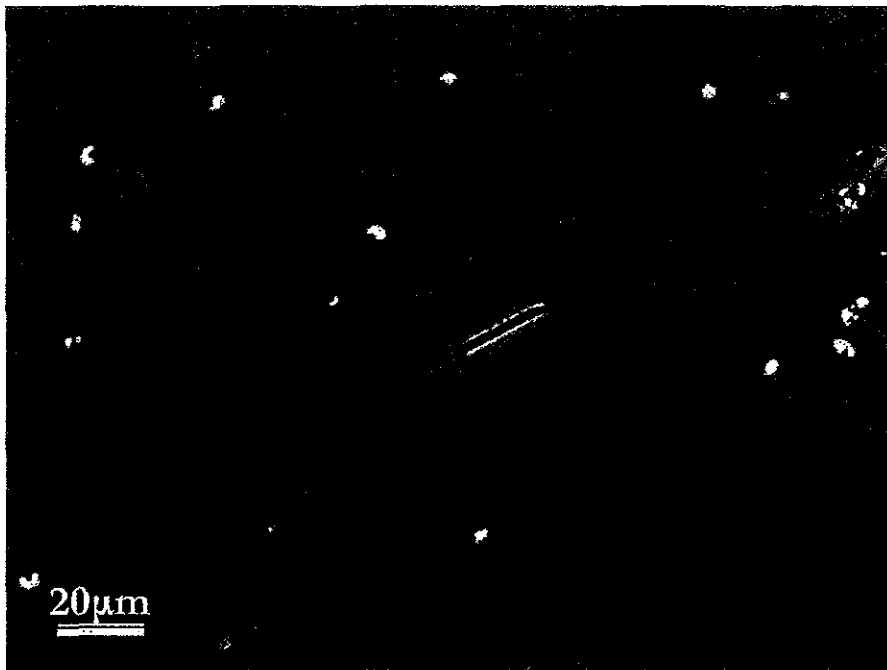
137 繊維が確認できない（中
央の2つ）、粒子の重なり（左）
と判断される



138 繊維が確認できない

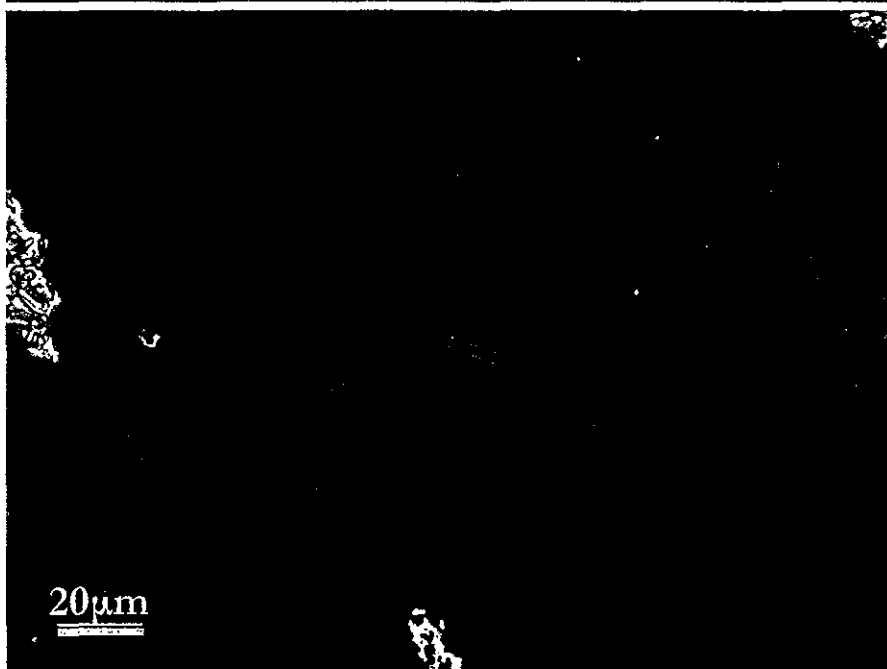


139 繊維が確認できない



石綿小体に計数しない
粒子状、繊維状物質

140 繊維と判断する



141 繊維と判断する



142 繊維と判断する

石綿小体計測マニュアル（第2版）

平成23年10月31日 発行

発行者 独立行政法人労働者健康福祉機構

〒212-0013 神奈川県川崎市幸区堀川町580番地
ソリッドスクエア東館19階
TEL 044 (556) 9862
FAX 044 (556) 9917
E-mail : gyomu-asbestos@honbu.rofuku.go.jp

独立行政法人環境再生保全機構

〒212-8554 神奈川県川崎市幸区大宮町1310番
ミュージアムセンター9階
TEL 044 (520) 9615
FAX 044 (520) 2193
E-mail : asbestos@erca.go.jp

印刷 大東印刷工業株式会社
