

Getting it Right the First Time: Frozen Sections for Diagnosing Necrotizing Soft Tissue Infections

Nawijn, F., Hietbrink, F. & van Dijk, M.R. World J Surg 45, 148–159 (2021). IF 3.352 (2020)

目的：壊死性軟部組織感染症（Necrotizing Soft Tissue Infection；NSTIs）を最も示唆する組織学的所見を同定すること。

方法：2013年1月から2019年8月の期間で、NSTIs 疑いのため切開生検を行った患者39例を対象とした。凍結切片およびホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）サンプルを後ろ向きに再評価した。アウトカムは退院時診断とした。

結果：39例中27（69%）例がNSTIs 症例であった。NSTI 群では、非NSTI 群と比較して、顕微的水泡（ $p < 0.05$ ） 高度な筋膜炎症（ $p < 0.001$ ）、および筋膜壊死（ $p < 0.001$ ）を認めた。筋肉浮腫（ $n = 5$ ）、重度の筋肉炎症（ $n = 5$ ）、筋肉壊死（ $n = 8$ ）、血栓症（ $n = 10$ ）、および血管炎（ $n = 5$ ）は、主にNSTI 群でのみ観察された。13例で、凍結切片とFFPEサンプルの所見についての重症度判定において不一致が見られた。ただし、診断および治療方針には影響しなかった。

結論：顕微的水泡、重度の筋膜または筋肉炎症、筋膜または筋肉の壊死、筋肉浮腫、血栓症、および血管炎などの組織学的所見は、NSTIs の可能性を示唆する。NSTIs 疑いの場合、著者らはtriple diagnostics（肉眼診断、組織診断および細菌検査所見）として術中凍結切片による補助診断を行っている。

NSTI が疑わしい場合には凍結切片で診断が推奨する。

Take home message：

1. NSTI の診断には、迅速さが要求される（早期診断は死亡率を低下させるため）
2. NSTI の診断には、triple diagnostics が重要である。
3. NSTI が疑い症例では凍結切片でのグラム染色が診断に有用である。

Figure 1

凍結標本作製の工程

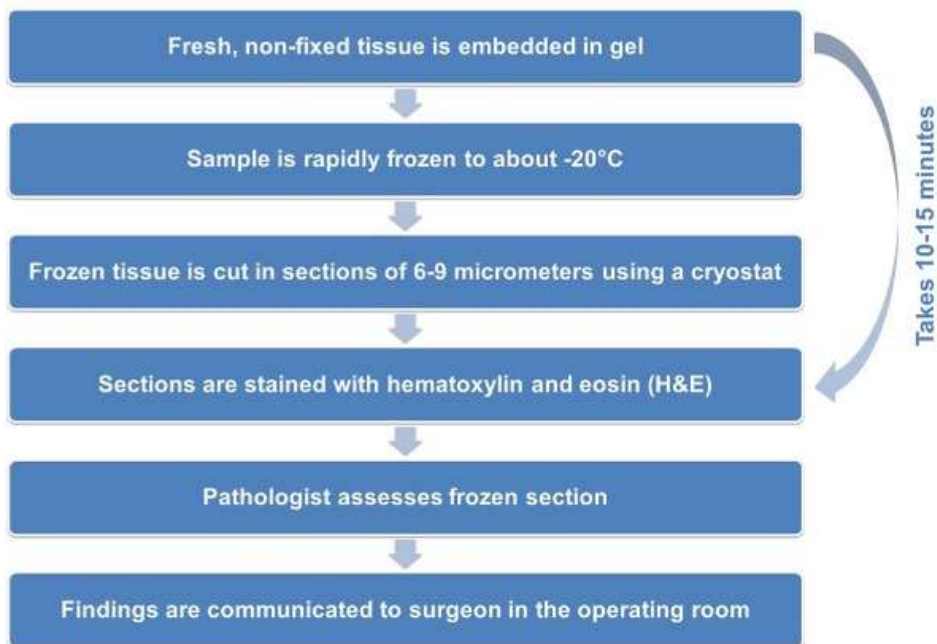
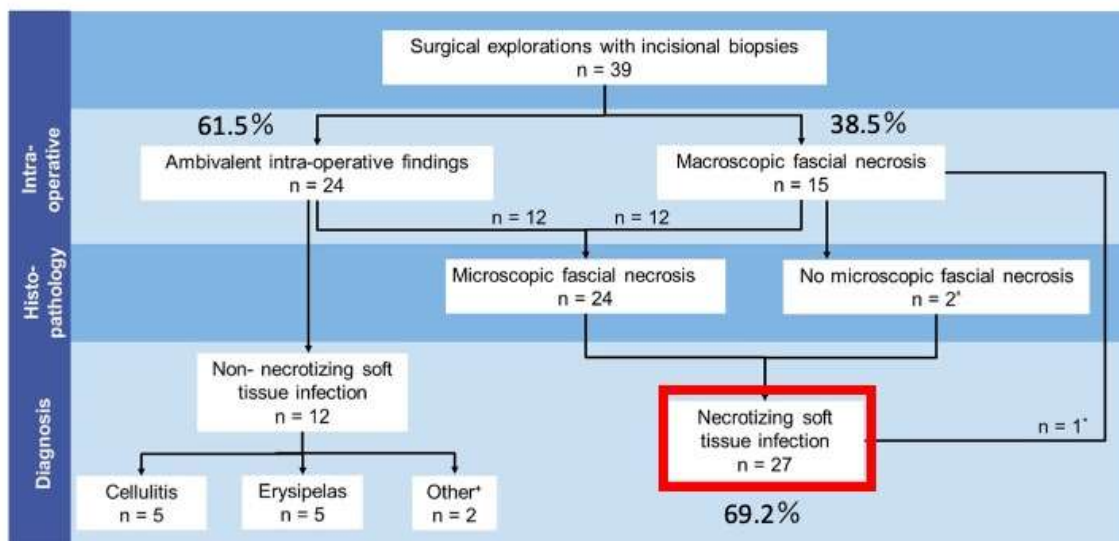


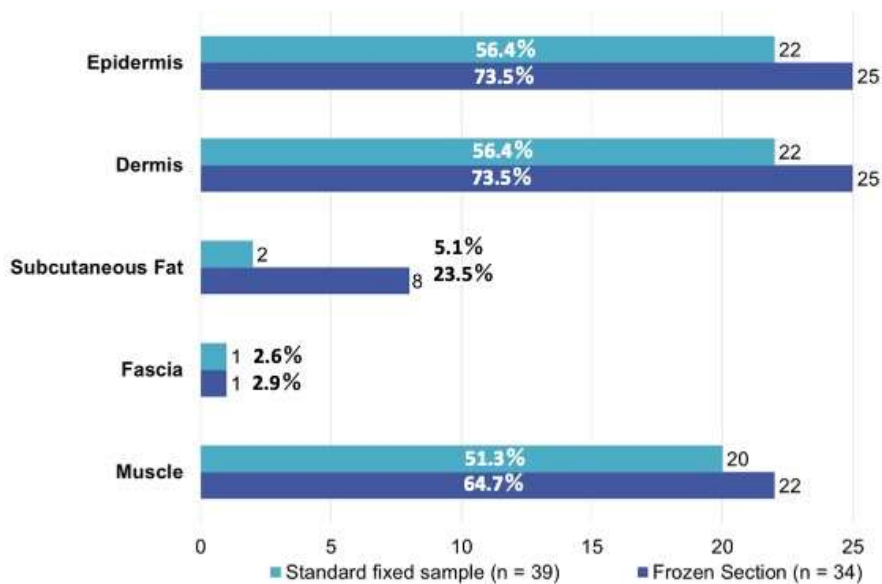
Figure 2

壊死性軟部組織感染症が疑われ、切除生検が施行された症例の診断までの流れ



^ Biopsy most likely taken from resection margin; * Not enough fascia in biopsy to assess; * Adverse drug reaction with cutaneous eosinophilia (n = 1) and bacteremia caused by endocarditis (n = 1)

Figure 3



壊死性軟部組織感染症が疑われる症例の検体で組織学的所見が見られなかった部位。

Figure 4 : NSTIの組織像

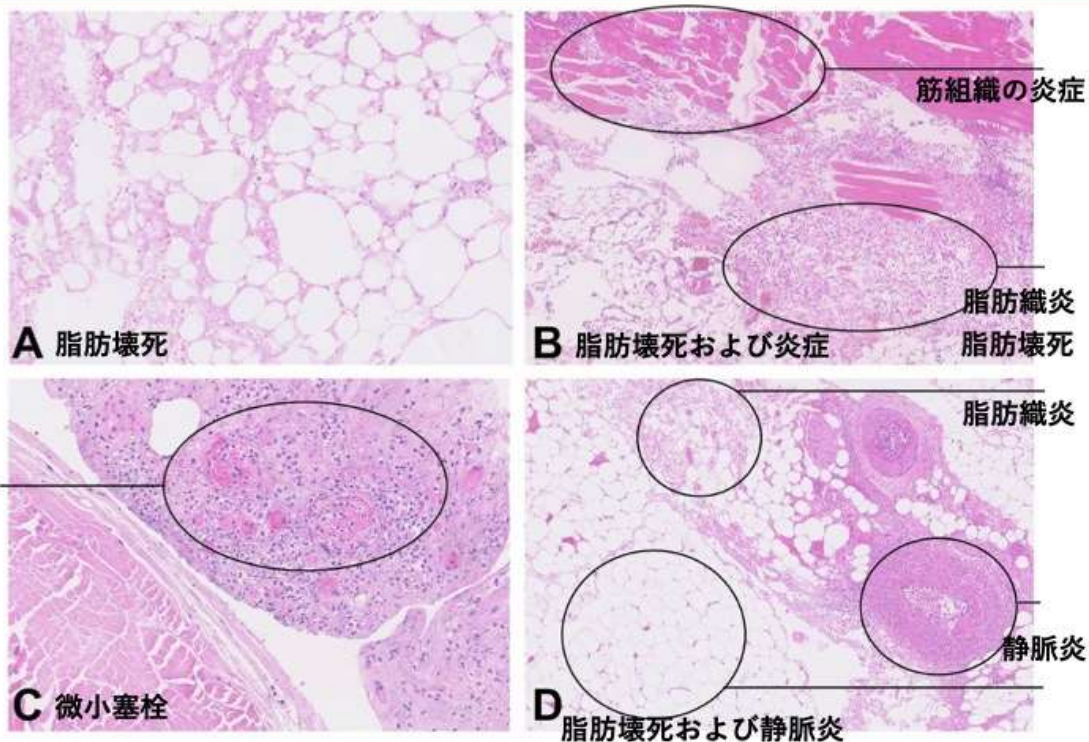


Figure 5: NSTIの生検検体（グラム染色）

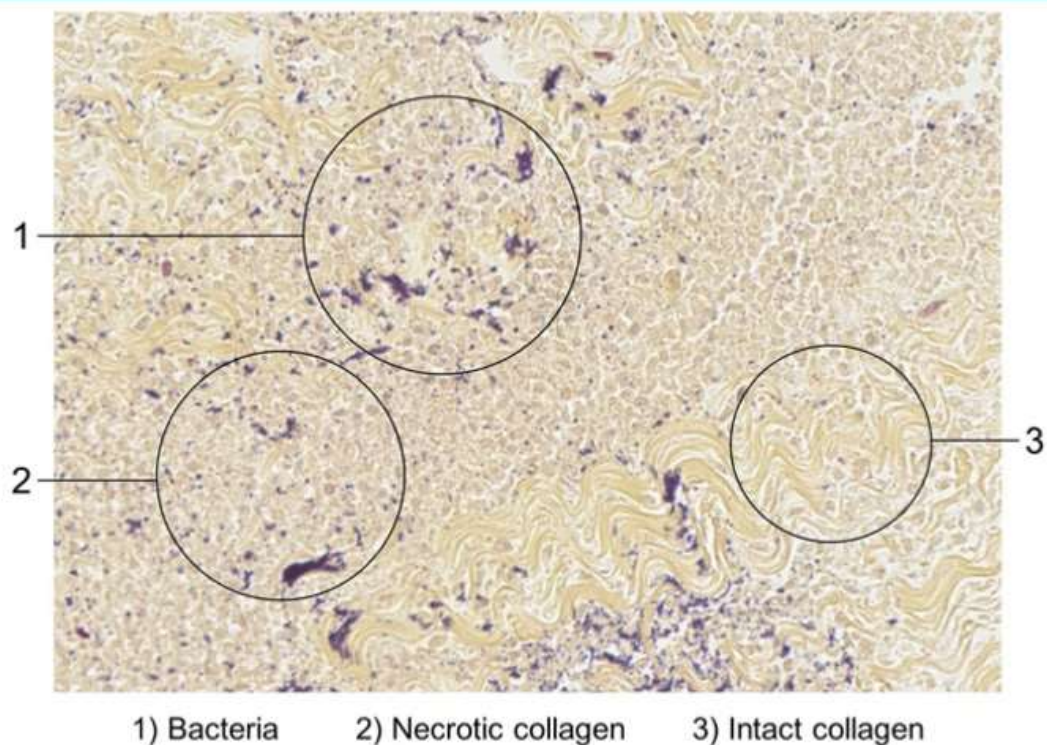


Figure 6: NSTIの凍結標本

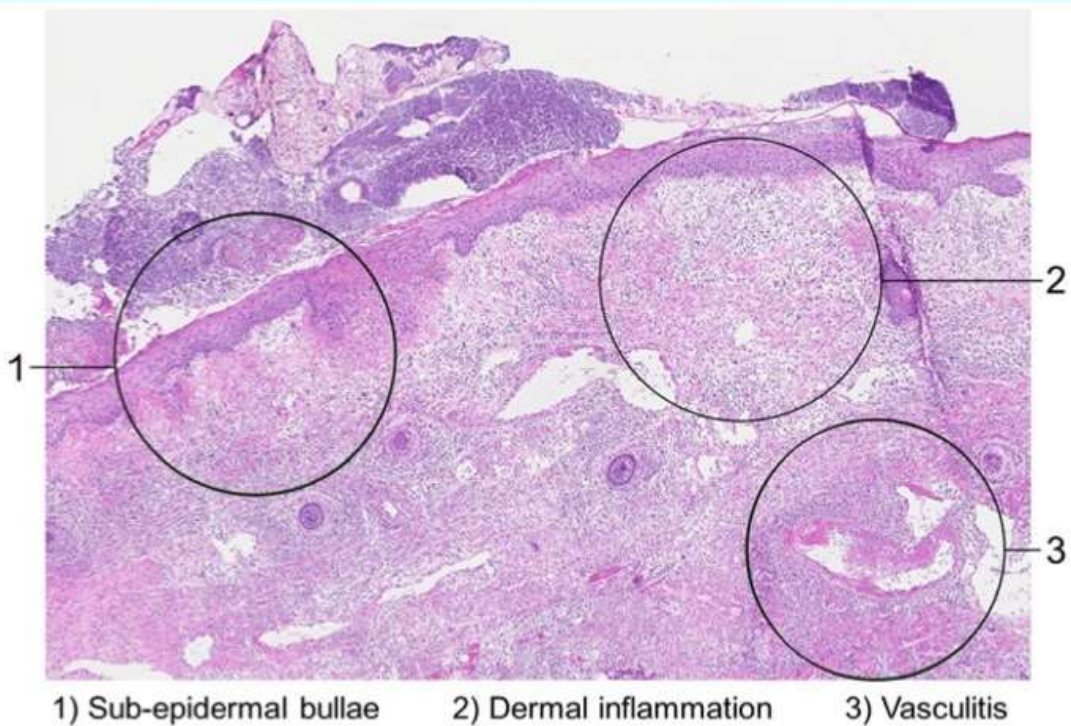
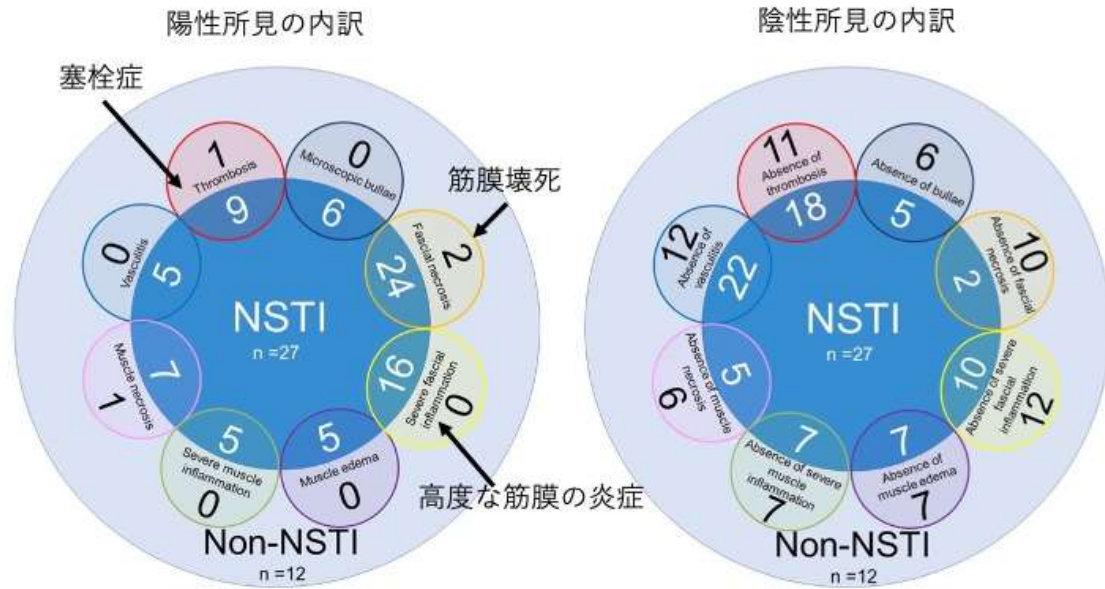


Figure 7: NSTIの組織学所見の内訳



NSTIは筋膜壊死、筋膜の高度な炎症、認める率が高い。

NSTIは静脈炎、塞栓症の所見を欠くことが多い

Table 1

Table 1 Histopathological characteristics of incisional biopsies taken from patients with suspected necrotizing soft tissue infections

| Tissue layer | NSTI (n = 27) | Non-NSTI (n = 12) | p value |
|---------------------------------------|---------------|-------------------|-------------------------------|
| Epidermis (n = 17) | | | |
| No abnormalities | 4/11 | 5/6 | 0.131 ^a |
| Bullae | 6/11 | 0/6 | 0.043^a |
| Necrosis | 1/11 | 1/6 | 1.000 ^a |
| Dermis (n = 17) | | | |
| No abnormalities | 2/11 | 1/6 | 1.000 ^a |
| Edema | 8/11 | 5/6 | 1.000 ^a |
| Acute inflammation | | | 1.000 ^b |
| Mild | 1/11 | 3/6 | |
| Moderate | 1/11 | 1/6 | |
| Severe | 3/11 | 0/6 | |
| Necrosis | 1/11 | 0/6 | 1.000 ^a |
| Subcutaneous fat (n = 37) | | | |
| Inflammation (regardless of severity) | 18/26 | 7/11 | 1.000 ^a |
| Necrosis | 20/26 | 5/11 | 0.122 ^a |
| Fascia (n = 38)^a | | | |
| No abnormalities | 0/26 | 3/12 | 0.026^a |
| Edema | 13/26 | 8/12 | 0.486 ^a |
| Acute inflammation | | | < 0.001^a |
| Mild | 1/26 | 5/12 | |
| Moderate | 6/26 | 2/12 | |
| Severe | 16/26 | 0/12 | |
| Necrosis | 24/26 | 2/12 ^a | < 0.001^a |
| Muscle (n = 19) | | | |
| No abnormalities | 0/12 | 3/7 | 0.036^a |
| Edema | 5/12 | 0/7 | 0.106 ^a |
| Acute inflammation | | | 0.166 ^b |
| Mild | 1/12 | 3/7 | |
| Moderate | 1/12 | 0/7 | |
| Severe | 5/12 | 0/7 | |
| Necrosis | 7/12 | 1/7 | 0.147 ^a |
| Vessels (n = 39) | | | |
| Thrombosis | 9/27 | 1/12 | 0.131 ^a |
| Vasculitis | 5/27 | 0/12 | 0.299 ^a |

NSTI = Necrotizing Soft Tissue Infection; ^a Not enough fascia to assess (n = 1); ^b hypothesized to be caused due to systemic (micro)vascular disease in patient with adverse drug reaction with cutaneous eosinophilia and early abscess formation in patient with cellulitis; ^c Fisher exact test used; ^d X² for trend used. Values in bold denote statistically significant result

NSTIは水疱形成の頻度が有意に高い

NSTIは筋膜に異常がないことがない

NSTIは高度な炎症や壊死が多い

NSTIは筋組織に異常がないことがない

Table 2

Table 2 Histopathological discrepancy between frozen sections and formalin-fixed paraffin-embedded samples from patients with suspected necrotizing soft tissue infections

| Reason for discrepancy | n = 13 |
|---|--------|
| Inflammation less severe in frozen section | 5 |
| No thrombi in frozen section | 4 |
| Inflammation more severe in frozen section | 1 |
| Inflammation less severe in frozen section AND no muscle necrosis in frozen section | 1 |
| Inflammation less severe in frozen section AND no thrombi in frozen section | 1 |
| No fascial necrosis in frozen section AND no vasculitis in frozen section | 1 |

NSTI疑い症例の凍結切片とホルマリン固定パラフィン包埋標本との不一致 (N=13) の理由

| | |
|------------------------|-------|
| 1. 凍結切片で炎症が少なかった | 5/13例 |
| 2. 凍結切片で塞栓子を認めなかった | 4/13例 |
| 3. 凍結切片のほうが炎症が高度であった | 1/13例 |
| 4. 凍結切片で炎症が軽微で、筋壊死がない | 1/13例 |
| 5. 凍結切片で炎症が軽微で、血栓がない | 1/13例 |
| 6. 凍結切片で筋膜壊死がなく、血管炎がない | 1/13例 |

Table 3

Table 3 Major and minor histopathological criteria for diagnosing necrotizing soft tissue infections in patients undergoing triple diagnostics

Major histopathological criteria

Bullae

Severe fascia inflammation

Fascial necrosis

Minor histopathological criteria

Muscle edema

Severe muscle inflammation

Muscle necrosis

Capillary thrombosis

Vasculitis

Table 4

Table 4 Key points for using frozen sections for diagnosing necrotizing soft tissue infections

Key points

Obtain full-thickness (epidermis to muscle) incisional biopsy; in contrast to the biopsy for microbiological evaluation, which must consist of only the fascia.

Report from which location, in relation to the infection, the incisional biopsy was taken

Only order frozen section assessment if results will have acute consequences for treatment strategy (e.g. not if evident macroscopic fascial necrosis is seen, patient will undergo amputation regardless of results, patient is deceased). Otherwise, order histopathologic assessment as standard formalin fixed paraffin embedded sample

Be aware of possible loss of subcutaneous fat during processing of frozen section

Use frozen sections as part of the triple diagnostic principle, not as independent test. Frozen sections make the diagnosis more or less likely, but do not diagnose the necrotizing soft tissue infection

1. 全層（表皮から筋肉まで）の切開生検を行う
2. 感染巣の位置関係を報告する。
3. 凍結切片での評価は、緊急の場合のみ指示する
4. 通常時は、標準的なホルマリン固定パラフィン包埋標本として診断を行う。
5. 凍結切片の処理中に皮下脂肪が失われる可能性に注意する。
6. 凍結切片は、**the triple diagnostic principle**の一部として使用する。
7. 凍結切片での評価は確定診断ではない。

Table 5

Table 5 Literature overview of histopathological findings for diagnosing necrotizing soft tissue infections

| Authors | Most important histopathological finding |
|-------------------------|---|
| Stamenkovic et al. [11] | Intact superficial dermis and epidermis Within superficial fascia, deep dermis and surrounding adipose tissue: Necrosis Polymorphonuclear infiltration Microorganisms Vasculitis Thrombosis |
| Stegeman et al. [10] | Whole microscopic view filled with granulocytes in the subcutis and fascia |
| Solomon et al. [13] | More severe inflammation More extensive necrosis Presence of bacteria Presence of karyorrhexis Presence of fibrine |