

**Report**  
**on**  
**Bacteriological Inspections**  
**(1986)**

**SEN SATO**  
**Working for**  
**the**  
**TRIBHUVAN UNIVERSITY**  
**TEACHING HOSPITAL**

**As a member of Japan Overseas Cooperation Volunteers**  
**(J. O. C. V.)**  
**In NEPAL**

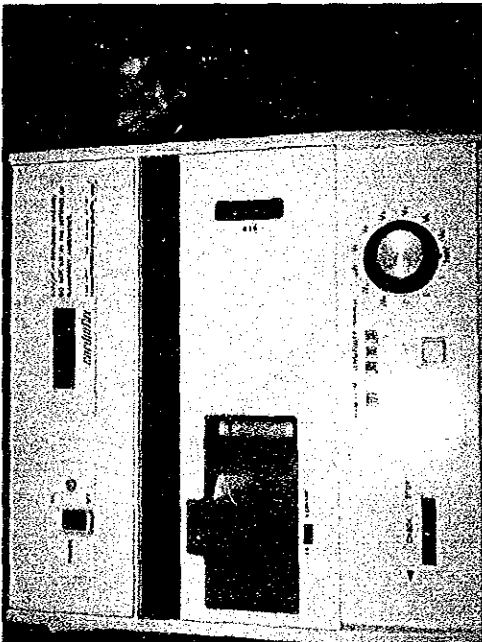
## TABLE OF CONTENTS

- I. Introduction
  
- II. The first bacteriological inspection
  - A. A list of postoperative infections
  - B. Inspection report on sterility of O.T.  
by the Reseach Lab. T.U.T.H.
  - C. Cultural report of different areas of O.T.  
by the Research Lab. T.U.T.H.
  
- III. The second bacteriological inspection
  - A. The method by Mr. S.K.Rai
  - B. Date and map for the places where the inspection was excuted
  - C. Microbial study of O.T.  
by the Research Lab. T.U.T.H.
  
- IV. Conclusions and suggestions
  - A. Intial
    - a. Concerning the air-conditioning filters
    - b. Concerning the blackboards
  - B. Final
    - a. Concerning the use of mops instead of brooms
    - b. Concerning the thorough washing and scrubing of hands and fingers
      - 1. Disinfectant
      - 2. Scrubing time
    - c. Concerning preoperative preparation
      - 1. Changing the time for the disinfectants, their containers and the acattal forceps in these containers
      - 2. Correcting the time for cleaning of the O.T.
      - 3. Carrying out the two previous points
  
- V. Closing remarks

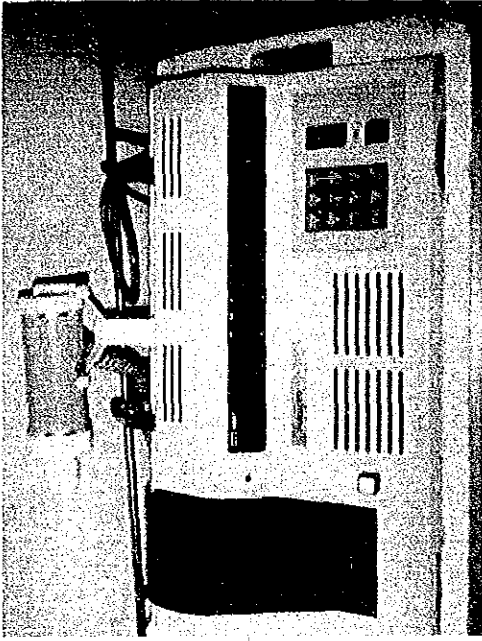
C. MICROBAIL STUDY OF OPERATION THEATRE OF TU TEACHING HOSPITAL

<u>No.</u>	<u>Source of sample.</u>	<u>No of colonies</u>	<u>Microbial isolates.</u>
1.	Hand scrubing room fl. swab;	45	Bacillus spp.+S.epidermidist+ Moraxella spp.
2.	do wall swab;	3	S.epidermidis.
3.	do basin swab;	5	S. epidermidis.
4.	do scrubing brush;	-	
5.	do water tap swab;	50	Pseudomonas spp.
6.	do scrubed hand swab;	44	S. epidermidis.
7.	Operation theatre floor swb;	50	Bacillus spp.+S.epidermidist+ Klebsiella spp.
8.	do wall swab;	4	Pseudomonas spp.
9.	do operating table swb;	50	Bacillus spp.+S. aureust+ Klebsiella spp.
10.	do anaesthesia tbl swb;	50	Bacillus spp+S.aureus.
11.	do OT lamp swab;	30	Bacillus spp+S.epidermidist+ Moraxella spp.
12.	do fixed rack swab;	50	Bacillus spp+S.epidermidis.
13.	Instrument swab (sterile);	-	
14.	Trolley with sterile instr.;	50	Bacillus spp+S.epidermidist+ Klebsicillaspp.
15.	Clean room floor swab;	50	do
16.	do rack swab;	28	Bacillus spp+S.epidermidis.
17.	Door handle swab ..	6	S. aureus
18.	Recovery room floor swab	50	Bacillus spp+S.epidermidist+ Moraxella spp.
19.	do wall swab	-	
20.	do blanket/bed swab	50	Bacillus spp+S.epidermidist+ Moraxella spp.
21.	do instrument swab	-	
22.	Partition door(clean/semicln) swab from inner side	50	Bacillus spp+S.epidermidist+ Moraxella spp.
23.	Partition door, from outer side	50	do
24.	Dress changing room(male) flr	50	do
25.	do dress	40	S.epidermidis+Moraxella spp.
26.	do (female) floor	50	Bacillus spp+s.epidermidis.
27.	do dress	30	do
28.	Main entrance flr near red line	50	Bacillus spp+S.epidermidist+ Moraxella spp.

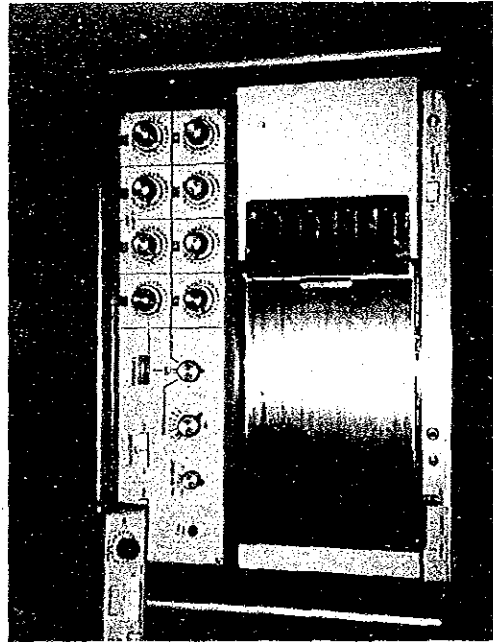




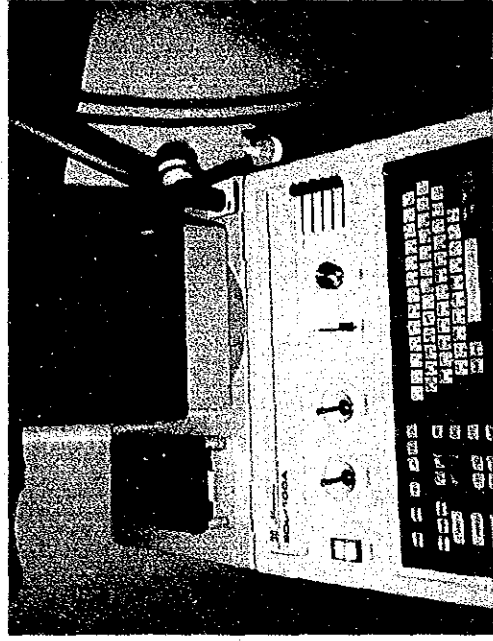
心電図計



肺機能計



脳波計



超音波計



## Procedure of cultivation of Chlamydia in HeLa 229 cell culture system .

### 1. Preparation of cell culture

Original HeLa 229 cell (brought with Mr.SUMI from Hyogo College of Med.in 1987.4.) in a form of monolayer culture in a culture bottle filled with MEM.

Discard  
medium

Discard  
PBS

← Rinse the monolayer with  
PBS, (once).

← Add 1ml of trypsin solution  
(trypsin 0.25%, EDTA 0.02%)  
to cover all surface of the  
monolayer in the culture  
bottle and let the cells deta-  
ch by incubating at room temp-  
erature for 3 ~ 4 minutes with  
gentle shaking .  
Detached cells will be evenly  
dispersed or sometimes, flocc-  
ulent in the trypsin solution.  
Repeat trypsinization if  
necessary whenever cell-detach  
is incomplete .

← Add 1 ~ 2 ml of MEM to  
terminate trypsinization

Take small aliquot of cell suspension and mix  
with equal volume of Trypan Blue solution .

↓

Calculate viable cell population (stained blue) per ml on 'Fucks-Rosental cell counter'

↙

Preservation of the cells by successive subculturing. Adjust cell population to  $1 \times 10^6$  / ml with fresh MEM and cultivate as monolayer in petri dish or culture bottle. For cell preservation in liquid  $N_2$  will be discussed, if necessary.

↘

Subculture for Chlamydia inoculation.

## 2. Adjusting viable cell population with haemocytometer (Following are the three alterations)

Ex 1. Preparation  $5 \times 10^5$  cell/ml. cell suspension. if 82 cells are counted in 4 square (4mm) of the counter, then cell population per ml (or  $Cm^2$ ) is to be calculated like following calculation  $82/4 \times (10^3 \times 5) \times 10 \times 2 = 82/4 \times 10^5 = 2 \times 10^6$  /ml. If required to prepare 10ml of  $5 \times 10^5$  cell/ml.

Calculation are,

$$5 \times 10^5 \times 10 \text{ml} / 2 \times 10^6 = 5/2 = 2.5,$$

Thus, 7.5ml of MEM should be added to 2.5ml of  $2 \times 10^6$  cell/ml cell suspension, which will give 10ml of  $5 \times 10^5$  cell/ml cell suspension.

Ex 2. Suspension of cell population,  $2 \times 10^5$  cell/ml be prepared, whenever 'Biken's method' (explained if required) will be applied.

Ex 3. Direct method (our method)

Dilute trypsinized cells immediately with MEM  $10^4$  times to make  $5 \times 10^5$  cells/ml suspension.

→ continued to 3.



3. Preparation of 'cover slip' culture  
(Chlamydial antigen). and inoculation of  
clinical specimens.

Add cell suspension (prepared after preceding paragraph) 1ml each to vials, tubes or wells of 'multi-dish' in which cover-slips (13mm in diameter) are placed.

Incubate at 37 °C for over night under 5% CO<sub>2</sub>  
( use CO<sub>2</sub>-chamber).

Before inoculating specimens, examine whether cells are growing evenly to form good monolayer, and the cells must be used (inoculated) within 24 hours.

Discard  
medium ←←

←← Rinse the cell monolayer with  
PBS ( once ).

Discard  
PBS ←←

←← Add 1ml of DEAE dextran solution to each vials or wells and let them stand still for 30 minutes at room temperature.  
This treatment will make electric charge on the cell positive so that adsorption of specimen will enhance.

Discard ←←

DEAE solution and check whether monolayer kept intact without any remarkable detaching.

No 1-4

↓  
← Add 1.0 ml of SPG each  
to the pretreated vial  
or wells.

↓  
Centrifuge vials or wells at 2.200 rpm(900G)  
for 60 min.  
( or, alternatively, let them stand still for  
2 ~ 4 days at 37 °C under 5% CO<sub>2</sub> )

↓  
After centrifugation ,leave the vials orwells  
stand still for 60 min at 37 °C under 5% CO<sub>2</sub>

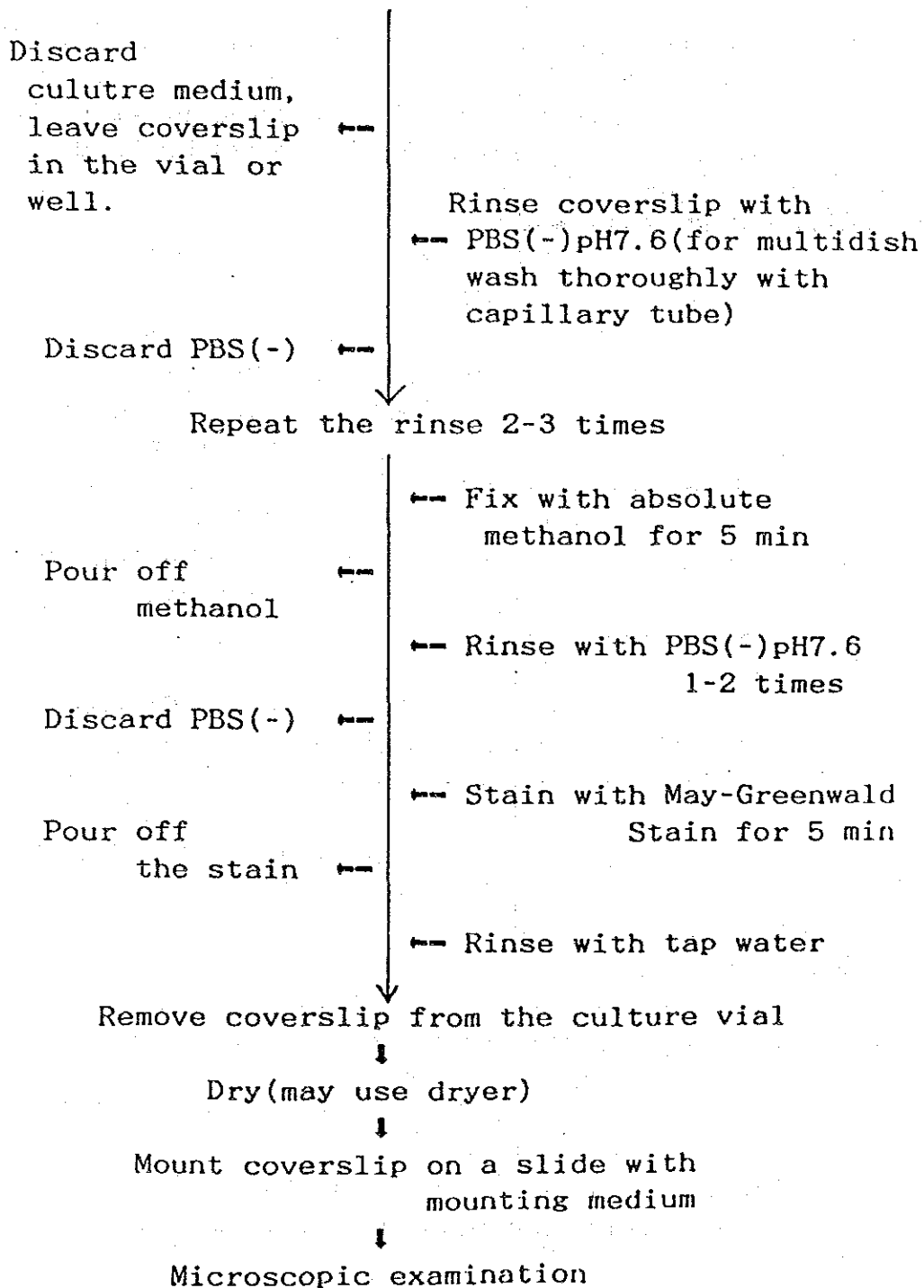
Discard ←  
SPG

↓  
← Add 1ml of MEM 2  
(for propagation, of cells)

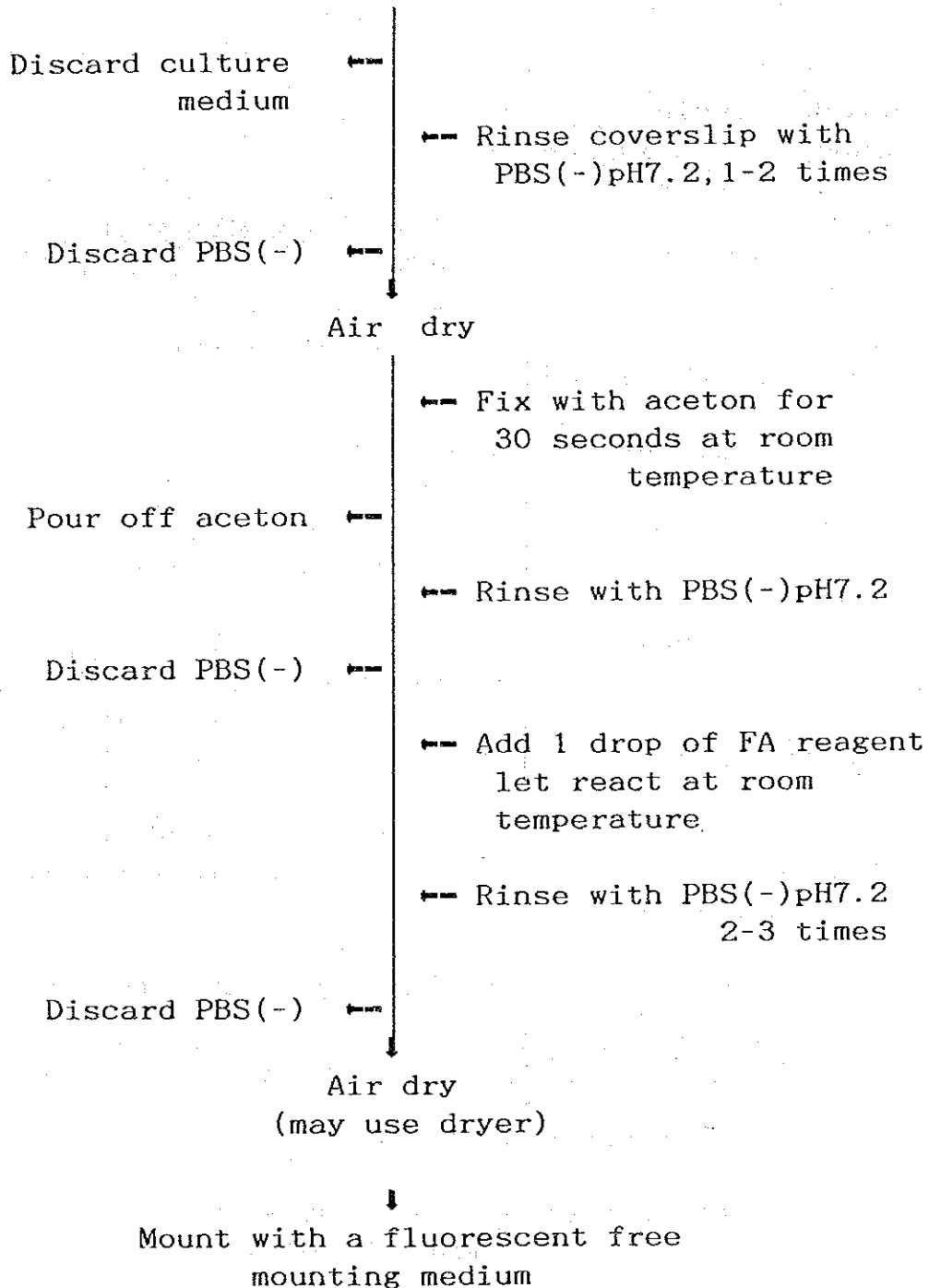
↓  
Incubate at 37 °C for 48 ~ 72 hours under 5% CO<sub>2</sub>

↓  
Examine chlamydial antigen or inclusion in the  
cell by staining ( should be within 4 days ).

## 4. Procedure for Giemsa staining



5. FA(fluorescent antibody) technique



## II R E A G E N T S

1. SPG(sucrose-phosphate-glutamate medium)  
Dispense 1ml each in tubes for strage at 4 °C.

Sucrose	7.5	grams
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.052	grams
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.122	grams
Sodium glutamate	0.072	grams

Dissolve above in DW(distilled water)to make up final 100ml.pH must be adjusted to 7.4-7.6.  
Upon use ,add mixture of antibiotics which has been sterilized by microfiltration and stored at 4 °C

2. Medium for HeLa cell culture ,pH7.4  
( stock solution).

① MEM(Nissui)powder  
4.7 grams/DW 500ml  
autoclaved(121 °C, 15min).....200ml

② NaHCO<sub>3</sub>(sodium bicarbonate) 7 w/v %  
(\* Meylon " :Otsuka pharm, Co.Ltd.).....14ml

③ L-Glutamin (Wako Co.Ltd.)  
2.92 grams/DW 100ml ..... 2.0ml

② and ③ sterilized by filtration.

- ④ FBS(fetal bovine serum) GIBCO.  
Add to make up final 8 % .....16.0ml
- ⑤ Antibiotic solution(mixture of three drugs)
- ⑥ 2 % Phenolred solution :  
Add 1-2ml to 200ml of MEM

To Prepare working medium ,

- ① Add 2ml of filtered glutamate to 200ml  
of autoclaved MEM .
- ② Add filtered antibiotics mixture  
and phenolred solution to ①
- ③ Then, add 14ml of  $\text{NaHCO}_3$  solution to above  
and adjust pH to pH7.4 with sterilized  
1N HCl.

### 3. Medium for chlamydia propagation

To HeLa cell culture medium 200 ml,  
add

- ① Glucose solution ;  
5.94 grams/DW 100ml ..... 2.0ml
  - ② Cycloheximid (5gram-vial, Lot 54F-0080, Sigma)  
0.01 grams/DW 100ml ..... 2.0ml
- ( ① and ② must be sterilized by filtration)

### 4. Antibiotics

① Streptomycin (Meiji, 1 gram unit/vial),  
dissolve 1 vial with DW 5ml (200mg/ml),  
then dilute 4 times with DW to make  
up 50mg/ml solution (add DW 10ml to  
2.5ml of 200ml solution) .....2.0ml

② Vancomycin (Sigma, V-2002 Lot.  
24F-0432, 1014µg/mg)  
Dissolve to make 10mg/DW 1.0ml .....2.0ml

③ Nystatin (Sigma N-3503 Lot.  
24F-0093, 5420usp/mg)  
25usp/ml → 5ml/10ml .....2.0ml

Mix 2ml each of ①, ②, ③ and sterilize by  
filtration. From this drug mixture take  
2ml and add to 200ml of chlamydial culture  
medium (3).

## 5. Trypsin ( 0.5 % stock solutions )

1. Dissolve 0.5 grams of trypsin ( Difco 1 : 250 ) in 100 ml of PBS(-) .
2. Adjust pH to 7.2 - 7.4 with 7 %  $\text{NaHCO}_3$  (MEYLON). Phenol red may be used as approximate pH indicator .
3. Centrifuge at 3000 rpm ( 1000G ), 10 min , 4 °C to remove undissolved trypsin .
4. Sterilize by passing through Millipore-filter.  
Store in freezer.
5. Upon use of trypsin, dilute the above stock solution 1 : 10 (0.05 %) in PBS ( - ).  
Add a few drops of 7 %  $\text{NaHCO}_3$  per 100 ml of 0.05% trypsin solution to hold pH above 7.2—7.4 during trypsinization.  
This trypsin solution can be stored for a few weeks at 4 °C .

## 6. DEAE - dextran stock solution (1%)

Dissolve 1 gram of DEAE-dextran (PHARMACIA) in 100 ml of distilled water and sterilized by autoclaving (121 °C ,15 min) . Working solution ( 30  $\mu\text{g/ml}$ ) is prepared by diluting 0.3 ml of the stock solution in 99.7 ml of PBS ( + ) or Hanks' BSS ( total 100 ml) .  
One ml of the working solution is to be added to cell monolayer for pretreatment .

7. PBS ( - ) ( Phosphate buffer solution without  $\text{Mg}^{++}$  or  $\text{Ca}^{++}$  )

1. pH 7.5 ~ 7.6

NaCl .....	8.0	grams
KCl.....	1.2	grams
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ .....	2.9	grams
( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .....	1.16	grams)
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ .....	0.2	grams

Dissolve in DW to make up 100 ml .  
Sterilize by microfiltration .



## 2. pH 7.2 ~ 7.3

NaCl .....	8.0	grams
KCl.....	0.2	grams
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 12H <sub>2</sub> O.....	5.0	grams
(Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....)	2.0	grams)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0.4	grams

Dissolve in DW to make up 100 ml .

Sterilize by microfiltration .

## 8. List of the stains and related reagents

1. May-Greenwald's solution , modified  
( Art 1424 , 500 ml , MERCK)
2. Giemsa's solution ( Art 9204 , 500 ml , MERCK)
3. Fluorescent antibody ( monoclonal ) .  
Chlamydia trachomatis culture confirmation test .  
( 3.0 ml , Microtrack , DAISHIBA)
4. Mounting solution ( Fluorescence free glycerin )  
( Art 4095 , 250 ml , MERCK)

## 業 務 報 告 書

氏 名 青 山 和 枝  
指 導 科 目 ウイルス研究検査学及びウイルス診断にともなう免疫血清学  
現 住 所 大阪府豊中市庄内西町 4 丁目 16-13  
通 信 連 絡 先 兵庫医科大学・細菌学教室  
勤務機関名および住所 兵庫医科大学・細菌学教室 西宮市武庫川町 1-1

ネパール王国 ドリブバン大学医学教育プロジェクトに基づく指導

派遣期間 昭和62年5月19日より同年6月14日まで27日間

### <目 的>

Tribhvan Univ. Teaching Hospital と兵庫医科大学との合意にもとづくウイルス研究検査室の設営およびそれに伴う技術の導入。

- 1) ウイルス研究検査室の設営。
- 2) 必要な機器類の搬入及び使用方法等の指導、設営。
- 3) 必要な機材の搬入及び使用方法等の指導、設営。
- 4) 研究室、検査室運営のための技術指導。
- 5) ウイルス検査学の指導
- 6) ウイルス学的診断にともなう免疫血清学の指導。

### <現 状>

- 1) Virology Laboratory となるべき室が確保されていた。
- 2) 前回までの担当者(カウンターパート)がすべて変わっていたので、試薬類のキットが未使用のまま、期限切れとなっていた。
- 3) 今回のカウンターパートは専属で決まっていた。
- 4) 前回までの技術導入に伴う機械類が設置されていた。
- 5) 部屋は確保されていたが、このまま研究室、検査室として使用するのには、スペース的にも設備的にも無理がある。(図を参照)

<今回の技術移転に関して>

担当者；ネパール側（Tribhvan Univ. Teaching Hospital）

Senior Staff

Mr. Daflin Sada	Hematology
Mr. N. R. Tuladhar	Bacteriology
Mr. J. K. Sherchan	Histopathology
◎Mr. Shiva K. Rai	Serology & Virology
◎Mr. Chinta Mani Sharma	Virology, Emergency
Mr. S. S. Malla	Biochemistry
Mr. Bharat Jha	Biochemistry

Junior Staff

◎Mr. R. K. Bhandari	Virology & Serology
Mrs. Saraswati	Bacteriology
Mr. Jaya Bind	Hematology
Mr. Sri Ram	Histopathology

Lab. boy

◎Mr. Raju Thapa	Virology
-----------------	----------

日本側（兵庫医科大学）

住 勝 美（中央臨床検査部）	Bacteriology
柴 田 宏（中央臨床検査部）	Serology
青 山 和 枝（細菌学教室）	Virology

◎印が今回、Virologyの直接のカウンターパートである。

Virologyの担当者について

Mr. Shiva RaiとMr. R. K. Bhandariが兼任となっていたため、指導の途中で席をはずすことが多く、2度手間になることもあり、非常にやりにくかった。次回からは、ぜひ専任の担当者のみに対する指導が望ましい。

<業務内容—I；設営等に関して>

1. 今回搬入した機器類 clean room

i) 炭酸ガス培養器

a water jacketのためのcleanな水40ℓの確保に苦労した。

b 1日の温度差が大きいためと、感染防止のため部屋を締め切ったため、室温の変化が大きく、培養器内の温度の調節（37℃に維持）が難しい。

ii) 組織培養用倒立顕微鏡

できれば前室を作り、そこに設置した方が良い。

iii) クリーンベンチ (機種の選択にまちがい。Microbiology用では無い。)

a 殺菌灯の取り付け。

b コンデンサー部分が輸送中に破損、メンテナンスの人に修理してもらう。梱包に問題あり。

c ファンを使うと問題があるので、使わないように指導。

iv) オートピペッター

予算の関係で、安いピペットにしたため、1 mlのメスピペットのサイズが小さすぎ使えず、ウイルス液、血清を口で吸うことになり、非常に危険であった。

v) ハンディ・アスピレーター

アダプターを付け、時々滅菌洗滌するように指導。

vi) 培養用ろ過滅菌システム

a 洗滌方法が難しい。cleanな水の確保の困難なネパールでは不向き。

b シンプルな仕様のものが望ましい。

vii) water bath (恒温槽)

a working tableの様な実験台が少ないため、不便。

b cleanな水の確保が難しい。

2. 今回搬入した機器類 洗滌、準備室

i) オートクレーブ

a Drainのところがゴムホース(非常に固い)のため、危険。

b 安全弁のゴムキャップが通常使用圧力以下で飛ぶので、困った。予備が無いので至急取り寄せる手配をする。

c 電気容量が大きいため、コンセントトラブルがあり、何度も交換してもらう。

ii) incubator

a 遅れて来たため、設置場所に苦労する。仮設のまま置いてくる。

b デジタル表示、その他機能が多過ぎるため、使用説明に時間がかかる。

iii) 乾熱滅菌器

a 輸送中のショックのためか、戸が曲がってしまい、閉りにくい。180℃で使用、勝手に戸が開くので危険。

b incubatorと同様、多機能のため、使用方法をmasterさせるのに時間がかかり、不安が残った。

iv) オルガリ純水装置

水道水がきたなすぎるので、最初の目的のためには使用不可。試薬、Medium、Buffer 調製用の水の作成に用いる。

V) ドライニングシェルフ (乾燥棚)

- a 機械類が多いため、設置場所に苦勞する。
- b 乾期のためか、ほこりが多いので、ガラス器具等洗滌後は、すぐに収納棚にしまう様、指導する。

VI) ピペット洗滌槽、ガラス器具等洗滌槽

同様に clean water 不足のため、洗剤無しで洗うか、通常より濃度の薄い洗剤液を用いる。

VII) スターラー

1台では不足、小型で良いからもう1台必要。

VIII) 超音波洗滌器 (細胞破碎用)

スターラーと共に、実験台のスペース不足のため、作業がしにくい。低温処理が必要だが、氷が少ない。

IX) 上皿天秤、手洗用洗面器、キャリアー、デシケーター、蒸留水用ポリタンク (20ℓ)、脱イオン水用ポリタンク (10ℓ)

3. 今回搬入した機材類 実験室兼セミナー室

他の2つの部屋と離れているので、機器類の設置はしなかった。予備のフィルター類等の保管ボックスを置く。

4. 今回新しくネパール側に要請して設置してもらった設備等

i) clean room

- a working table 1つ、丸イス2つ
- b 棚 (オープンラック; 滅菌済み培養器具収納用) 1つ
- c 殺菌灯5つと全体のスイッチ (2つは点灯せず)
- d サイドテーブルを要求したが、とうとうこなかった。
- e 換気扇とカーテンをはずし、窓を閉め切る。

ii) 洗滌、準備室

- a イス2つ (丸イスがもう2~3コ必要)
- b Drinking Water 用フィルター (40ℓ用)  
これは、帰国する1週間ぐらい前にやっと来た。
- c ハンガーは、とうとう来なかった。

iii) 実験、セミナー室

- a 冷蔵庫; とうとうこなかった。

5. 前回までの搬入機器について

i) Deep freezer (洗浄、準備室)

- a スタビライザーが設置されていない。非常に危険、ブレーカーが飛ぶのは時間の問題か。
- b freezing container が使用されず、山積みになっていたのを、ラベルを付けて、中の物を整理する。
- c スtock・リストを作り、内容、日付を記入するよう指導する。

ii) 冷蔵庫(洗浄、準備室) → これはTUTH側が提供したもの。

- a 期限切れの試薬類の整理。
- b 中を清掃する。
- c Deep freezer と同様にストック・リストを作る。

iii) 遠心器

洗浄、準備室に移動。

iv) 湯沸器については、夏場のためと、水道水が器具洗浄にはきたなすぎるため使用せず。

v) 低温高速遠心機

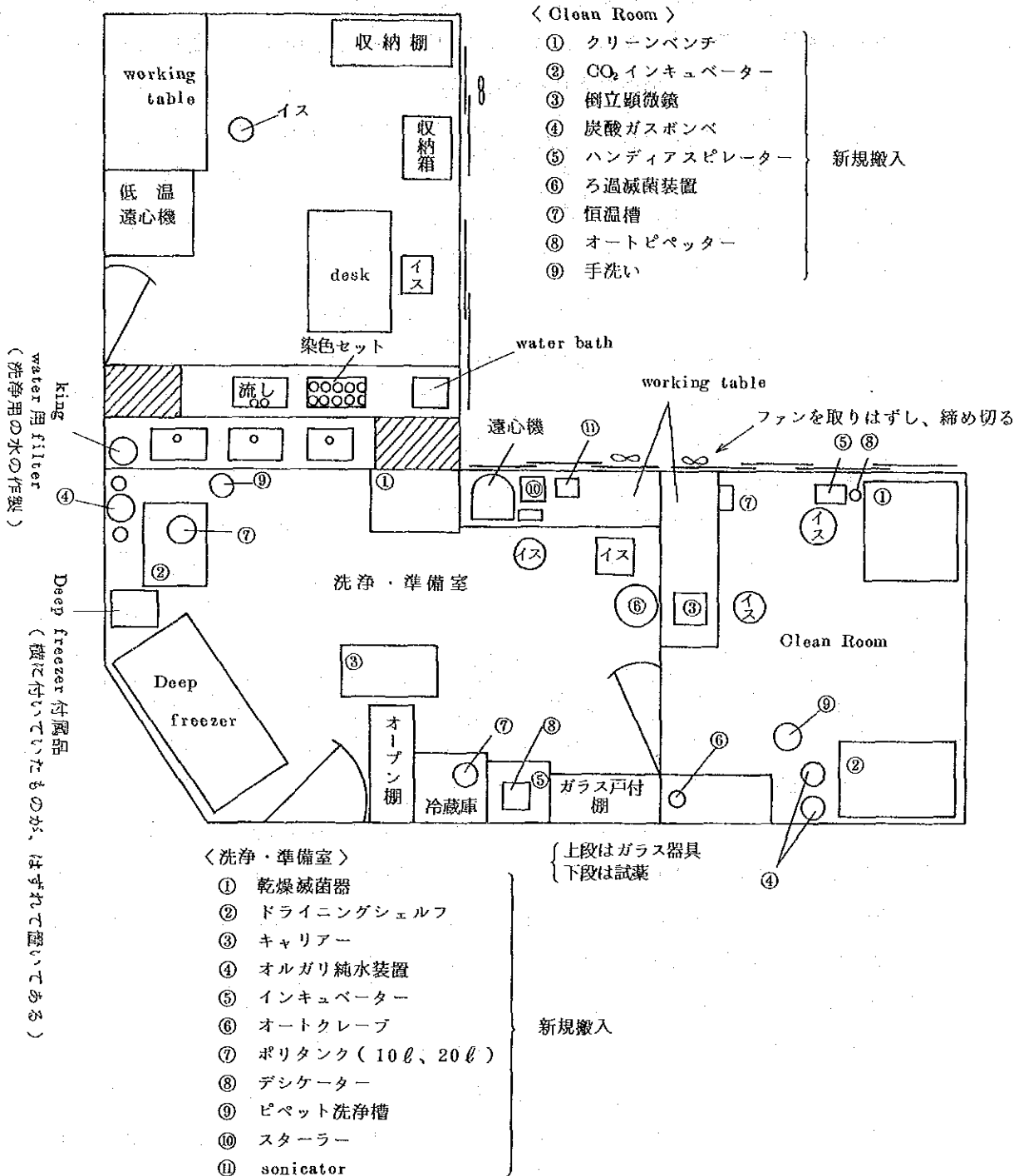
クラミジア培養用 tube が使えるアダプターが無かったので(予算の都合で調達せず)、あまり使用せず。

6. ネパール側が調達してくれた機材等

- i) 換気扇が各部屋に設置されていた。
- ii) 上記の冷蔵庫
- iii) working table
- iv) イス(肘付2つ、丸イス4つ)
- v) 棚(ガラス戸付2つ、オープン型1つ)

新しい機械類を始動するたびに、コンセントの付け替えが必要であり、手間であった。

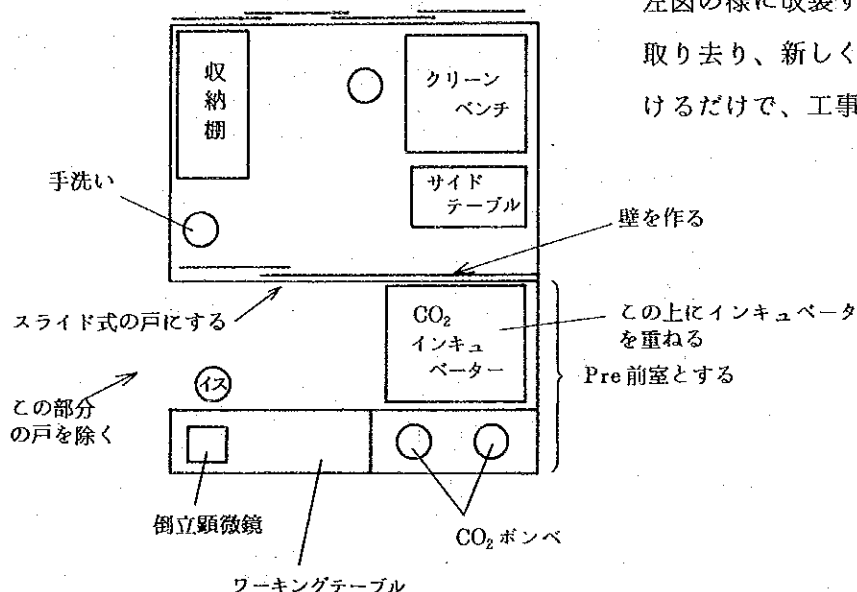
7. Virus Laboratoryの見取図



## 8. 今後の要望と課題

### i) clean room について

本来の無菌室とは、外からの微生物の混入を防ぐとともに、中で取り扱う微生物が、外部にもれるのを防ぐ目的のものである。よって、戸の開閉、人の出入、動きが問題となる。戸はスライド式が望ましく、前室があれば問題は無い。



左図の様に改装すると、本来の戸を取り去り、新しく簡単な壁を取り付けるだけで、工事が終わる。

※ 現在殺菌灯を5つ取り付けしたが、2つが故障で点灯しない。maintenanceの人の仕事が多すぎて、なかなか手が回らないらしい。

### ii) 洗浄、準備室について

水については、まとめて後述したいが、目的に応じた clean な水が十分に得られない限り、まともな実験も研究も不可能である。帰国の1週間前にやっと Drinking Water 用のフィルターが届き (Dean が、virus lab に来たとき、直接お願いした結果)、ピペットの洗浄、ガラス器具等の洗浄ができるようになった。

#### Clean Water System

- Drinking Water → オルガノ・プレフィルター 器具洗浄用の水
- Distilled Water 洗浄器具の最終のゆすぎ
- Distilled Water → カーボンフィルター → 脱イオン樹脂 試薬、Buffer、Medium 用

今回は時間的ゆとりが無かったので、必要に応じ、その都度水の作製を行なったが、非常に手間と時間がかかった。流し部分に棚を作り、システムとして設置するのが望ましい。

Mr. Rai の話しでは、必ず作ってくれるとのことだった。



### iii) 実験、セミナー室について

Deskが真中に陣取り、仕事がしにくかったが、機器類の配置に関して、こちらの意向を強引に押し通したので、Deskについては目をつぶることにした。収納棚がいつも施錠されており、不便であった。Deskの代わりにサイドテーブルがあれば、仕事の効率も上がると思うが。

この部屋の機能として、中途半端である。時間が無くこちらまで手が回らなかったが、セミナー室的な用途に使える様考えていきたい。

全体として、実験室用に作られた部屋ではないので、機能的に無理がある。部屋のスペースの割には機械類が多く、実験台が各部屋に1つ(サイドテーブルのようなもの)しか無い。TUTTH側に要請しても(新規ということもあり、要請項目が多かったためか)、なかなか手に入らなかった。できれば、機能的に部屋の改装をするのが望ましい。大型機械類の設置場所についても考えて行きたい。→中央化

### <業務内容Ⅱ；技術指導内容>

#### 1. 準備、後始末等に関して

実験器具等の洗浄、収納、滅菌方法の指導。

#### 2. 無菌操作、ウイルスの取扱い、他への感染防止等の指導

ウイルス等の病原微生物、血清取扱い後の滅菌方法、他への感染防止、自らの予防等の指導。

#### 3. 試薬類(劇物、要冷蔵品等含む)の保存、収納に関する指導及びリストの作成。

#### 4. ウイルス培養、検査等に必要のMedium、Buffer、染色液の調整

既製品が市販されているが、高価である(20倍ぐらい)ためと、基礎技術を身に付ける目的で、自分達ですべて調達していただけるように、現地で作製した。

○ MEM・Hanks Buffer                      ろ過滅菌後500 mlずつ分注、-40℃凍結保存

○ Trypsin/EDTA液                        ろ過滅菌後100 mlずつ分注、-40℃凍結保存

○ PBS (-) Buffer                         一部オートクレーブで滅菌、4℃保存

○ 7w/v・NaHCO<sub>3</sub> solution               ろ過滅菌後50 mlずつ分注、4℃保存

○ 牛胆児血清(FBS)                      100 mlずつ分注、-40℃凍結保存

○ トリパンブルー液                      薬品棚

○ H-E染色液セット

#### 5. Vero cell、HeLa 229 cellの培養と保存

#### 6. ウイルス(Measles、HSV-1)の培養と保存

#### 7. ウイルス titer の測定

#### 8. ヘマトキシリン-エオジン染色標本の作製

9. 蛍光抗体染色法（直接法）；麻疹ウイルス、HSV-1

10. 中和反応（麻疹ウイルス）

11. クラミジアの培養及びギムザ染色

クラミジアに関しては、機材到着の遅れにより死滅の可能性あり。

※ こまかい指導内容については、業務日誌を参照されたい。

#### <水の問題について>

いざ仕事を始めようとして、一番問題となったのは、水道の蛇口をひねると、真茶色の水しか出てこないということであった。多少の心配はあったが、蒸留装置がしっかり動いているという話だったので、なんとかなるだろうと思っていたが、最後まで水のことでは苦労した。水が無いと仕事にならないのと、機材到着の遅れもあったので、ポンプ室、タンク室を見て回った報告と問題点を次に述べる。

#### 1. 現 状

- 1) 茶色い水で器具、ピペット類の洗浄を行っていた。
- 2) 水道水を1日置くと、底に大量のヘドロ様のものがたまる。
- 3) T U T Hで実際に動いている蒸留装置は、たったの2台であった。
- 4) イオン交換樹脂のスベアがたくさんあったが、すべて乾きかけて変色し、交換してもメーターは上がらなかった。
- 5) 肝腎のプレフィルターのスベアが無く、洗って何度も使っているらしいが、本来は使い捨てのものであるので、ボロボロで変色していた。
- 6) 水道からの配管のホースにドロがたまり、プレフィルターもドロで真茶色であり、わざわざ水をよごしてから蒸留している様なものである。
- 7) 蒸留水をもってきてくれるように頼んでも、断わられるためか、なかなか採りに行かないので、最後には自分で行っていた。
- 8) たった4週間の間でも、何度か故障して、水の全く無い日があった。いったいどうしているのかと思う。
- 9) ヘドロがたまり、水圧が下がったために、温度が80℃近く上がっていたことがあった。
- 10) 私達が行っている間にプレフィルターの洗浄を5、6回は行ったが、Labの technician 達は手を出さない。これはメンテナンスの仕事だそうだ。週に1度は洗うように指導するが、多忙の由。
- 11) 新品の蒸留装置が接続されずに放置されていた。
- 12) やむをえず、私達の携行機材の中のプレフィルターを提供するが、一瞬にして真茶色となった。

## 2. 問題点及び要望

日本の国の様に、水道の蛇口をひねるときれいな水がいつでも約束されている場合のシステムを導入するのではなく、ネパールの現状に合った技術の導入をお願いしたい。そのためには、

- 1) 水に対する意識の低さを高めるよう指導する。
- 2) 機械を導入するのではなく、システムとして導入する。
- 3) ネパールで用いられている方法を利用し、使い捨て、交換による維持ではなく、再生可能の方法を考える。
- 4) 蒸留装置、イオン交換装置について
  - a イオン交換樹脂の再生方法を指導する。
  - b ワンタッチ式の接続では、ホースの洗浄ができない。
  - c 不必要なものを除いたシンプルな機種を選ぶ。
  - d プレフィルタはスポンジか素焼きにする。
- 5) 食堂でも、水の悪さが問題になっていた。
- 6) 水質検査を定期的に行うプロジェクトを作ってほしい。それにより、改善すべき点が具体的になると思う。水質検査といっても、残留塩素（実際に1度行った）、大腸菌検査、BOD、COD、その他有機物で良いと思う。

## 3. ポンプ室、タンク室について

もともと得られる水が汚れているのだから、それを直接供給するのに問題があると思う。中央の設備として、水の浄化システムを作り、メンテナンスの人達の充実を計る必要があると思う。彼らはタンクのそうじから、末端部のプレフィルターの洗浄から、すべてを行っている。

タンク室についても、日本の援助でできたため、すべて日本製であり、部品の調達が難しいとのこと。インド製なら手に入るが、故障の時いつも苦勞しているようだ。2年前に要望したものが、まだ手に入らないので、ぜひなんとかしてほしい。

## 4. 水の給、排水について

### 1) cleanな水の供給

- a 浄化槽を作る。

タンクのフタが開けたままになっていたが、悪性のガスが発生して危険だからだそうだ。

- b 中央に純水装置及び設備を作り、管理する人を配する。

- c すべての Laboratory に小型の純水装置を配備し、各 Lab で責任を持って、Maintenance を行う。

### 2) 排水について

浄化槽が必要。現在は特別な設備が無いとのこと。汚れた水を排水することにより、井戸からの地下水が汚染され、供給される水の汚染につながり、悪循環となっている。

#### <今回の人物評>

virology 担当の Mr. Sharma については専任ということもあり、非常に指導がスムーズに行えた。まじめであり頭も良く、言葉の上で助けられることも多かった。残念なのは、期間が短く、十分な指導が行えたかどうか、心残りな点である。日本から Follow-up していきたい。

Mr. Rai、Mr. Bhandari については、専任でなかったもので、操作途中でいなくなることが多く、同じことを何度も説明したり行なったりで、時間的な無駄があった。最初は、なんとかなると思っていたが、専任でない限り指導は無理である。

Lab boy の Raju も頭が良く、まじめに働くが、細かい注意をしないと、ネパールの常識でかたづけるので、目が離せなかった。

できれば、Mr. Sharma を日本で研修させて、しっかりした基礎知識と技術を身につけ、ネパールで指導に当たっていただきたいと思う。

#### <総合的な問題点>

実際に研究、検査を行う時、基礎となる設備の不充分さにとても驚いた。末端部分で、高価な機械類を取り揃えるだけでなく、水の問題、電気の問題、空調の問題を含めて、設備の充実を計る方向にも、お金をかけていただきたい。

具体的に、

1. 水に関しては前述。
2. 電気に関しては、あまり良くわからないが、日本からの携行機材の中で、すべての電気製品にトランスが付けてあった。無いと使えなくて困るのだが、1つで幾つも共有できるものもあり、スペース的にも金額的にも無駄が多かった。1つの lab ごとに、設備として組み込めないだろうか。
3. 空調のある部屋を作り、精密機械等の保守をはかる。
4. 低温室も、いずれは必要になると思う。
5. 実験器具類について、本来ならガラス製を用い、洗浄して繰り返し用いるのが望ましいが、clean な水の得られない実状では、Disposable の plastic ware を用いるのも仕方がない。しかし、これから日本の援助が無くなった後、高価な plastic ware を使い捨てしていくわけにはいかないと思う。そのためには、水の設備が大切になると思う。
6. インド製試薬は純度が悪く困った。純アルコールで脱水処理するのに、アルコール濃度が低くて手間がかかった。70%の消毒用アルコールを作ったが、火がつかなかった。
7. 実際現地で作業を始めて、必要になった器具、試薬類があるが、そういう帰国後の follow-up のための予算はなんとかならないだろうか。教室からの持出しにも限度があるので、考慮いただきたい。全体からすると、試薬類にかかる金額は小さいと思うが、小さいものでも

無いと、すべてが水の泡となるものもある。

<雑感>

1. JIOAに望むこと

現地です仕事を始めて、予想のできなかったトラブルや問題点が山ほどあるのに気がついた。しかし、それらすべてが本当に予想できなかったのか、ということそうではないと思う。日本での情報不足、特にJIOAからは皆無であった。

派遣期間についても、長ければ良いというものでは無いが、短かければ、有効に使える様協力していただきたい。最後の1日1日は、時間さざみに仕事をかたづける毎日であったが、帰国日が土曜であったため、貴重な半日を使えず困った。

今回我々は初めての派遣であったが、行ってみて初めて解ることが多くあり、情報の交換、必要なものの供給等考えると、同じ人が短期で何度も派遣されるのが望ましいと思う。

2. Bir Hospital 見学について

TUTHでは、我々が行き、技術移転を受けるのが当然のような感があるが、Bir Hospitalでは、質問1つにしても、非常に熱心であり、とても考えさせられた。

3. 輸送中破損した機材類の早期補充をお願いしたい。

4. 教室からの立て替え分の機材、試薬類の返却は確実にしてほしい。

5. 搬入機器のトラブル等について、どういう方法で対処してもらえるのか。どうしても必要なものばかりなので、早くしていただきたい。

6. 中古の機械類の搬入について、システムを考えていただきたい。

月 日	曜日	内 容
62. 5. 19	火	11:10 大阪空港発タイ航空TG-621便(マニラ経由)にてバンコクへ。 バンコク着、Airport Hotelに宿泊。
5. 20	水	バンコク発TG-311便にてネパール国カトマンズ着。 寺崎氏、中西夫妻の迎えを受ける。 14:30 ホテル・シャングリラへ入る。 寺崎氏と翌日からの仕事の打合せを行う。 携行機材の通関予定の説明を受ける。 15:30 TUTHに行き携行試薬(要冷蔵品)の搬入とチェック。 ↓ [MEM3本破損、前途多難] 17:30 TUTHのLab見学とstaffらと挨拶。

月 日	曜日	内 容
62. 5. 21	木	<p>9:00 JICAネパールオフィスに行く。鮎川次長、杉本氏と面会。</p> <p>10:00 日本大使館にて、金子一夫大使と面会。</p> <p>11:00 Lab chief のシュレスター氏と面談。            主な staff の紹介と、カウンターパートの指名がある。</p> <p>14:00 病院長と面談。            技術移転の内容と予定について説明する。</p> <p>14:30 我々の間で、重複するカウンターパートについて話し合う。</p> <p>15:30 Lab の主な staff と meeting を行う。            1) 我々の仕事の大筋と日程の説明を行う。            2) 機材到着が遅れているので、予定が変更されることがある。            3) 短期なので、時間を守ってもらうよう要望。            9:00-13:00、14:00-17:00            4) 技術移転の内容について希望をきく。</p> <p>16:30 virus lab の掃除、ぞうきんがけ(ぞうきんが無いので、古い白衣をやぶいて作る。)、搬入機械類の check、机などの配置を考える。</p> <p>21:00 同行した3人で、これからの事について話し合う。</p>
5. 22	金	<p>virus lab のカウンターパートは Mr. C.M. Sharma である。</p> <p>9:00 virus lab の設営のための仕事を始める。            部屋の清掃、機械類(冷蔵庫、遠心器)の配置替え。            1) 試薬類の check とリスト作成、棚に収納。            2) 冷蔵庫、冷凍庫の中の整理と、期限切れの試薬類の整理。冷凍試薬のリストを作る。            次の物を要求する。            ・ working table 1つ            ・ “ ” (小) 1つ            ・ 棚(無菌室用) 1つ            ・ UV Lamp 5+3+3=11本</p>
5. 24	日	<p>○ 携行した培養細胞の check (vero cell、HeLa cell とも大丈夫)</p> <p>○ Yamato の蒸留装置を点検に行く。プレフィルターがドロドロになっているので洗浄する。ついでにホースも洗ったが、同様にヘドロ様のもの</p>

月	日	曜日	内 容
62.	5. 25	月	<p>がたまっていた。</p> <p>○蒸留装置が2台あったので、2台ともプレフィルターを洗い、イオン交換樹脂の交換を行ったが、メーターは上がらなかった。新しい樹脂自体が乾燥のため変色し、失活しているため使用不可。多分、全部だめになっていると思う。</p> <p>○オートクレーブをセットするが、コンセントのトラブル、交換を要求。</p> <p>○培養細胞の transfer and medium change</p> <p>clean room の設営がまだ(殺菌灯がまだつかない)なので、research lab の clean box を借りて行く。</p> <p>インキュベーター、冷蔵庫も借りる。機材がまだなので、寺崎さんをお願いして、Tec. から culture flask を借りて来てもらう。</p> <p>Bacteriology lab から滅菌ピペットを借りる。1階と2階を行ったり来たりで、とても不便。</p> <p>○Bir Hospital 見学。</p> <p>○TUTHの給水設備を見に行き、ポンプ室、タンク等写真に撮る。チャンチャロさんに給水施設について、案内と説明を受ける。給水パイプのところに、塩素剤を入れるジョイント部分が故障とのこと。日本側に要請しているが、まだ部品が届かないとのこと。なんとかしてあげて下さい。</p>
	5. 26	火	<p>○携行機材がやっと到着する。</p> <p>寺崎氏と機材チェックを行う。破損、まちがいがある。</p> <p>破損 ・ピペット自動洗浄器</p> <p>・500ml ガラスピーカー</p> <p>まちがい ・グルタミン→グルタミン酸(住専門家分)</p>
	5. 27	水	<p>○搬入機材の洗浄と set up</p> <p>○水道水での洗浄は不可能なので、Drinking Water 用のフィルターを要望。とりあえずDWですべて洗う。</p> <p>○試薬類は棚にしまい、リストを作る。</p> <p>15:00 急に腹痛、耐えられず、Hotelに帰る。やっと機材が到着したというのに、とても心残り。</p>

月 日	曜日	内 容
62. 5. 28	木	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ CO<sub>2</sub> インキュベーター set、住専門家に手伝ってもらう。</li> <li style="padding-left: 2em;">water jacket 用の水 40ℓ ( DW 20ℓ、filtrat water 20ℓ )</li> <li>○ ザルトリウスろ過 set の試運転及び Demonstrat</li> <li>○ clean room の set up <ul style="list-style-type: none"> <li>・殺菌灯 4 つ取り付けてもらう。もう 1 つ要求。</li> <li>・ファンをはずして、ふさいでもらう。</li> <li>・カーテンをはずす。</li> <li>・ハンディアスピレーター、オートピペッターの set。</li> </ul> </li> <li style="padding-left: 2em;">working tabl の上で、とりあえず無菌操作できるようにする。</li> <li>○ 試薬用の水の作製 <ul style="list-style-type: none"> <li>DW → カーボンフィルター → 脱イオン樹脂 → 15ℓ 確保</li> </ul> </li> <li>○ HeLa cell、クラミジアの Medium change として CO<sub>2</sub> インキュベーターへ。</li> <li>○ オートクレーブの圧力調整。</li> <li>○ ガラス器具、スパーテル等 DW で洗う。</li> <li>○ Medium びん、DW で洗い一部滅菌。</li> </ul>
5. 29	金	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ clean room の set up <ul style="list-style-type: none"> <li>ヒビテン液を噴霧し、机の上、床をヒビテン液で拭き、UV ランプを点灯し、午後から使える様にする。</li> </ul> </li> <li>○ ガラス器具類の滅菌 <ul style="list-style-type: none"> <li>500 ml メディウムびん 20 本</li> <li>200 ml " 20 本</li> <li>No 5 ゴム栓、培養角びん</li> <li>ピペット類、カバーグラス、その他できるものすべて</li> </ul> </li> <li>○ Mr. 柴田の Lecture がある。</li> <li>○ Yamato の蒸留装置のプレフィルターを交換する。</li> <li>○ cell transfer ( vero cell、HeLa cell ) <ul style="list-style-type: none"> <li>vero cell については、各自にやってもらう。</li> </ul> </li> <li>○ 乾熱滅菌器の温度、時間を set ( 180°C / 1 hr ) し、滅菌する。</li> <li>○ オートクレーブの安全ゴムキャップが、121°C 以下で飛んでしまう。( ぼんそうこうをはって使うことにする。 )</li> </ul>



月 日	曜日	内 容
62. 5. 31	日	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ ギャルトリウスのろ過滅菌 set をオートクレーブに入れる。</li> <li>夕方、Japanese Faculty にて、以下のことを寺崎さんをお願いする。 <ul style="list-style-type: none"> <li>・ オートクレーブの安全キャップ。</li> <li>・ ヤマトのプレフィルター、できるだけたくさん。</li> <li>・ 給水設備について話し合う。</li> </ul> </li> <li>○ small lecture を行う。これから毎朝、30分ぐらい行うことにする。残りの2週間の予定を立てる。Medium、Bufferの説明をする。</li> <li>○ PBS(-)の作製 → stock solution 500ml × 4本 / 4℃</li> <li>○ NaHCO<sub>3</sub> sol → ろ過滅菌し冷蔵庫へ。</li> <li>12:00 Meeting ① 5/20-5/27までの weekly check の確認 ② 今週の予定</li> <li>○ ギャルトリウスのろ過セットを滅菌する。</li> <li>○ MEMを10ℓ作製し、ろ過滅菌し、500mlづつ分注する。 <ul style="list-style-type: none"> <li>9本 → 37℃ / CO<sub>2</sub> インキュベーター (contamination check)</li> <li>11本 → 40℃ / deep freezer</li> </ul> </li> </ul>
6. 1	月	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ growth medium の調整</li> <li>○ vero cell の transfer → 各自でやってもらう。</li> <li>○ 無菌室の使用注意、洗浄に関する注意を作る。</li> <li>○ clean room 中の UV を取り付けに来てくれた。</li> <li>○ ボトルスタンドを木で作ってもらう。</li> <li>○ vero cell culture を Mr. Sharma、Mr. Bhandari がテキスト通り行う。2時間かかる。</li> <li>○ HeLa cell transfer</li> <li>○ 夕方、やっとクリーンベンチが到着、残りの試薬類も同時。</li> </ul>
6. 2	火	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ クリーンベンチの set up <ul style="list-style-type: none"> <li>・ コンデンサー部分がはずれていたり、ヒューズがこわれていたり、メンテナンスの人が半日ばかりで修理してくれる。梱包に問題があるようだ。</li> <li>・ UVランプの取付け (住専門家がやってくれる)</li> <li>・ 仕様に問題があるので (吸気システムだけなのでファンを回すと中のウイルスを放出することになる)、ファンの使用を禁止する。</li> </ul> </li> </ul>

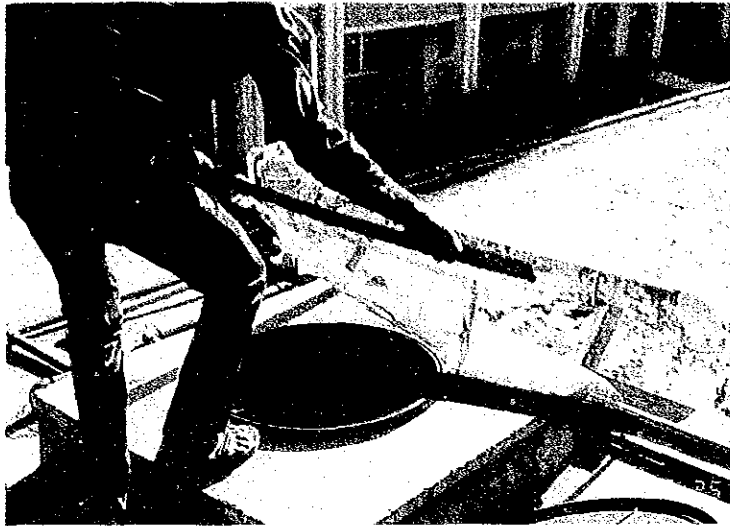
月	日	曜日	内 容	
			<ul style="list-style-type: none"> <li>・ただの箱として使う。</li> <li>○ インキュベーターの set (温度を設定する)</li> <li>9:30-10:30 Mr. 柴田の Lecture</li> <li>○ clean room, washing room の配置を考え直す。</li> <li>○ 試薬類の収納、リストに追加。</li> <li>○ やっと落ちついて仕事ができると思ったのに、又、機械類が入り、部屋がひっくり返ってしまった。トラブルばかりあり、まともに動いてくれる機械の方が少ない。</li> </ul>	
62.	6.	3	水	<ul style="list-style-type: none"> <li>9:00-9:30 meeting</li> <li>○ Chlamydia の培養 (マルチプレートで)</li> <li>○ Trypsin/EDTA の作製とろ過滅菌、分注後、-40℃で凍結。</li> <li>○ incubator 中の MEM が 8/9 本 contamination したので、凍結分をろ過滅菌する。</li> <li>○ 村中医療の人が日本から来て、ヤマトのプレフィルターとオートクレーブの安全キャップを持って来てくれた。これでオートクレーブが普通に使える。</li> </ul>
	6.	4	木	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Meeting (今日のスケジュール、virus culture の説明)</li> <li>○ vero cell の transfer</li> <li>○ virus inoculation <ul style="list-style-type: none"> <li>・凍結 tube から</li> <li>・フラスコ culture から → 超音波処理 →</li> </ul> </li> </ul>
	6.	5	金	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ virus (Measles, HSV-1) harvest する。</li> <li>○ vero cell culture ; 抗原作成用、カバーグラスに培養。</li> <li>○ HE 染色液を半分作る。</li> <li>○ Mr. Rai と水のチェックのため採水に行く。</li> <li>    残留塩素の check を行う。</li> </ul>
	6.	7	日	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ vero cell transfer (plastic dish、カバースリップに)</li> <li>○ harvest した virus を処理し、凍結 tube に分注し、-40℃へ。</li> <li>○ 上記の virus solution の titration を行う。</li> <li>○ カバースリップ上に growth した vero cell に virus を inoculate する。(HE stain、FA stain用)</li> </ul>

月 日	曜日	内 容
62. 6. 8	月	<p>○朝のMeetingについて</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1週間で、とりあえず全部のスケジュールを行う予定である。</li> <li>• hard schedule になると思うが、頑張っしてほしい。</li> <li>• 9時から始めて、1日の予定が終わった時が、終わりの時間とする。</li> <li>• 中和試験、できるようなら行う。</li> <li>• mini lecture を時間を作って行う。</li> </ul> <p>○ cell transfer (vero、HeLa 229)</p> <p>○ virus titration</p> <p>Measles を Mr. Sharma</p> <p>HSV-1 を Mr. Bhandari にそれぞれやってもらう。</p> <p>○ HE染色液の残りを作る。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bouin sol、Hematoxylin sol (これについては、試薬が無いので、ネパールで行っている方法を Mr. Sherchan に聞いて作ることにした。)</li> </ul> <p>○ HE染色 (normal cell、HSV-1、Measles infected cell について)</p> <p>ヘモトキシリン液の染まりがとても濃く、封入体、核、細胞質等、それぞれがきれいに染まっていない。試薬を取り寄せて作り直す必要がある。</p> <p>○ FA staining (上記と同じサンプル)</p> <p>実験台のスペースがないので、非常に作業がやりにくい。観察は明日にし、冷凍保存する。</p>
6. 9	火	<p>○ Meeting (今日の仕事の予定及び説明)</p> <p>○ HeLa 229 cell transfer and freezing</p> <p>○ virus inoculate</p> <p>HSV-1 } → • virus harvest</p> <p>Measles } → • HE、FA stain 用抗原作成</p> <p>Mr. Sharma になるべく全部やってもらう。</p> <p>○ vero cell transfer (Mr. Sharma)</p> <p>○ PBS (-) Buffer 作製</p> <p>○ MEM用 medium bottle の滅菌</p>

月 日	曜日	内 容
62. 6. 10	水	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ DMSOの滅菌</li> <li>○ Mr. 住 lecture</li> <li>○ Meeting は時間が無いので省略する。操作の都度説明することにする。</li> <li>○ drinking water filter セット (40ℓ用) がやっと来たので、流しのところに配置する。</li> <li>○ 昨日 freezing した HeLa cell の recovering</li> <li>○ vero cell freezing Mr. Sharma, Mr. Bhandari にやってもらう。</li> <li>○ vero cell transfer ( plastic dish、カバースリップ )</li> <li>○ HE染色標本と FA染色標本を顕微鏡下で観察 あまりうまく染まっていない。</li> <li>○ MEMの調整及びろ過滅菌し、500ml分注後、すべて37°Cのインキュベータ内でcontaminationをcheckする。</li> <li>○ HE、FA stain をもう一度行う。</li> </ul>
6. 11	木	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ vero cell recovering ( Mr. Sharma, Mr. Bhandari )</li> <li>○ vero, HeLa cell freezing</li> <li>○ virus harvest ( Measles, HSV-1 )</li> <li>○ virus inoculation ( HA染色、FA染色用抗原作成用 )</li> <li>○ 染色標本の観察 蛍光顕微鏡下でFA staining標本を観察したが、あまり鮮明ではない。</li> </ul> <p>1日に多くの項目を次々こなしているので、Mr. Sharma, Mr. Bhandari が理解してくれているか不安である。</p>
6. 12	金	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 申し送りをする。 <ul style="list-style-type: none"> <li>• cell culture ( vero cell, HeLa cell について ) のこれからの継続について、具体的に指導する。</li> <li>• clean room, 洗浄室についての使用注意書を必ずはるよう指導。</li> <li>• クラミジア culture をギムザ染色してもらうが、生存している可能性の方が低いので、あまりうまくいかなかった。</li> <li>• 本を "Biochemical Methods In Cell Culture And Virology" 1冊寄贈してくる。兵庫医大の本なので、帰国後承諾</li> </ul> </li> </ul>

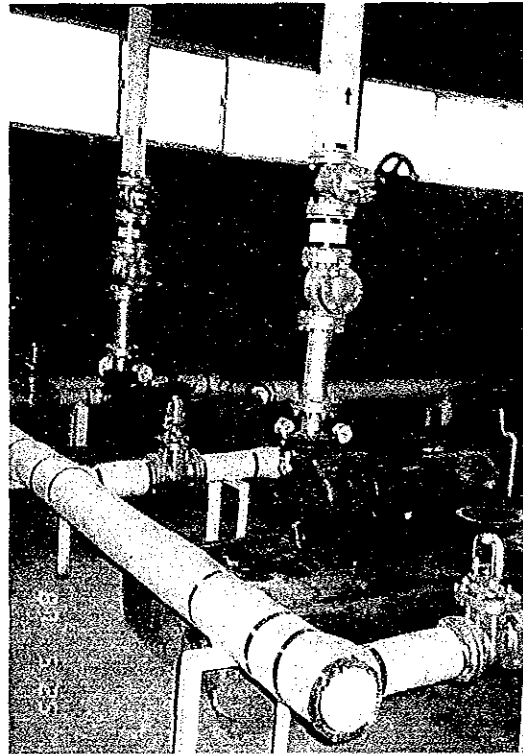
月	日	曜日	内 容
			<p>をもらうつもりである。</p> <p>13:00 farewell party</p> <p>14:00 Deanと面会。レポートを見せ、内容について話し合う。 我々の希望、意見等を述べる。</p> <p>14:00 病院長と面会、同様にレポートを見せる。 もう帰るのか、短かすぎると言われてしまう。</p> <p>14:30 ・中和反応を行う。結果を見ずに帰るのが残念。 ・mini lecture を行い、HE染色のスライドを見せる。 ・後かたづけ、言い残したこと、山ほどあるが、きりがないので、 Mr. Sharma を信頼して後をまかせることにする。 ・必要なもの等、今後の実験にどうしてもいるものを、送る約束 をして帰る。</p>
62.	6. 13	土	<p>T U T Hに忘れ物をしたので、朝取りに行く。</p> <p>12:20 寺崎、中西両氏の迎えでホテルシャングリラを後にする。</p> <p>14:15 カトマンズ発、バンコク着。</p>
	6. 14	日	<p>10:30 バンコク発</p> <p>20:20 大阪着</p>



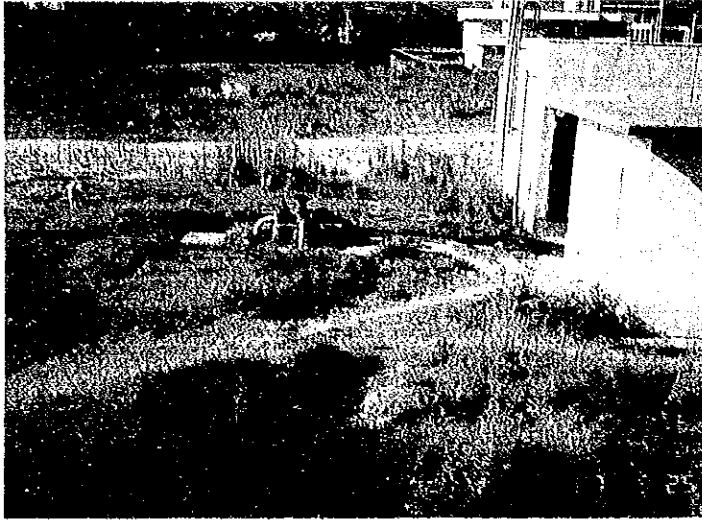


○タンク室のフタにアミをかぶせているところ。

○ポンプ室の中  
時々故障するが、部品がなかなか手に入らないそうだ。



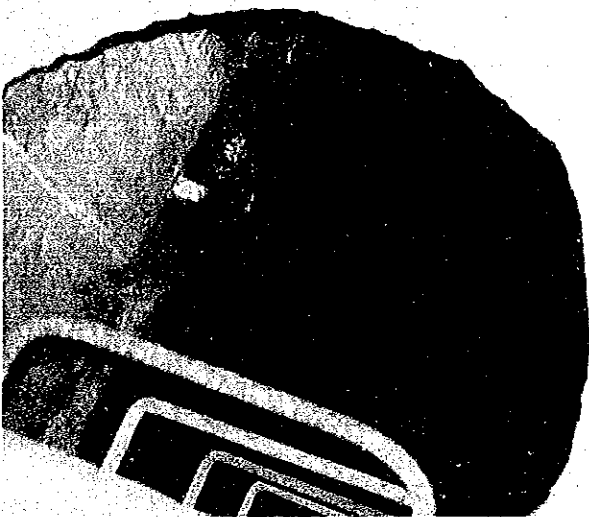
○次亜塩素酸ソーダのタンク  
帰る前に見に行った時は1つが空だった。(全部で3つ)



○ポンプの機械  
井戸水と公共の水をここで一緒  
にしている。

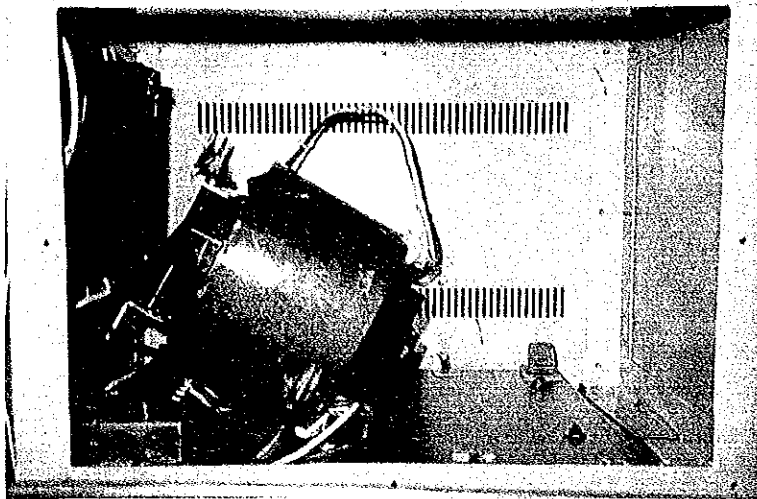


○タンク室の建物  
A、Bと2槽になっている。  
悪性のガスを発生するとかで、  
昼間はフタを開け、アミをかぶ  
せてあるだけ。



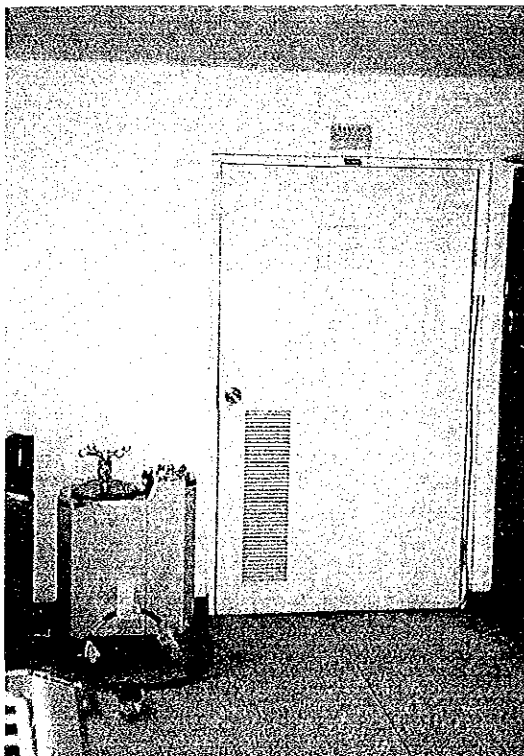
○タンク室の中  
非常にきたない。



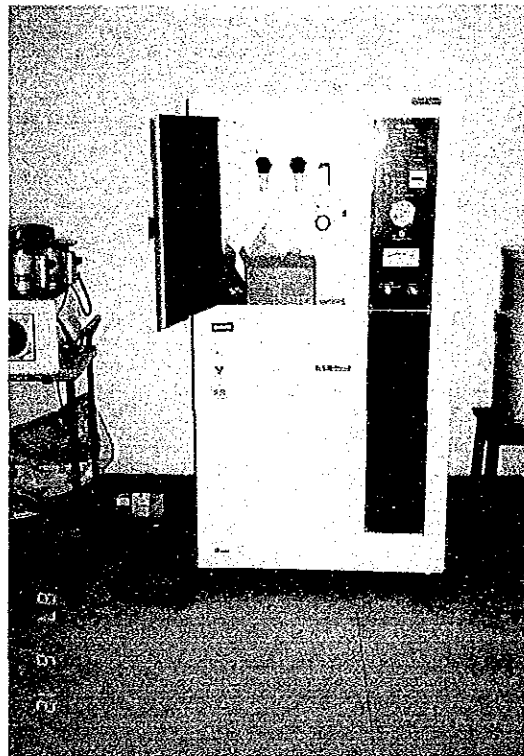


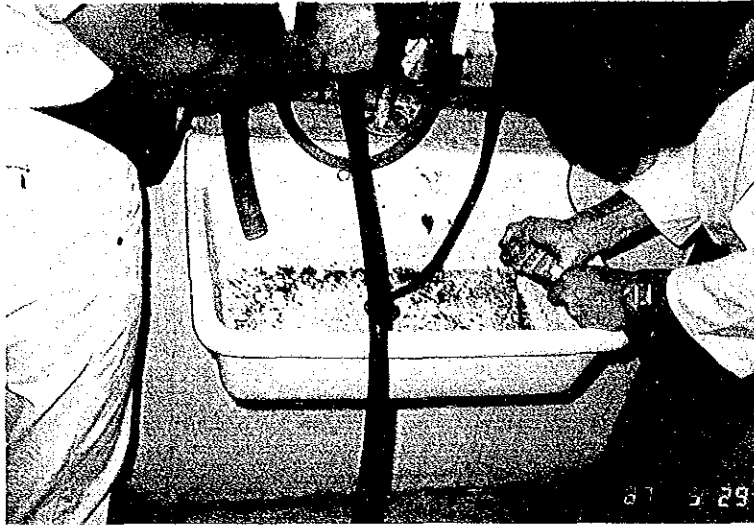
○クリーンベンチについて  
きたコンデンサー  
梱包が悪いので、はずれ  
ていた。

○ virology lab のオートクレーブ  
ゴムホースがじゃま。



○使われていない蒸留器  
中の樹脂は乾いて変色。



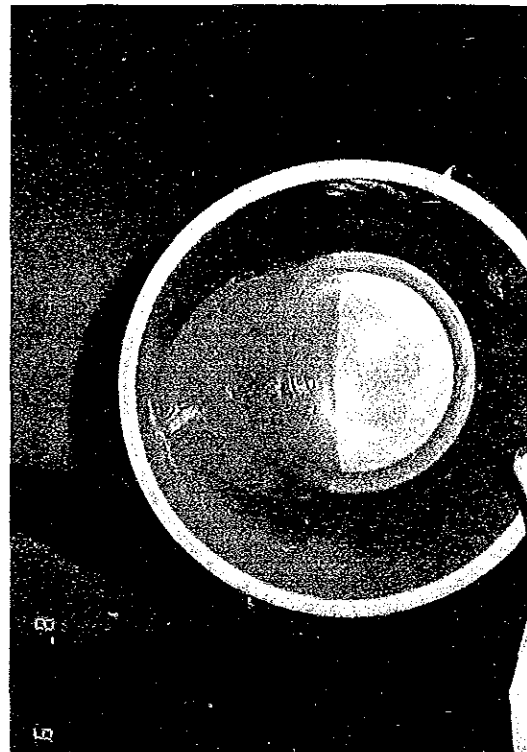


← ○ 蒸留器に配水されている  
ホースの洗浄

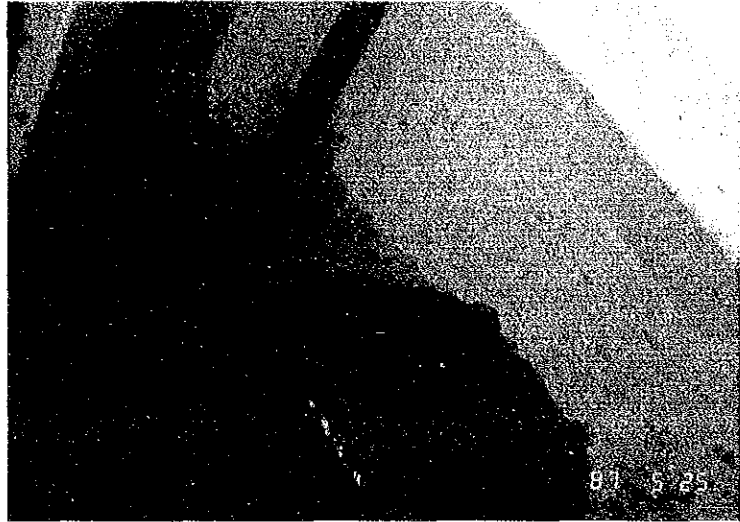
○ 蒸留器の中のプレフィルター  
ドロの固りになっている。



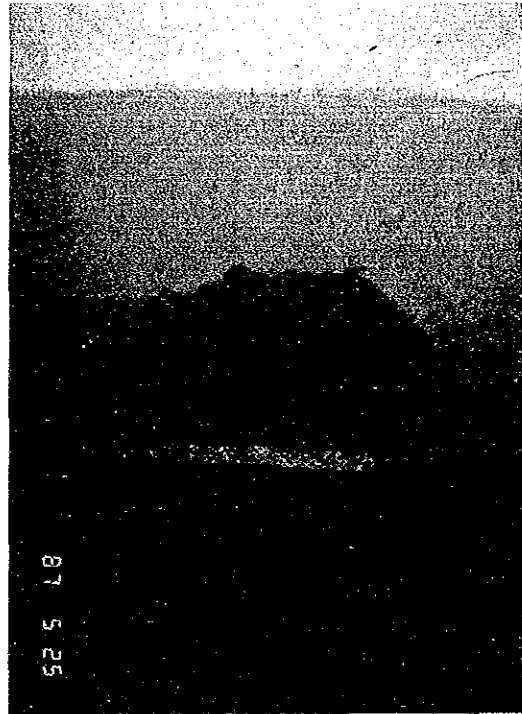
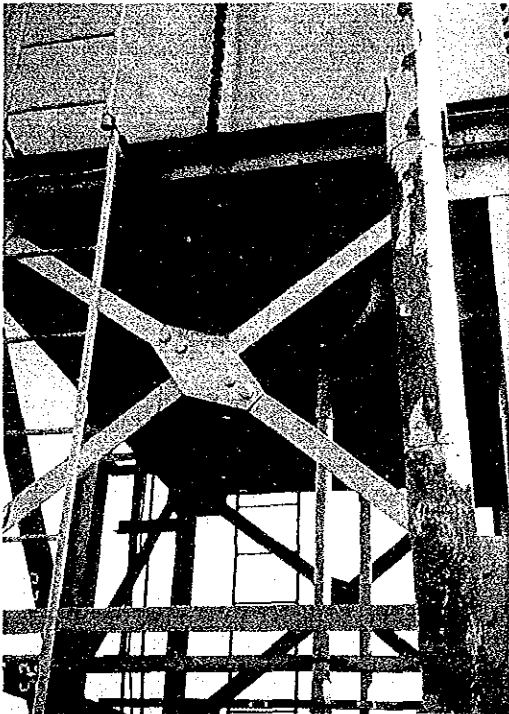
○ 配管から直接採った水



ビルの上のタンクの中  
月に1度は中を洗っている  
そうだ。



○ビルの上のタンク





## PROGRESS REPORT

Name : Miss Kazue Aoyama

Dept. : Virology Department

Duration : 20th May - 13th June, 1987

### A. Objectives :

1. To establish the virology laboratory in TUTH.
2. To introduce Cell Culture.
3. To introduce Virus Culture.

### B. Activities :

- 1st week -
1. Installing and test operation of labo equipments.
  2. Clean up the room for installing of clean room system.
  3. Check up the water supply system for preparation medium and buffer.
  4. Maintenance of established Cell (HeLa - 229 cell, Vero cell).
- 2nd week -
1. Washing and cleaning the glass ware, sterilization and clean keeping.
  2. Preparation of medium and buffers for tissue culture and virus culture.
- 3rd week -
1. Technical transfer of cell culture for virus culture.
  2. Technical transfer of diagnostic technique of Virus infectious.

I mentioned the contents of working in the "weekly work list" in detail. I finished all of my work, which were planned preveously, but the delivery of the equipments and reagents were behind the schedule. So, we could not spend enough time for technical transfer.

### C. Suggestions :

1. Facilities for Virus Culture :- Clean water (distilled water and deionized water) is required for isolation and identification of virus, but we could not secure enough quantity of clean water. Facility of clean room should be designed closely to controle the inner hospital infection.
2. Development of virus laboratory experts :- A great store of knowladge and rich experience are necessary to perform good works under the poor equiped facilities. So we have to consider the manpower development in the long range view. If you establish the base certainly, you can get good result in routine examination and research work.

3. We are dispatched to TUTH according to the Nepalese proposal. We did our best but there was a limitation in work. It is easy to supply only equipments, but if you continue to depend on the other country, you can not be self sufficient. You have to consider "what is the truly needs for Nepal" and make proper proposal to Japan. I was sad when I saw unutilised equipments which were supplied by Japan previously.

Finally I would like to express my thanks for my counterpart Mr. Chintamani Sharma Adhikary, he worked cooperatively and I hope he will be a great Virologist.

12th June, 1987

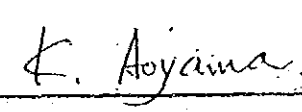
WEEKLY CHECK LIST FOR CENTRAL LABORATORY

Week : 20/May/1987 - 27/May/1987

Date	Test item	Section	Counter part
20/May	Carried the reagent in the TUTH & checked it Observed the Laboratories in the TUTH & confirmed the equipments which were sent previously.		
21/May	Courtesy call to the Director. Had a meeting with staves of Laboratory. Observed the Virus Laboratory & checked the equipments.		
22/May	Virus Cell transfer. HeLa Cell transfer. Cleaned up the Virology Laboratory. Arranged the equipments.	Virology Lab.	Mr. Sharma Mr. Rai Mr. Bhandari
24/May	Set up the "Autoclave & made a trial working. Checked up two "Auto-stills".	" Maintenance	" Mr. Joshi
25/May	Vero Cell transfer HeLa Cell transfer. Inspected the water supply system. Observed the Bir Hospital.	Virology Lab.  Biochemistry	Mr. Sharma Mr. Rai Mr. Bhandari  Mr. Malla
6/May	Recieved, checked & arranged the equipments	Virology Lab.	Mr. Sharma Mr. Rai Mr. Bhandari
27/May	Set up the equipments.	"	"

  
Signature (TUTH)

Dr. Hari Govind Shrestha

  
Signature (Japanese Expert)

Miss Kazue Aoyama

WEEKLY WORK LIST FOR GENERAL LABORATORY

Week : 28/May/1987 - 4/June/1987

Date	Test item	Section	Counter part
28/May	Test run of CO2 Incubator, Washing and sterilization of Glassware, Setting of Pure Water apparatus.	Virology	Mr. Sharma Mr. Rai Mr. Bhandari
29/May	Test run of Sarorius filter, Transfer of HeLa cell and Vero cell.	"	"
31/May	Preparation for Media and Buffer, Preparation for supplement, Sterilization of Filtration system.	"	"
1/June	Transfer of Vero cell and HeLa cell.	"	"
2/June	Setting of Clean Bench and Incubator.	"	"
3/June	Preparation for Tripicin and EDTA, Chlamydia culture.	"	"
4/June	Transfer of Vero cell, Inoculation for Virus (Measless, HSV-1), Filtration of MEM.	"	"

Dr. Hari Govind Shrestha

*K. Aoyama*  
Miss Kazue Aoyama



WEEKLY WORK LIST ON CLINICAL LABORATORY

Week : 5/June/1987 - 12/June/1987

Date	Test item	Section
5/June	Vero, HeLa cell transfer to cover dish Freezing of virus (Measles, HSV-1), Preparation of HE stain solution.	Virus Lab.
7/June	Freezing of virus harvest (Measles, HSV-1) To separate FBS (MBA). Virus (Measles, HSV-1) titration. Virus inoculation to coverslip for staining.	Virus Lab.
8/June	Cell transfer (vero cell) Virus (Measles, HSV-2) titration. HE, FA Staining.	Virus Lab.
9/June	HeLa cell transfer and freezing. Virus (Measles, HSV-1) inoculate for staining Vero cell transfer.	Virus Lab.
10/June.	Setting up the water filter (40.lit.). HE, IF Stain. HeLa cell is recovering. Vero cell transfer and freezing. Filtration of MEM.	Virus Lab.
11/June	Virus (Measles, HSV-1) harvest. Virus infectivity titrations assay.	Virus Lab.
12/June	Judgement of virus titer. Last mini lecture. Setting up the pure water apparatus. Checking up the cleaning system.	Virus Lab.

Dr. Hari Govind Sherstha

Miss Kazue Aoyama

## 業 務 報 告 書

氏 名 柴 田 宏  
指 導 科 目 免疫学、血清学検査  
現 住 所 宝塚市向月町20-9  
通 信 連 絡 先 同 上 Tel. 0797-87-5815  
勤務機関名および住所 兵庫医科大学病院 中央臨床検査部  
〒663 西宮市武庫川町1-1

ネパール王国・トリブバン大学医学教育プロジェクトに基づく技術移転のため、免疫学、血清学検査の専門家として TRIBHUVAN UNIVERSITY TEACHING HOSPITAL の CLINICAL LABORATORY SECTION に派遣される。

派遣期間 ; 昭和62年5月19日より同年6月14日まで27日間

### 〔 目 的 〕

1985年8月の下山調査団の際の三村レポートおよび1987年3月の松岡の計画書に従い、機器・試薬の供与機材についての取扱とその保守指導および更に新しい検査分析技術とそれに伴う試薬の供与を主目的とした。具体的には、血清学・免疫学検査の専門家の立場から、先ず、昨年1986年4月大塚らの技術移転後の各検査が正しく実施されているかのチェック、および Tribhuvan University Teaching Hospital (TUTH) 側より要望のあった(松岡レポート参照)蛍光抗体法、HIV(AIDS)関連検査、ELISA(Enzyme linked immuno sorbent assay)やEIA(Enzyme immuno assay)分析テクニック、自ら抗血清を作製するための血清蛋白(特に免疫グロブリン)の分離精製、免疫電気泳動技術の関連テクニック、さらに溶連菌感染症抗体(4種)の健常値設定の実施。

### 〔 検査の現状 〕

免疫血清検査(主にResearch lab.)において昨年技術移転した機材・試薬・検査技術が有効利用されているかについて

#### 1. 試 薬

昨年JICAより供与された試薬のうち、活用されていたのは梅毒TPHAキット(協和薬品)、トキソプラズマ抗体キット(栄研)、抗サイログロブリン抗体キット(富士レビオ)、および免疫グロブリン定量試薬(和光)の4項目のみであり、その他の試薬は昨年デモンスト

レーションしたままであったり、一度も開封されていないものが多く見られた。

## 2. 検査技術

昨年の技術移転に従って実施しているマイクロタイトレーションテクニックを視察したが、正しい技術で実施されていなかった。そのままでは正しい測定値はでないので再度指導した。またインドから購入した安価なラテックス試薬を使用していたが、正確なタイマー・ストップウォッチの類は活用されていず、反応時間も的確に守られていない。さらに反応原理上一定時間以上静置しなければならないような検査時間も守られていなかった。

## 3. 1986年に供与した検査用機材器具

免疫血清検査用器具としてのプレートミキサーやイムノビューアー、恒温槽、マイクロダイリユーター、マイクロドロッパーなど必要なものは全て整っていた。しかしそれらを使いこなしていないのが実情である。免疫血清検査は主に Research lab. で実施されている。他の RA テスト、免疫グロブリンの定量は血液検査室で実施されているが、この部屋では他に真菌培養など他の検査も行われており、血清検査を専門に検査する技術者はいない。現在 Mr. Rai が中心であるが、彼は血清検査専門の技術者ではない。また検査室も Research が主であり、血清検査のスペースは僅かしかない。今後検査項目数を増やす予定があるならば、Mr. Rai 以外の技師の教育と広い検査スペースが必要である。

## 4. 検査項目と検体数

一般血清検査は一通りできることになっている。しかしそれらの項目は、昨年大塚専門家がデモンストレーションした項目が記載されているだけで、ただ単に試薬が置いてあると言うだけの意味であり、検査をいつもしている訳ではない。実質的に検査をしているのは 5～6 項目である（下表）。

Research lab. での細菌の平均検体数 ( Test / Month )

ASO	30
TPHA	18
ATG	15
CRP	5
TOXO抗体	5
IgG, A, M	5
LE test	1
Paul-bunnel	1
その他	0-1

〔今回の技術移転内容〕

A 技術移転に際して関係した主な staff

Senior staff

Mr. Daflin Sada	Hematology
Mr. Nhuchhe Retna	Bacteriology
Mr. Jeovan Shrchano	Histopathology
Mr. Shiva Rai	Serology & Virology
Mr. Chinta Mani Sharma	Virology
Mr. S. S. Malla	Biochemistry
Mr. Bharat Jha	Biochemistry

Junior staff

Mr. R. K. Bhandari	Virology & Serology
Mrs. Saraswati	Bacteriology
Mr. Jaya Bind	Hematology
Mr. Sri Ram	Histopathology

Lab. boy

Mr. Raju Thapa	Virology
----------------	----------

B 講 義

1. 「蛍光抗体法を用いた血清検査」 29th, MAY
2. 「免疫電気泳動の基礎・症例・応用」 2nd, JUN

C 新しく操作を指導した機器

- |                                   |            |
|-----------------------------------|------------|
| 1. 自動血球計数器                        | Hematology |
| 2. 自動血小板凝集能計：AA-100               | Hematology |
| 3. 迅速組織薄切器：Cryostat               | Pathology  |
| 4. 自動染色機：Autostainer              | Pathology  |
| 5. ELISA用マイクロプレート分光光度計：Myreader-7 | Immunology |
| 6. ELISA用恒温槽                      | Immunology |
| 7. ELISA用マイクロプレート洗浄器              | Immunology |

(No. 5、6 は昨年の供与機器)

D 新しく技術移転した検査法

- |                                    |                           |
|------------------------------------|---------------------------|
| 1. 蛍光抗体法 (抗核抗体、抗 n-DNA 抗体、FTA-ABS) | Immunology                |
| 2. カーボン凝集反応 (梅毒 SST テスト)           | Research                  |
| 3. 免疫電気泳動法                         | Biochemistry & Immunology |

4. 免疫固定法	Biochemistry & Immunology
5. イオン交換クロマトグラフィー (1gGの精製)	Immunology
6. 血球凝集反応の確認試験 (HBs 抗原、HBs 抗体)	Immunology
7. 免疫酵素抗体法 (AFPの測定)	Immunology
8. ELISA法 (AIDS抗体)	Immunology

E 1986年4月に技術移転した検査法を再度指導したもの

1. マイクロタイトレーションテクニックおよび関連する機材・器具の保守と管理方法
  - ① マイクロドロッパーの正しい使い方
  - ② マイクロダイリ्यूーターの正しい使い方 (サンプリング、タイトレーション)
  - ③ マイクロダイリ्यूーターの保守 (洗浄、管理方法 etc.)
  - ④ ドロッパー、マイクロプレートの洗浄方法

F 今後実施すべき項目

まだ指導・実施されていない項目は、免疫血清関連検査では、

- ① 細胞性免疫検査 (T-cell、B-cell など)
- ② 血清補体価などの補体系検査 (CH50、C3c、C4など)
- ③ 補体結合反応のテクニック (ウイルス抗体価の測定など) である。

ただし現在の検査依頼状況を見ると、今のTUTTHにおいて早急に必要な検査項目ではないと考える。今回までの技術を熟練すれば、他の新しい検査項目に関してある程度応用可能な筈であるから、今まで2年間にわたり技術移転した技術と試薬を十分に活用されたい。むしろ次に技術移転すべきものは、検査テクニックに先んじてモルモットやウサギを飼育しての新鮮な補体や、溶血素などの抗血清を得るテクニックを身に付ける方が有用と考える。抗血清などの試薬や感作血球などが容易に入手できない国情からみて、血清学検査に伴うこれらの基礎技術を導入するなどして試薬の安定供給を図ることが先決である。

G 問題点と要望事項

1. 臨床検査に関する研究について

ネパールの技師達は、何か研究をしたいと言う願望は持っているようだが、実際には検査検体の提出されるまでの時間はのんびりと過ごしているし、検体の検査は依頼のあった項目のみしか実施しない。研究とはドクター等の上位の人から与えられたテーマをするのが研究と考えているようだが、検査室における研究とはその様なことだけではなく、患者検体の中にも沢山のテーマがあるはずである。

例えば一つの異常なデータが見つければ、その検査に関連した他の検査を実施するとか、もっと詳しく分析するとかしているうちに何か興味深いテーマが生まれてくるものである。実際、取り組むべきテーマは多くあることを指摘しておきたい。

## 2. 供与機器と試薬の有効利用について

日本より搬入した機器と試薬が有効利用されていない。例えば、水が不足しているにも関わらず、純水装置が使用されずに放置されていたり、期限切れの試薬が冷蔵庫で放置されたりしている。試薬を使ってしまったからの試薬購入の困難を予測してか、古い期限切れの試薬が保存されているが、これでは正しい検査は出来ないし誤診をまねくことになりかねない。彼らの検査結果が患者の病名を決め、患者の生死をも分けることがあることをよく考えてもらいたい。

昨年供与した試薬の在庫状況を別紙2に示す。

## 3. 試薬、消耗機材の自給自足体制の必要性について

試薬・消耗品がなくなれば検査がストップするという実情にある。高度な機器の要望や高価な試薬を必要とする検査法の導入計画は慎重でなければならない。むしろ日本が試薬を自給自足していた頃の検査機器や試薬を発注すべきである。そうしなければいつまでも外国からの援助を望み、もし援助が打ち切られたときには病院の機能自体が止まってしまうことになりかねない。T U T HおよびJ I C Aが機器や試薬、消耗資材について長期的展望に立って供与されることが望ましい。また技術移転する専門家側に関わる問題として、今回のように短期間の派遣期間の間により多くのことを研修させたいと思うならば、どうしてもディスプレイの器具を使わざるを得ない。一旦ディスプレイの器具で教えてしまうと、彼らがそれに慣らされるのも当然かもしれない。またインドから試薬類が購入できるが、我々からみればそれらは明らかに粗悪品であり、少なくとも日本では使用できない。その様な試薬類をチェックできる化学者の育成も重要である。更に今後の指導項目にも書いたが、例えば補体結合反応等では新鮮なモルモット血清や溶血素を必要とするこれらを得るために、実験動物の飼育や免疫にて抗血清を作るテクニックなど試薬を自給できるようなテクニックを今後優先して指導すべきであると考える。

## 4. 検査用の水について

水については、青山技師から詳細に報告されると思うが、検査に用いる良質の水の確保が不可欠である。純水装置の管理は病院のメンテナンスの人が管理しているようであるが、自分達が検査に使う水なのだから検査技師自らが管理保守し、精製水の安定供給に勤めなければならない。

## 5. 検査技術について

Senior staff は、彼ら自身が学生に講義しているだけあって学問的知識はとても豊富である。しかし検査テクニックは粗雑なものであった。彼らに日本人のような器用さを要求するのは無理かも知れないが、検査器具の正しい使い方はマスターしてもらわねば困るので指導した。口頭で説明してもなかなかマスターしてもらえなかったが、一緒に沢山の検体を

検査しているうちにマスターした。このようにテクニックとは沢山の検査をこなしてこそ身に付くものであるが、T U T Hでは依頼された検査しか実施していない。J I O Aから供与された試薬は無料でもらったものなのだから、その分だけでも患者検体を無料で検査して上げるくらいの気持ちが欲しいものである。そうすれば期限切れの無駄な試薬もなくなるし、技師のテクニックも向上しさらに興味深い検体や研究テーマに取り組むのに役立つと思う。ちなみにリサーチラボでの血清検査検体数は1月当り平均で(ASO:30、TPHA:18、Anti-thyroglobulin:15、CRP:5、Anti-toxoplasma:5、Igs-qualitative:5、LE-test:1、Paul-bunnell:1、etc.)と僅かで有り、我々の検査室の1日分にも満たないものである。

#### 6. 技師間の指導体制について

技師の技術に関してもシニアスタッフとジュニアスタッフ、それ以下のスタッフとの技術格差が大き過ぎる。検査器具の洗浄にしてもきちんと上級の技師がチェックしなければならないが、洗浄は下の人にまかせるのでは正しい検査結果は得られない。今回は、器具の洗浄の仕方まで指導してきたが上級の技師は熱心ではなかった。まず上級の技師が正しい器具の洗浄方法をマスターしたうえで下の人を指導しなければいけない。このことは、全ての検査技師に共通して言えることで、検査室の体制改革を強く望みたい。

#### 7. 検査業務と研究について

特に現在血清関連検査はResearch labo.で実施しているが、今はResearchのかたわらルチンを実施しているようで検査のための技師が育たない。また血清検査の現状の所でも指摘したが、血清検査室を独立させるべきである。そして出来るならば補体結合反応のようにウイルス抗原を直接扱う検査もあるので、ウイルス培養室や細菌検査室と隣接した配置が望ましい。松岡レポートにあるような感染症検査棟が将来建設されるときには、その一部または検査棟の近くに配置するのが望ましい。

#### 8. 派遣専門家分の機器および試薬購入について

供与または携行時の機器、試薬の購入価格が概して高価のようである。英語のマニュアルが入っているわけでもないのに国内価格と著しい格差がみられるものが多い。それでは専門家が試薬を選ぶ際、折角安くて良い試薬を沢山送ろうとしても意味がなくなってしまう。もし今回の試薬類を我々の病院の購入価格で購入していたならば、今回の2~3割多く購入できていたであろうと思われた。

#### 9. 現地における機材の購入について

検査用機材や一部の試薬はネパールやインドで安価に購入できるものが少なくない(例、アルミホイール、ビニール袋、アルコールランプ、エチルアルコールなど)。しかしこれらは現在は発注から納品まで病院内の手続きや輸送等で数カ月掛かるのが普通のようなものである。あ

る程度定期的に消費される機材や試薬については予め病院として大量に購入しておいて、そこから各セクションへ払い出すような中央材料供給制度の充実が必要である。

#### 10. 専門家の派遣期間について

今回の私の派遣期間はネパールで23日間であったが、短かすぎたという印象が強い。ネパールの気候や食事、及びTUTHの検査室に何があって何がないのか、何は誰に聞くのかなどネパールの雰囲気慣れて技術移転についても順調に出来るようになった頃には帰国する感じである。私自身の予定していた技術移転項目は全て終了したつもりであるが、帰国後の今考えてみると色々やり残してきたような気持ちがある。それは、技術指導はしたが期間不足のためにその技術をネパールの技師が理解し、実際に検査できるかどうかの確認をするほどの時間がなかったためだと思われる。今後もっと長期の派遣を考えて頂きたい。

また今回の我々のように初めての場合には、準備にしても何が必要で何が必要でないか、何が現地で購入できるのかなどが分っていなかったからずいぶん無駄があったと思う。可能な限り続けて同じ人が派遣されるのが望ましく、その方が予算も有効に活用できると思われた。

#### 11. 相互の連絡体制について

日本側の指導が正しく実行されているかどうかをチェックするためや、問題点、疑問点を密に連絡し合うために、テレックスまたはファックスをTUTHと兵庫医大の間に常設して頂きたい。

月	日	曜日	内 容
62.	5. 19	火	11:10 大阪空港発タイ航空TG-621便(マニラ経由)にてバンコックへ出発。 17:10 バンコック着、送迎車にてAirport hotelへ、宿泊。
	5. 20	水	11:30 TG-311便にてネパール国KATHMANDUへ。 13:15 KATHMANDU着、JICAネパール事務所の寺崎氏、中西夫妻の迎えを受ける。 14:30 ホテルシャングリラへ 直ちに寺崎氏と翌日の打ち合せをする。 15:30-17:30 TUTHへ行き、手持ち携行試薬の格納とチェック。
	5. 21	木	9:00 JICAネパールオフィスへ挨拶 鮎川次長、杉本氏と面会。 10:00 日本大使館にて金子一夫大使と面会



月	日	曜日	内 容
			<p>TUTH教育のあり方などを伺う。</p> <p>11:00 Lab. chiefのMr. Shrestha 氏と面談、主なスタッフを紹介される。予定表に沿って項目毎に担当者を決めてもらう。</p> <p>14:00 病院長と面談</p> <p>技術移転の項目と予定について説明する。</p> <p>14:30 他のエキスパートと担当者の重複する日程を調整。</p> <p>15:30 Lab.の主なスタッフと日程についてミーティング。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 第1週目は搬入機器の組立とその取扱説明を実施する。メンテナンスや保守の仕方などを中心に説明する予定であること。</li> <li>2) Weekend meeting を毎週持ち、その週の問題点など及び次の週の日程について話し合うことにすること。</li> <li>3) 28日に届く試薬があるために当初の予定は変更することがあること。</li> <li>4) 今回指導する検査内容について Lecture して欲しいとの要望があったので日程に入れた。</li> <li>5) 昨年(1986)の大塚技師が指導した検査とテクニックが正しく実施されているかどうか一緒に検査しながらのチェックを申し入れた。</li> <li>6) 短期の研修時間を有効に使うため朝9:00から夕方5:00(休憩時間13:00-14:00)まできっちりつき合ってもらいたいこと。</li> </ol> <p>16:30-18:00 ウイルス室で倒立顕微鏡を組み立てて実験スペースをつくる。</p> <p>21:00-24:00 3人(住、青山、柴田)でこれからの方向性などについてミーティング。</p> <p>9:00 TUTH登院、Pathology Lab.にて Autostainer の組立と配管と作動プログラミングおよび保守について説明。</p> <p>Cryostat は over heat してしまい-15℃までしか温度が低下しない、またガラス窓の廻りが40℃近い熱を持つ。室温が38℃も有るためと考えられるため次回はもう少し室温の低いときに作動させてみるように指示。</p>
62.	5.22	金	

月 日	曜日	内 容																																																						
62. 5. 24	日	15:00 Hematology Lab.にて自動血球計数器の Set up および取扱とメンテナンス説明。血小板凝集能測定装置(AA-100)は設置と作動確認のみして操作法は後日とする。																																																						
		17:00-18:00 英文のマニュアル作成とコピー。																																																						
5. 25	月	9:00 細菌室、ウイルス室の純水作成装置をチェック。																																																						
		10:15 Research Lab.にてMr. Rai と今後の日程について打ち合せ。																																																						
		14:00 Hematology の血球計数器が詰まったとの連絡有り、つまり除去の操作について説明、修復させる。																																																						
		14:20 Pathology Lab.にてCryostat のチェック、昨日と同様。																																																						
		14:30 ネパール赤十字のDr. Ranjan Singh 氏が面会にこられる。																																																						
		15:00 病理のCryostat について任氏、中西氏と対策を協議。 室温の影響かどうかをチェックするために明朝7:00の涼しい時間に温度チェックすることとした。																																																						
		16:00 Research Lab.にて実際に検査テクニックをチェック いくつかの問題点を認める(別紙1)。																																																						
		6:50 TUTHへ着きPathology Lab.に行くが担当者は来ていないのでコントロールの人に部屋を開けてもらい、7:05にCRYOSTATをPower onし、テスト開始。																																																						
		<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time</th> <th>Room temp.(°C)</th> <th>Cryostat temp.(°C)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>7:05</td><td>31</td><td>&gt; 30 start</td></tr> <tr><td>7:10</td><td>31</td><td>25</td></tr> <tr><td>7:15</td><td>31</td><td>11</td></tr> <tr><td>7:20</td><td>31</td><td>3</td></tr> <tr><td>7:25</td><td>31</td><td>- 2</td></tr> <tr><td>7:30</td><td>31</td><td>- 5</td></tr> <tr><td>7:40</td><td>32</td><td>- 9</td></tr> <tr><td>7:50</td><td>32</td><td>-12</td></tr> <tr><td>8:00</td><td>32</td><td>-13</td></tr> <tr><td>8:10</td><td>32</td><td>-14</td></tr> <tr><td>8:15</td><td>32</td><td>-16</td></tr> <tr><td>8:20</td><td>32</td><td>Stop</td></tr> <tr><td>8:22</td><td></td><td>Reset start</td></tr> <tr><td>8:30</td><td>32</td><td>-10</td></tr> <tr><td>8:50</td><td>32</td><td>-16</td></tr> <tr><td></td><td></td><td>以後変化なし</td></tr> <tr><td>9:00</td><td></td><td>Swich off</td></tr> </tbody> </table>	Time	Room temp.(°C)	Cryostat temp.(°C)	7:05	31	> 30 start	7:10	31	25	7:15	31	11	7:20	31	3	7:25	31	- 2	7:30	31	- 5	7:40	32	- 9	7:50	32	-12	8:00	32	-13	8:10	32	-14	8:15	32	-16	8:20	32	Stop	8:22		Reset start	8:30	32	-10	8:50	32	-16			以後変化なし	9:00		Swich off
		Time	Room temp.(°C)	Cryostat temp.(°C)																																																				
7:05	31	> 30 start																																																						
7:10	31	25																																																						
7:15	31	11																																																						
7:20	31	3																																																						
7:25	31	- 2																																																						
7:30	31	- 5																																																						
7:40	32	- 9																																																						
7:50	32	-12																																																						
8:00	32	-13																																																						
8:10	32	-14																																																						
8:15	32	-16																																																						
8:20	32	Stop																																																						
8:22		Reset start																																																						
8:30	32	-10																																																						
8:50	32	-16																																																						
		以後変化なし																																																						
9:00		Swich off																																																						

月 日	曜日	内 容
		<p>途中から両サイドのパネルをはずし扇風機で風を送り、コンプレッサーを冷却したが、やはりオーバーヒートした。</p> <p>朝7時で既に室温が31℃も有り、より低温な部屋でのチェックが必要と思われた。</p> <p>10:00 Cryostatの再チェック 1階の剖検室にて(室温26℃) -22℃まで低下する。このことからCryostat自体は正常に作動していると考えた。さらにサーモスタットのチェックのために温度を-15℃にセットする。</p> <p>12:00 BiochemistryのMr. Malla氏の紹介でBir hospital, liver sectionのDr. Santosh M. Shrestha氏に面会し、ネパールの肝炎ウイルス等について話し合う。さらにBir hospitalのlaboratoryを見学させてもらう。</p> <p>15:10 TUTHへ戻る。まず剖検室のCryostatを見に行く。 -11℃だが温度は下がり過ぎることもなくサーモスタットもOK!ということにしてPathology Lab.にCryostatを戻す。</p> <p>16:30 Shrestha氏にCryostatの件を報告する。 結論として、室温が高過ぎて温度が下がらないのでであろうと考えられる。真夏にもこの機械を使用するならばエアコンの部屋が必要かもしれない。</p>
62. 5. 26	火	<p>10:00 機材類がやっと通関したので寺崎氏と空港へ受取にゆく。 TUTHへ搬入後梱包をひらきリストをチェックする。 青山専門家の機材破損や試薬品名の間違いが認められた。</p> <p>18:30 終了。</p>
5. 27	水	<p>9:00 Pathology lab.へ、Autostainerの調子を見にゆく。順調である。</p> <p>9:30 Virology lab.へ、昨日搬入した機材の組立などを手伝う。</p> <p>14:00 寺崎氏と試薬リストの照合を行う。</p> <p>14:30 Research lab.検査手技の視察(CRP test等)および先日のテクニックの問題点などについて説明する。</p>
5. 28	木	<p>9:10 Hematology lab.へ中西氏と自動血球計数器用の溶血剤を作りに行く。血球計数は1日60~100検体程度依頼があるために</p>

月 日	曜日	内 容
		<p>我々の搬入した溶血剤の 1/4 がなくなった。至急に試薬を作成しておかなければ折角日本から寄付した機械が試薬切れのために僅か 1 カ月で使用できなくなることになる。ことに試薬の組成が明記されていないで販売されており苦慮した。</p> <p>9:30 Biochemistry の Mr. Jha 氏に脳脊髄液中の CRP 測定の方法 Method を書いてくれるように頼まれる。</p> <p>9:50 Bacteriology の Mr. Tuladhar が院内の STD 専門医を連れてきて HIV の検査をして欲しいと言って来たので検査実施日と検査可能体数を連絡した。</p> <p>10:10 Virology lab. の Mr. Rai に梅毒検査の SST テストの説明とデモンストレーションを実施した。</p> <p>14:00 Mr. Rai と検査値の正常値がないため、ネパールでの正常値作成のためのミーティングをする。</p> <p>検査学校の学生 100 人について溶連菌抗体の検査をすることにして計画を話し合う。</p> <p>16:00 免疫電気泳動用の定電流装置と泳動槽を見に行く。寒天電気泳動に使用可能かどうかチェック。</p>
62. 5. 29	金	<p>8:50 T U T H 着。</p> <p>9:00 Hematology lab. へ行き溶血剤についてミーティング。</p> <p>9:30 Virology lab. で蛍光抗体法用の磷酸緩衝生理食塩液を作成する。</p> <p>9:45 J I C A の人が視察にこられる。水の問題などについて話をする。</p> <p>10:00 免疫抗体法についてスライドを用いてミニレクチャーをする。</p> <p>14:00 Mr. Rai と蛍光抗体染色のデモンストレーション ( ANA, n-DNA, FTA-ABS )</p> <p>16:50-17:30 蛍光顕微鏡観察 蛍光顕微鏡のコンデンサー不調のため見づらい。</p>
5. 31	日	<p>9:00 病院着。細菌室で蛍光顕微鏡のコンデンサーを修理する。</p> <p>12:00 スタッフと Weekly meeting。 Weekly check にサインをもらう。 Cryostat についてまだ問題点があると指摘されたが、このリ</p>

月	日	曜日	内 容	
62.	6.	1	月	<p>ストはあくまでもわれわれの行動記録であって、これにサインをもらったからといって機器が総て順調であったという意味ではないことを説明する。</p> <p>14:00 まず Biochemistry lab. の装置を使って免疫電気泳動をする。次に Immunology lab. の Mr. Rai 氏の装置で免疫電気泳動をする。再び Biochemistry lab. に戻り Immunofixation のデモンストレーションを実施した。</p> <p>9:00 Biochemistry lab. にて免疫電気泳動と免疫固定法の脱タンパクならびに染色。</p> <p>14:00 Immunology lab. にてイオン交換クロマトグラフィーのテクニックを用いた各免疫グロブリンの分離法をデモンストレーションした。</p> <p>このテクニックは今後自ら特異抗血清を作成するときに役立つはずである。</p>
6.	2	火	<p>9:00 Immunology lab. にて免疫グロブリンの分離の続きをする。</p> <p>11:00 ネパール国の皇太子が来院され、院内を視察される。そのため指導できず。</p> <p>14:00 分離した免疫グロブリンの各フラクションをタンパク電気泳動する。</p> <p>15:30 さらに免疫グロブリンを分離精製する方法などを Mr. Rai に説明する（寒天プレパラティブ電気泳動など）。</p>	
6.	3	水	<p>9:00 Immunology lab. にて酵素抗体法を原理とする腫瘍マーカー、<math>\alpha</math> フェトプロテイン測定を実施する。</p> <p>14:00 比色および検量線作成。</p>	
6.	4	木	<p>10:00 Mr. Malla の紹介で再び Bir hospital へ行く。</p> <p>Liver section の Dr. Santosh M. Shrestha にも E I A 法による A F P 測定法を技術移転する。</p>	
6.	5	金	<p>9:00 病院着。Immunology lab. にて H I V ( A I D S ) 用の試薬作りおよびマイクロプレート洗浄器のセットアップ。</p> <p>14:00 Mr. Rai と H I V ( A I D S ) 抗体の E L I S A 法を実施する。検査検体は、梅毒陽性の 9 例と赤十字より偽陽性の疑いで検査</p>	

月	日	曜日	内 容	
			<p>を依頼された2例を用いた。結果は総て陰性であった。</p> <p>同時に学生検体111例を(♂=51、♀=60)凝集反応によるHIV抗体検査と、HBs抗原とHBs抗体のスクリーニングを実施した。</p> <p>18:30 終了。</p>	
62.	6.	6	土	<p>9:40 休日であるが前日のHIV(AIDS)抗体、HBs抗原およびHBs抗体検査結果の判定のため登院する。Mr. Raiと一緒に判定をする。</p>
	6.	7	日	<p>9:00 病院着。</p> <p>9:30 Hematology lab. へ。血小板凝集計(AA-100)の使用方を試薬としてADPを使ってデモンストレーションした。検体は住専門家から採血した。</p> <p>レーザーコアグロメーターはスタンダードが不明。血液ラボのものを用いてみたがPTは遅延していて使用不可。近日中に新しいスタンダードが入荷することなので新しいスタンダードで説明することにした。</p> <p>Mr. Sada が是非自分でやってみたいから日を改めて見て欲しいとの要望があったため9日の午後に再度説明にくることにした。</p> <p>14:00 HBs抗原とHBs抗体のスクリーニング陽性者の確認試験を実施する。</p> <p>16:00 Mr. Mallaと再度Bir hospitalへ行き、counter electrophoresisの寒天プレートを作成した。</p> <p>19:30 終了。</p>
	6.	8	月	<p>9:00 Immunology lab. で昨日のHBs抗原抗体の確認試験を判定する。確認試験を実施したところHBs抗原3例とHBs抗体の4例共に陽性であった。貴重な結果であり、Mr. Raiが早速論文にまとめることとなった。</p> <p>10:00 学生の検体111例を用いて溶連菌感染症抗体検査を実施して健常成人の正常値を求めたいと考えて、4種の抗体検査を実施することにした。この日はASO価：抗ストレプトリジン-O(ランツランダー法)のマイクロプレート法)とADN-Bテスト：抗デ</p>

月 日	曜日	内 容
62. 6. 9	火	<p>オキシリボヌクレアーゼ-B抗体価の検査を実施した。</p> <p>19:00 終了。</p> <p>9:00 前日のASO、ADN-Bテストの判定。</p> <p>9:30 住専門家によるLecture「クラミジアの検出方法」を聴講する。</p> <p>10:30 ASO、ADN-Bのデータ整理。</p> <p>11:00 Hematology lab. にて血液塗抹標本の塗抹や染色をチェックする。および血球計数器用の希釈液の作成。</p> <p>14:00 AA-100の再デモを行う。</p> <p>15:00 化学検査室の比色計の調整を試みるが完全修復せず。 CPKの試薬がなくなったのでアイソザイム用に供与した試薬を活性測定用に変更し、そのマニュアルを作成する。</p>
6. 10	水	<p>9:00 病院着。ImmunologyのMr. Rai と共同研究論文のタイトルについてミーティング。</p> <p>1. "Presence of HBs-Ag and Anti-HBs Antibody among College Level Nepalese Students" S.K. Rai and H. shibata</p> <p>2. "Anti-Streptococcal exoenzymes antibody level in Nepalese of 16-25 years age-group" H. shibata and S.K. Rai</p> <p>9:40 化学検査室にてhemoglobin電気泳動視察。 電気泳動担当者と検体数やIsoenzymeについて話を聞く。</p> <p>14:00 学生111例の検体を用いてASK: Anti streptokinase およびASP: Anti streptopeptidase の測定を実施する。</p>
6. 11	木	<p>9:00 Immunology lab. にてASKとASPの判定および論文作成についてミーティング。</p> <p>11:00 Progress report の作成準備。</p> <p>14:00 Progress report の作成。</p> <p>15:00 Reserch lab. の冷蔵庫に保管されていた使用不能の古い試薬のチェックと廃棄。</p> <p>16:00 Virology lab. にてlabo boy に器具の洗い方を実際に指導する。</p>

月 日	曜日	内 容
62. 6. 12	金	<p>9:00 病院着。</p> <p>10:10 Biochemistry lab. にてアイソザイム検査視察。</p> <p>10:30 Mr. Malla と Bir hospital の Dr. Shrestha へ帰国の挨拶と最後のミーティングを行う。</p> <p>12:30 病院長と面会予定であったが不在のため報告書について寺崎氏と打ち合わせる。</p> <p>13:15 昼食会に出席する。</p> <p>14:00 学長に面会、レポート内容について色々と意見を交換する。</p> <p>14:40 病院長に面会し長期派遣でまた来るように要望される。</p> <p>15:30 日本へ持ち帰る器具や検体を準備、梱包する。</p> <p>16:00 Mr. Jha に髄液中の CRP 測定のための SRID プレート作製方法の術式を指導。</p>
6. 13	土	<p>12:20 ホテルシャングリラ出発。</p> <p>14:15 タイ航空 312 便で KATHMANDU 空港発。 寺崎、中西両氏見送り。</p> <p>18:30 タイ BANGKOK 空港着。AIRPORT HOTEL へ宿泊。</p>
6. 14	日	<p>10:30 タイ航空 620 マニラ経由便で大阪へ出発。</p> <p>20:20 大阪空港到着。</p>



## 別紙資料 1

### 血清検査の梅毒 T P H A ( マイクロタイター法 ) 操作についての問題点

1. マイクロプレートへ血清希釈液を  $25 \mu\text{l}$  分注するときにディスポーザブルのドロPPERを使用している。しかも先端の水をよく拭き取らないから 1 滴が大きくなっており  $25 \mu\text{l}$  正しく分注されていない。
2. ダイリユウターの先端を血清中に完全に沈めてしまうのでサンプリング量も正確でない。
3. 希釈途中に気泡が沢山生じている。
4. 希釈が済んだらそのまま室温に 30 分静置して非特異凝集を吸収しなければならないのに、希釈してすぐに血球を添加している。
5. 未感作血球と感作血球とに同じドロPPERを使用している。その間水洗いのみである。
6. プレートミキサーによる攪はんが弱過ぎる。
7. 試薬の節約のために操作法を変更している。それは希釈倍数があっているから良いのだが、血球量を  $1/3$  に減少させているために非常に判定が見ずらくなっている。
8. 試薬量を減らした分だけプレートが乾燥しやすくなっている。
9. プレートをすぐに洗浄しない。
10. プレートの消毒や洗剤に漬けることもしないためにタンパク質などがこびりついてしまっている。
11. プレート洗浄の最後に精製水をとうさないから水道中のごみが沈澱して白く濁りプレート自体も黄色くなっている。

などの問題点が認められた。これらの点についてそれぞれ指導して訂正するように注意した。

別紙資料2

昨年よりの在庫試薬リスト

試薬 Kit 名	在庫数	有効期限	
Serodia-Rubera	3	Jul., 86	
ケラミジア カルチャーセット	1	Aug., 86	
HSV typing slide	24 test	Dec., 86	
Widal antigen	3	Nov., 86	
Hebsegencell	3	Jun., 86	
CF kit	4	Apr., 86	
CRP SRID plate	1	Feb., 87	
Toxo test	2	Nov., 86	
LE test	2	Dec., 86	
Serodia-ATG	1	Oct., 86	
リバースセル	2	Oct., 86	
nd-RA test	1	Jan., 87	
RA test	2	Dec., 86	
パルチゲンプレート IgG	3	Jul., 86	
	IgA	3	Jul., 86
	IgM	3	Jul., 86
IgG ITP test	2	Dec., 86	
IgA //	2	Dec., 86	
IgM //	2	Dec., 86	

	ASO	ADNB	ASP	ASK		ASO	ADNB	ASP	ASK
26.	120	320	2	320	69.	80	160	8	320
27.	120	320	8	640	70.	120	320	4	320
28.	120	160	< 2	160	71.	120	160	<2	320
29.	120	640	4	320	72.	240	480	16	640
30.	120	160	8	160	73.	120	80	16	160
31.	160	640	8	>1280	74.	80	160	8	160
32.	120	640	8	640	75.	120	120	<2	160
33.	160	320	8	1280	76.	60	160	32	160
34.	160	480	8	>2280	77.	240	320	16	320
35.	160	160	4	320	78.	120	240	<2	160
36.	120	160	4	640	79.	160	480	<2	>1280
37.	160	60	16	150	80.	60	160	32	320
38.	80	80	64	320	81.	240	240	32	>1280
39.	120	240	16	640	82.	80	160	<2	160
40.	160	320	32	160	83.	320	480	<2	>1280
41.	60	60	16	80	84.	120	640	4	>1280
42.	120	160	4	320	85.	80	160	<2	<40
43.	160	640	2	320	86.	80	120	16	80
44.	160	960	32	640	87.	80	80	<2	<40
45.	240	160	32	1280	88.	120	640	16	1280
46.	320	240	16	640	89.	160	160	16	640
47.	120	240	<2	160	90.	240	240	32	1280
48.	240	240	<2	1280	91.	80	240	4	320
49.	160	60	2	640	92.	120	640	<2	160
50.	240	160	32	160	93.	240	240	8	40
51.	160	120	32	<40	94.	120	80	4	320
52.	80	160	<2	160	95.	120	640	2	320
53.	120	480	8	640	96.	120	240	<2	160
54.	240	480	8	>1280	97.	160	320	8	1280
55.	320	320	32	>1280	98.	160	640	32	>1280
56.	120	240	16	640	99.	240	320	<2	640
57.	480	160	8	1280	100.	240	320	<2	240
58.	120	160	64	320	101.	240	480	16	640
59.	80	320	8	640	102.	240	240	<2	>1280
60.	60	120	<2	160	103.	120	120	<2	640
61.	160	640	4	1280	104.	120	640	16	640
62.	80	240	<2	160	105.	120	160	<2	320
63.	240	240	<2	160	106.	160	320	<2	>1280
64.	240	640	<2	1280	107.	80	120	64	160
65.	240	320	16	640	108.	240	160	<2	640
66.	60	240	16	640	109.	60	120	8	640
67.	120	120	4	640	110.	240	480	32	>1280
68.	80	160	8	320	111.	160	320	16	>1280

GIRLS

► Anti-Streptococcal exoenzymes antibody level in Nepalese of 16-25 years Age-group

– H. Sibata  
S. K. Reçi\*

- Total : 111; ♂ = 51; ♀ = 60
- All volunteers students of college
  - from different part of Nepal
  - from different culture/caste
  - All un-married (except few)
- Data :

	ASO	ANDB	ASP	ASK	Exoenzymes
1.	80	160	32	160	
2.	120	120	4	40	
3.	60	60	4	80	
4.	160	60	8	<40	
5.	120	240	8	320	
6.	120	480	<2	>1280	
7.	120	320	2	320	
8.	240	240	8	640	
9.	240	480	4	160	
10.	80	240	4	320	
11.	120	160	64	320	
12.	160	640	8	640	
13.	120	240	<2	>1280	
14.	60	160	4	320	
15.	120	120	8	640	
16.	120	120	64	640	
17.	60	80	2	160	
18.	120	320	16	1280	
19.	80	240	16	640	
20.	60	480	64	160	
21.	240	320	32	1280	
22.	120	160	32	160	
23.	240	480	8	>1280	
24.	80	120	<2	160	
25.	160	320	16	>1280	

\* Asst. Lecturer, Institute of Medicine, TU Teaching Hospital, Dept. of Pathology, Kathmandu, Nepal.

PTO →



TRIBHUVAN UNIVERSITY  
INSTITUTE OF MEDICINE

# CORNEAL EYE INFECTION RESEARCH PROJECT

(T. U. Teaching Hospital Building)

Phone : 4-12303  
4-12404 Ext:- 25  
4-12503 -35

P. O. Box No. 3578

Maharajgunj  
Kathmandu, Nepal


Date.....  
11 June 1987

Ref No.



TO WHOM IT MAY CONCERN

This is to certify that Mr. H. Shibata , Immunologist from Hyogo college of Medicine is carrying a serum sample for investigation at Hyogo College of Medicine. The sample is non-infectious and has no commercial value.

  
11/6/87  
(S. K. Rai, BMLT)

Asst. Lecturer.

Research Laboratory/Virology Laboratory.

## PROGRESS REPORT

Mr. Hiroshi Shibata, from Hyogo College of Medicine was dispatched for the period of 20th May to 13th June, 1987, by JICA, to perform technical transfer in the field of immunology, hematology, virology in the central laboratory and research laboratory.

### A. General Objectives :-

Installation of the equipments, technical transfer of new technique based on immunological technique and setting of normal range for anti-streptoligin test.

### B. Activities :-

1st week - 1. Setting up the equipments.

2. Observe the serological test at research lab.

2nd week - 1. Demonstration of new method (immunoelectrophoresis, Enzyme immunoassay, ELISA of HIV, etc.)

3rd week - 1. Set up the normal range of anti-streptoligin test.

2. Check up the reagent and equipments.

I mentioned the contents of working in "weekly work list" in detail. I finished all of planned working even though, the equipments and reagents were delivered lately.

### C. Suggestions :-

1. Laboratory Technicians :- Nepalese technicians have theoretical knowledge very much, but I found some poor points in practice. This unbalance is caused by that the Nepalese teaching staffs studied by only the books, but they can not learn the sense of technique in practice by book. Moreover, number of sample is small and they took separation working system, so thier experience in practice is poor.

2. Reagent :- I wonder that TUTH is using the reagent properly or not. I found many expired reagent which was supplied by JICA in refrigerator of laboratory. It is good to use reagent sparingly. But it is not good that sensitivity of test becomes less by thrifty. Only required number of reagent should be supplied.

3. Research :- Perhaps many laboratory technicians want to do the research work, but usually they do only routine work and they don't have own theme. I propose you that labo technicians should do related tests on thier own initiative when they find abnormal data. JICA introduced some reagents and techniques for it.

4. Others :- Enough quantity and quality of clean water should be supplied for laboratories.

Finally I thank for Nepali counterpart they are friendly and I had valuable days. I hope you will fully utilize new technique reagent and equipments, which were introduced by me .

*H. Shibata*

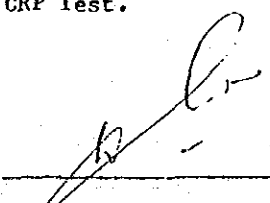
Hiroshi Shibata


12th June, 1987

WEEKLY CHECK LIST FOR CENTRAL LABORATORY

Week : 20/May/1987 - 27/May/1987

Date	Test item	Section	Counter part
20/May	Carried the temprature controlled reagent in the TUIH & checked and kept it. Observed the laboratories in the TUIH & confirmed the equipments which were sent previously.		
21/May	Courtesy call to the Director. Had a meeting with Laboratory staves for Schedule. Observed the Virus Laboratory & checked the equipments.		
22/May	Explained and demonstrated how to use the "Automatic Slide Stainer" & made a programming. Explained the handling method of the "Cryostat" Explained how to maintain the "Blood Cell Counter". Set up the "AA-100" & checked up the condition.	Pathology " Haematology "	Mr. Sherchan " Mr. Sada "
24/May	Checked up the "Auto-still". Rechecked up the "Cryostat". ASO, TFHA Test	Biochemistry Pathology Research Lab.	Mr. Jha Mr. Sherchan Mr. Rai
25/May	Rechecked up the "Cryostat" in the cool place at 7 A.M. Rechecked up the "Cryostat" in the autopsy room. Observed the Bir Hospital Laboratory.	Pathology " Biochemistry	Mr. Sherchan " Mr. Halla
26/May	Recieved, checked & arranged the equipments.	JICA	Mr. Terasaki
27/May	Checked up the condition of the "Auto Stainer". Set up the equipments. CRP Test.	Pathology Virology Research Lab.	Mr. Sherchan Mr. Rai, Mr. Sharma Mr. Rai

  
Signature (TUIH)  
Dr. Hari Govind Shrestha

  
Signature (Japanese Expert)  
Mr. Hiroshi Shibata



WEEKLY WORK LIST FOR GENERAL LABORATORY

Week : 28/May/1987 - 4/June/1987

Date	Test item	Section
28/May	Preparation for Hemolyzer.	Haematology
	Explanation of CRP micro measurement.	Biochemistry
	Correction of sample for SST method.	Immunology
29/May	Explanation of Fluoro anti-body method.	Immunology
	Demonstration of ANA, n-DNA, FIA-ABS.	"
31/May	Repair of Fluoro mictscopy condencer.	Bacteriology
	Demonstration of Immunolectro phoresis and Immuno electro fixation.	
1/June	Staining for IEP and IFF.	Biochemistry & Immunology
	Separation of Immunoglobulin with use Ion-exchange chromatography.	Immunology
2/June	Lecture on "Basic Immunolectrophoresis and their clinical cases".	Lecture room
	Staining for protein from separated Immunoglobulin.	Biochemistry
3/June	Measurement for $\alpha$ -fetoprotein.	Immunology
4/June	Observation of Bir Hospital.	Bir Hospital

Dr. Hari Govind Shrestha

*H. Shibata*  
Mr. Hiroshi Shibata

WEEKLY WORK LIST FOR CENTRAL LABORATORY

Week : 5/June/1987 - 12/June/1987

Date	Test item	Section
5/June	Demonstration for HIV (ELISA method and particle agglutination method)	Immunology
	Screening of HBS-Ag and HBS-Ab for 100 normal persons	
7/June	Explanation for platelet aggregation analyzer.	Hematology
	Conformation test of HBS-Ag and HBS-Ab for screening positive serum.	Immunology
8/June	Decision of HBS-Ag and HBS-Ab conformation test.	Immunology
	Preparation for ASO and AD Nase-B test.	
9/June	Demonstration for ASO , AD Nase-B test and platelet aggregation analyzer.	
10/June	Guidance of Hb-electrophoresis, HIV (ELISA method), Anti-strepto Kinase test and Anti streptococcal polysacchoride test.	Biochemistry
11/June	Maintenance and check of reagent and analyzer	Immunology
12/June	Guidance of protein electrophoresis and Isoenzyme technique.	Biochemistry

Dr. Hari Govind Shrestha



Mr. Hiroshi Shibata

## 業 務 報 告 書

氏 名 福 田 能 啓  
指 導 科 目 消 火 器 ( 内 科 ・ 内 視 鏡 診 断 及 び 治 療 )  
現 住 所 西 宮 市 樋 之 池 町 2 7 - 5 2 - 6 0 6  
通 信 連 絡 先 西 宮 市 樋 之 池 町 2 7 - 5 2 - 6 0 6  
勤 務 機 関 名 お よ び 住 所 兵 庫 医 科 大 学 第 4 内 科 西 宮 市 武 庫 川 町 1 - 1

### (1) 派遣期間

1987年6月30日より7月21日までの22日間、トリブバン大学教育病院（カトマンズ、ネパール）において、内視鏡検査および内科治療に従事した。

### (2) 勤務内容

内視鏡検査と内科患者の治療を行なった。また、セミナーを開催した。

#### a 内視鏡検査

上部消化管内視鏡（食道・胃・十二指腸）、大腸内視鏡、及び逆行性すい胆管造影検査（ERCP）を行なった。

上部内視鏡検査においては前処置法や挿入法は当然として、粘膜の微細病変の診断について指導した。潰瘍やびらんの存在診断に関してはおおかた充分と言えるが、質的診断についてはかならずしも満足の行くものではなかった。進行胃癌の診断は臨床的に問題なくなされたが、早期胃癌は見逃されることが少なくなかった。小さなびらんや陥凹・僅かな隆起に注意して可能な限り組織生検すべきであることを指導した。微細病変を周囲粘膜から引き立たせるために食道においてはルゴール散布、胃においてはインヂゴカルミン散布を行なう色素内視鏡法も指導した。

大腸内視鏡検査では感染性腸炎・炎症性腸炎・ポリープなどの鑑別について指導した。

ERCPでは十二指腸下行脚への挿入とすい管・胆管へのカニューレの挿入を指導した。

食道静脈りゅうに対する硬化療法も行なった。

#### b 外来患者やICUに入院中の患者の診療をカウンターパートと共に行なった。

黄疸・吐血・血性下痢・腹痛・腹部腫りゅうなどである。

#### c 1987年7月17日にトリブバン大学教育病院のセミナーホールにおいて、下記のスケジュールで消化器セミナーを開催した。

プログラム

14:00	Opening Remarks	Prof. G. P. Acharya
	Remarks by Session Chairman	Prof. T. Shimoyama
14:10	1. Video film on Emergency Endoscopy *	
	2. Video film on Colonofiberscopy *	
		* 日本で編集して持参した。
15:10	Upper G. I. Endoscopy in T. U. T. H.	Dr. S. K. Thapa
15:25	Lower G. I. Endoscopy & Oesophageal Sclerotherapy	
		Dr. M. P. Ghimire
15:40	Upper G. I. Endoscopy in Japan (Diagnosis & Treatment)	
		Dr. Y. Fukuda
16:10	Lower G. I. Endoscopy in Japan (Diagnosis & Treatment)	
		Dr. M. Hosomi
16:40	Campylobacter Pylorii in relation to gastric disease	
		Dr. H. Inoue
17:00	Closing Remarks	Dr. C. P. Maskey
		Director, TUTH.

(3) 給食委員会への出席と討論

トリバン大学教育病院では給食部と栄養部が分離独立しておらず、入院患者の給食と当直医師の食事とが同等に論じられていた。栄養士側では異なる病態の患者に対して特殊な栄養療法を行ないたいが、医師側では当直のときの食事の内容を良くするようにと希望を述べるだけで、両者のギャップは一向に埋まりそうになかった。日本における事情を説明し治療上栄養学が必要であることを述べた。

(4) 評価と印象 — 第1回の派遣時(1985. Sep~Oct)と比較して —

a 内視鏡検査について

内視鏡機器の管理

以前に比して機器の洗浄・消毒は幾分改善されたとはいえ未だ不十分であった。機器に付着する粘液・血液の除去には流水を用いることが重要であるが消毒された十分な水が無いため、ハイデックス(グルタールアルデヒド)を混ぜたバケツの水に漬けるだけで終わっている。B型肝炎の感染の危険もあり上水道を含めた給水設備が必要であろう。

スコープの自動洗浄機が設置されているが管理が悪い。

カニューレや生検かん子の消毒は十分行なわれていないようであった。

スコープの先端は傷付きやすいものであるが、安易に取り扱うため損傷が激しかった。

#### 内視鏡検査の技術

以前は挿入技術が不十分であったため前処置として、咽頭麻酔の他にセルシン（ディアゼパン）10mgとブスコパン（抗コリン剤）2Aを静脈しないと反射が強くて挿入するのが困難であったが、今回は咽頭麻酔のほかにブスコパン1Aを静注するだけで検査を行なうことができた。

病変を確認できてもその病変の肝心な部位にかん子がゆかず、生検結果が偽陰性になることが多い。

Dr. Ghimire は明るい部屋で内視鏡検査をしており、Dr. Thapa は比較的暗い部屋で行なっていた。

胃角部と体上部の観察がよくできないようであった。

症例数が増えているためもあり観察がややラフであり、写真に記録することが少ない。

微細病変の診断は未だ不十分と言わざるをえないが、以前と比べて明らかに向上している。食道静脈りゅうの硬化療法も試みられており技術的には或る程度の水準に達しているものと思われる。（硬化療法に用いる硬化剤がネパールでは手に入りにくい。）

生検標本を病理部に提出するとき標本の順番がわからないため、後で部位との対応に苦慮する。ろ紙に番号をつけてホルマリンにいれるように説明した。

#### b 臨床的事項

今回とくに感じたことは、覚え立ての技術を用いたいのはよく分かるのだが、本来適応がない患者にリスクの高い検査をすぐしてしまいがちのところがあった。

輸液や薬品が充分でないことはよく理解しているが、プライマリーケアにおけるレベルに未だ難点があるように思われる。そのためか患者家族から病院長あてにトラブルの訴えが最近ではみられるようになったと聞いた。

今回専門ではないが、必要な患者には適宜腹部超音波断層検査を行なった。リスクが極めて低い割には得られる情報が多く、次回の機材のなかに是非入れるよう望まれる。

白衣を着用して診療に従事すべきであることをあらためて説明した。

内視鏡検査の時に、ゴム手袋を使用するように指示した。

患者に対する態度に問題のあるときがみられた。

内科を初めとしていままでは時期を異にして派遣されていたが、次回からはある程度の診療科が一緒に行って患者を総合的に診て、協力しあって治療することを教える必要があるものと思われる。

(5) 今回ネパールに持参してT U T Hの図書館とオーディオルームに寄贈してきたものを下記に記す。

上部消化管内視鏡検査に関するビデオテープ(ベータ)	3巻
ERCPに関するビデオテープ	1巻
大腸内視鏡検査及びポリペクトミーに関するビデオテープ	2巻
消化管病変のスライド(35mm)	250枚

(6) 次回専門家が派遣される時持参するよう依頼された機器を下記に記す。

ポリペクトミーに使用する設備

食道拡張器

局注針(食道硬化療法用) 5針

S-Bチューブ 10本

気管内チューブ(気管切開用)

ERCP用カニューレ 10本

(7) おわりに

以前カトマンズにいったときは雨季の終りであったため、それほど強く感じなかったが、今回は雨季のまただ中であったため特に飲料水の悪さに驚かされた。水のなかの細菌を殺しても雲母やアンモニアをはじめとする物質による下痢が多発するのである。上水道や下水道の設備が一日も早く整うことが必要であろう。また、在任中にT U T Hの創立5周年の祝典があり、出席しながら5年間を振り返ってみた。そこには確かな足跡を認めることができるとおもわれた。しかし、それはあくまでも乳飲み子がようやく捕まり立ちを始めた姿であるように思われた。

月 日	曜日	内 容
62. 6. 30	火	10:50 TG-648便にて成田を出発 16:50 バンコック着
7. 1	水	11:30 TG-311便にてバンコックを出発 13:15 カトマンズ着 杉本JICAネパール事務所員、寺崎プロジェクト調整員の出迎えを受けた。 シャングリラ・ホテルに向かう。 15:30 日本大使館に井沢参事官を訪ねる。菊地一等書記官の診察。 16:30 JICA事務所にて小野所長と面談。消化器病セミナーについて

月 日	曜日	内 容
62. 7. 2	木	相談。 10:00 病院長 Dr. C. P. Maskey と面会。 10:30 上部消化管内視鏡検査・大腸内視鏡検査 13:00 Prof. G. P. Acharya と面会 ( I O U ) に入院中の患者の診断と治療についてコンサルテーションを求められた。 16:00 医学部長 Dr. M. P. Upadhyay と面談。
7. 3	金	9:00 上部消化管内視鏡検査
7. 4	土	12:00 ソルティオベロイ・ホテルに移る。(同行の Dr. 井上が部屋で盗難にあったため。) <p>本日はホリディ</p>
7. 5	日	9:00 上部消化管内視鏡検査・腹部超音波 創立記念日のため午前中で診療は終了。
7. 6	月	9:00 上部消化管内視鏡検査 大使館職員の家族(妻)が腹痛を訴えて来院。その他協力隊・専門家の家族らの診察。
7. 7	火	9:00 E R C P 11:00 上部消化管内視鏡検査
7. 8	水	9:00 上部消化管内視鏡検査 14:00 大腸内視鏡検査
7. 9	木	9:00 E R C P 12:30 上部消化管内視鏡検査
7. 10	金	9:00 上部消化管内視鏡検査
7. 11	土	ホリディ
7. 12	日	9:00 上部消化管内視鏡検査 11:00 腹部超音波 15:00 大腸内視鏡検査
7. 13	月	9:00 上部消化管内視鏡検査
7. 14	火	9:00 上部消化管内視鏡検査 11:00 E R C P 14:30 大腸内視鏡検査

月 日	曜日	内 容
62. 7. 15	水	9:00 上部消化管内視鏡検査 14:00 大腸内視鏡検査 大使館職員のCFを依頼された。
7. 16	木	9:00 上部消化管内視鏡検査 15:15 トリプバン大学教育病院創立5周年記念式典が挙行された。 19:00 JICAネパール事務所主催の調査団と派遣専門家並びに海外青年協力隊員との討議・会食がシェラトン・ホテルで行なわれた。
7. 17	金	9:00 上部消化管内視鏡検査 14:00 TUTHのセミナールームにおいてセミナー「消化器内視鏡による診断と治療」が行なわれた。(別紙参照)
7. 18	土	ホリデー
7. 19	日	9:00 上部消化管内視鏡検査 大腸内視鏡検査 19:00 調査団主催のレセプションがアンナプルナ・ホテルで行なわれた。調査団の要約が出来上がり、会食に先立って庄司団長と医学部長 Dr. M. P. Upadhyay とのサインの交換があった。
7. 20	月	14:15 TG-312便によりカトマンズ出発 (調査団と同行) 18:30 バンコック着
7. 21	火	10:30 TG-620便にてバンコック出発 19:55 大阪着・帰国  以上の業務内容を日本より同行した消化器の専門家である井上宏之Dr.と共に行なった。



## PROGRESS REPORT

The visit of Dr. Fukuda and Dr. Inone has brought entirely a new atmosphere in the Gastroenterology unit of this hospital.

Besides technical procedures on upper and lower G.I. Endoscopy a new study on Compylobacter Pylorii has been initiated and we have been able to process and isolate the compylobacter pylorii first time in our Laboratory. This is definitely not a mean achievement or rather has created a landmark in the history of Gastroenterology in the T.U. Teaching Hospital.

Another equally important aspect of this visit is the organisation of a seminar on Gastroenterology which had been well attended by the doctors, students, nurses and other staffs. The seminar gave us a unique apportunity to share our experiences with the Japanese experts and to learn about the developments made in Gastroenterology in Japan.

The presentation of highly educative and informative video films on different aspect of Endoscopy along with a very though|provoking lecture on compylobacter pylorii was simply marvellous.

We extend our sincere thanks to Prof. Shimoyama, Dr. Fukuda and Dr. Inone for making their stay a memorable event.

- Dr. Fukuda's impressions on the skill of endoscopic procedure is highly appreciative. He has been impressed very much with our skill to routinely examine upto second part of the Duodenum in each case, the practice not often done in Japan also.
- However he is of the opinion to improve our disinfective measures before and after endoscopic procedures.
- He recommends the processing of Biopsy specimen separately each time, not often done in our unit.

- The procedure of Dye contrast method for minute lesion shown by him should be continued.
- Last but not the least Dr. Fukuda is amazed at the amount of work Nursing staff has to perform at the Endoscopy unit. He is highly impressed with their skill and ~~how~~ never tired attitude inspite of the massive workload and go on recommending a better training for them in Japan.

Dr. Y. Fukuda  
Hyogo College of Medicine  
Japan.

*Yoshihiro Fukuda*

Dr. S.K. Thapa *S.K. Thapa*  
Dr. M.P. Ghimire *M.P. Ghimire*  
T.U. Teaching Hospital  
Kathmandu.

19th July 1987







JICA