

原 著

インドネシアにおける結核菌検査技術指導
— 培地汚染問題と塗抹鏡検担当者訓練を中心に —

藤 木 明 子

結核予防会結核研究所

受付 昭和62年3月3日

TECHNICAL GUIDANCE IN TUBERCULOSIS LABORATORY WORKS IN INDONESIA
— TECHNICAL TRANSFER OF SPUTUM CULTURE EXAMINATION
AND TRAINING OF MICROSCOPISTS —

Akiko FUJIKI *

Research Institute of Tuberculosis, JATA

(Received for publication March 3, 1987)

Technical transfer of sputum culture examination has been carried out in Medan Health Laboratory, Sumatra, Indonesia. Direct smear positive sputum and sputum specimens from TB suspects were collected in 6 institutions : Chest Disease Center, three health centers in Medan, Medan Health Laboratory and one health center in the project area. Due to the long distance to Medan Health Laboratory, sputum specimens collected in the project area were pretreated with 4% NaOH and inoculated onto 2% Kudoh media, and the culture tubes inoculated on the spot were sent to Medan Health Laboratory. Total 566 specimens were sent to Medan Health Laboratory and were cultured by the modified Kudoh swab method with 2% Kudoh medium. Out of 566 specimens, 451 specimens were free from contamination but 115 specimens (20.3%) showed either full or partial contamination.

To decrease the contamination, some improvements of sputum collection were attempted at the Chest Disease Center : namely, 1) the usage of clean, sterilized and disposable containers and 2) the storage of sputum specimens in refrigerator. Moreover, at the Medan Health Laboratory, time for sputum pretreatment with 4% NaOH was prolonged from 2 minutes to 5 minutes. As the result of these improvements, heavy contamination which made the reading of the result impossible, was not observed in the Chest Disease Center after the serial number 81.

A training course for the microscopists was held to improve and to unify their technique for direct smear examination. The participants were either microscopists or those who would be engaged as microscopists after this training in each health centers in the project area. Main subjects of the training were direct smear staining according to the Ziehl-Neelsen method and the reading of stained smear. Stained smear slides were read beforehand by a well-experienced laboratory technician, and the results of reading by

* From the Research Institute of Tuberculosis, JATA, Kiyose-shi, Tokyo 204 Japan.

trainees were compared with such difference reading. The agreement rate and disagreement rate were calculated. In this training, 4 of the 10 trainees showed agreement rates less than 80%; their experiences as microscopists were none or less than 2 years. Under - reading (reading of positive - case as negative) was more prominent than over - reading.

Key words : Technical transfer, Sputum culture examination

キーワードズ : 技術移転, 喀痰培養検査

はじめに

筆者は 1982 年, 1983 年, 1986 年と三度にわたり, JICA (Japan International Cooperation Agency : 国際協力事業団) のインドネシア共和国における「北スマトラ州アサハン地域保健対策プロジェクト」に参加し, 結核菌検査指導をする機会を得た。その経験の一部であるメダン国立衛生試験所 (以降 Medan lab. とする。) においての培養検査技術指導及び末端医療機関に

おける喀痰塗抹鏡検担当者 (以降 Microscopist とする) 訓練について報告し, 今後の海外協力, 援助の参考に供したい。

プロジェクトの概要及び結核菌検査指導要請の背景

スマトラ島 (Fig.1) は, 大小一万数千の島から成るインドネシアの中でマレー半島の西端に位置している。日本の本州の約 2 倍にあたる大きな島で, 8 つの州に分かれている。北スマトラ州はそのうちの一つで, 州都はメダンであり, インドネシア第三の都市である。

このプロジェクトは 1978 年 4 月に協力が開始され, 1989 年 3 月まで 11 年に及ぶ長期のプロジェクトである。プロジェクト実施地域は, 北スマトラ州アサハン県 7 郡 125 村, 総人口 370, 623 名 (1980 年人口統計) である。この地域は不健康地で, コレラ, マラリア, 結核, その他急性, 慢性の細菌性, 寄生虫性疾患が多くみられる。アサハン計画 (水力発電所開発及びアルミニウム精錬工場建設) による急激な地域開発に伴い, 地域住民の保健衛生の向上が図られることとなった。従ってプロジェクト内容は, マラリア対策, コレラ対策, 腸内寄生虫集団検査及び衛生教育, 水供給, 結核対策, 母子衛生, 環境化学と広い範囲に及んでいる。

結核対策の分野においては, 1980 年 6 月高井鎌二結核対策専門家兼プロジェクト・チーム・リーダー (現岐阜県高山保健所長) の着任 (1980 ~ 1984 年) と同時に協力が開始され, 様々な疫学指標が入手された。また収集された資料をもとにして, 州結核対策に対し勧告を行い, 州衛生部の結核担当官はそれをうけて, プロジェクトの実施地域内の結核対策の改善充実を図ってきた。

インドネシアの結核対策は, 1969 年まず広範囲な BCG 接種にはじまり, 次の公費負担による患者発見と治療が導入されたが, 予算上の制約から, 結核患者対策は一部の保健所で実施されているに過ぎない。保健所での患者発見は, 有症状者の喀痰塗抹鏡検で実施されている。患者の登録, 治療のための抗結核薬の投与, 喀痰塗抹検査による経過観察も保健所で行われている。保健所では, X 線検査は行われていないので, 喀痰の塗抹鏡検は結核患者対策の中核をなしている。結核対策プロ

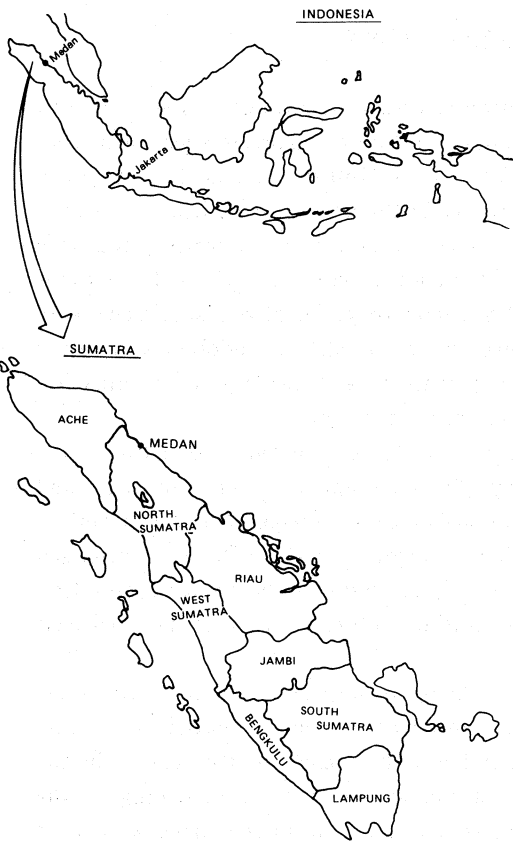


Fig. 1. Indonesia and Sumatra Island

グラム外での患者発見, 治療は各州にある国立の胸部疾患センター, 各種の公立または私立の病院, 診療所及び結核対策予算を持たない保健所でも, 一般患者診療の枠内で実施されている。しかし患者発見, 治療についての具体的方法, 技術水準は確立されていないし, 公費負担の適用も受けてはいない。

インドネシアでは, 各州に一カ所の国立の臨床検査機関があり, そこは臨床検査の中心的存在になっている。北スマトラ州においては, Medan lab. がその役割を果たしている。結核菌検査については, このプロジェクト開始以前は, Medan lab. は他の医療機関からの依頼喀痰塗抹検査を行っていたが, 件数は, 僅かであり結核菌の培養による検査は行われていなかった。また管内の結核対策実施保健所の鏡検担当者の訓練, 検査業務の技術評価, 染色液の調製配給をも業務として行っていた。従って, 本プロジェクトでの結核検査業務上の技術協力のうち, 特に力をいれたのは喀痰塗抹鏡検の技術基準の確立, 基準化された技術の普及であり, Medan lab. に対しては, 培養検査技術移転及び指導であった。これは究極の目標が, 薬剤感受性試験を行えるような技術の拡大, 充実に導くことにあったからである。

培養検査技術指導の実際

1. 検体採取と用いた培養検査法

技術指導に必要な十分な喀痰検体を得るために, メダン市内の保健所3カ所 (Pasar Merah, Labuhan Deli, Belawan), 国立胸部疾患センター (BP₄: Chest Disease Center), Medan lab. 及びプロジェクト実施地域内の保健所1カ所 (Indra Pura) 計6カ所の医療機関より喀痰塗抹陽性または結核の疑いのある患者の喀痰を採取し, Medan lab. へ運んだ。ただし, プロジェクト地域内の保健所で採取された検体は Medan

lab. までの距離が遠いため, 直ちにその場で塗抹鏡検後アルカリ処理され, 培地へ接種された。接種された培地は, 暗室温 (平均約30°C) に保存され, 定期的 (1~2週間毎) に Medan lab. へ運ばれた。

検体は胸部疾患センター, メダン市内の保健所3カ所及び Medan lab. では '82年6月~'83年3月, プロジェクトの地域内の保健所では '82年9月~'83年5月に採取されたものである。

培養検査は, 既に一部インドネシアで使われている2%工藤培地を使った Swab 法の工藤変法^{1)~3)}を用いた。工藤変法による Swab 法は Nassau による WHO-Swab 培養法を更に限られた施設, 資材で行うために工夫, 簡便化されたもので, 痰を綿棒 (Swab) につけ, 4% NaOH で2分処理し, 培養するものである。

各医療機関から集められた検体の数及び報告された塗抹結果は Table 1 に示す通りで, 総検体数は 566 検体であった。

2. 汚染問題と汚染除去

Medan lab. に集められた 566 検体のうち, 409 検体については, 再び塗抹鏡検後工藤法により培養された。残りのプロジェクト地域内の保健所で接種された 157 検体は Medan lab. に到着すると直ちに孵卵器で培養され, 両群共1週, 4週, 6週, 8週に観察された。

培養された 566 検体中 451 検体 (79.7%) は全く汚染がみられなかったが, 残り 115 検体 (20.3%) は, 全面または部分汚染を示した。そのうち 40 検体 (7.1%) については, 全面汚染で判定不能であった。全面汚染の場合は, 殆どが培地が崩れてしまう汚染で, 崩れた培地液をグラム染色で見ると, グラム陰性, 陽性の桿菌や球菌の様々な菌が認められ, 特定の菌だけが存在するものではなかった。

この汚染状況を各医療機関毎に示したものが Table 2

Table 1. Number of the Sputum Specimens Collected by Different Institutions and Results of Smear Examinations Reported

Institution		BP ₄	3 Health Centers in Medan and Medan lab.	Indra Pura	
Period		June '82 ~ March '83	June '82 ~ March '83	Sept. '82 ~ May '83	
Smear result from the institutions	Total	566 (100)	335 (100)	74 (100)	157 (100)
	Positive	365 (64.5)	289 (86.3)	35 (47.3)	41 (26.1)
	Negative	198 (35.0)	45 (13.4)	37 (50.0)	116 (73.9)
	Unknown	3 (0.5)	1 (0.3)	2 (2.7)	- (-)

Parenthesis indicates the percentage.

Table 2. Number of Sputum Culture Examination with Different Grades of Contamination on the Slants by the Different Source of Sputum Collection Observed along the Serial Number of Examinations

Serial number	Total						BP4					3 Health Centers in Medan*					Indra Pura							
	0	1	2	3	4	Total	0	1	2	3	4	Total	0	1	2	3	4	Total	0	1	2	3	4	Total
1 - 40	14	9	1	3	13	40	13	7	1	3	13	37	1	2			3							
41 - 80	25	6	2	1	6	40	20	2	2		4	20	5	4		1	2	12						
81 - 120	38		1		1	40	35					35	3		1		1	5						
121 - 160	37		2	1		40	36		1			37	1		1	1	3							
161 - 200	37	2	1			40	18					18	1		1		2	18	2					20
201 - 240	39	1				40	29					29	5	1			6	5						5
241 - 280	30		6	2	2	40	9		1			10					21							
281 - 320	30	3	2	1	4	40	13	1				14	1	1	1		*2	*5	16	1	1	5	2	30
321 - 360	35	2	2		1	40	26		1			27	6	1			8	3	1	1	1			5
361 - 400	31	4	3		2	40	9		1			10	11		1		12	11	4	1			2	18
401 - 440	30	1	4	1	4	40	25	1	2			28	4		1		3	8	1	1	1	1		4
441 - 480	34	2	4			40	11					11	1				1	22	2	4				28
481 - 520	35		1		4	40	30					30	2			4	6	3		1				4
521 - 560	32	1	4	1	2	40	21					21	3				3	8	1	4	1	2		16
561 - 566	4		1		1	6											4			1		1		6
Total (%)	451 (79.7)	31 (5.5)	34 (6.0)	10 (1.8)	40 (7.1)	566 (100)	295 (88.1)	11 (3.3)	9 (2.7)	3 (0.9)	17 (5.1)	335 (100)	44 (59.5)	9 (12.2)	6 (8.1)	2 (2.7)	13 (17.6)	74 (100)	112 (71.3)	11 (7.0)	19 (12.1)	5 (3.2)	10 (6.4)	157 (100)

(Note) Score of contamination: 0, No contamination; 1, Contamination of 1/4 surface of two slants; 2, Contamination of 2/4 surface of two slants; 3, Contamination of 3/4 surface of two slants; 4, Contamination of 4/4 surface of two slants.
 * Including one specimen collected by Medan Health Laboratory.

である。各医療機関の全面及び部分汚染を含めた汚染の割合は、胸部疾患センター 11.9% (40/355 検)、メダン市内保健所 3カ所 40.5% (30/74 検)、プロジェクト地域内保健所 28.7% (45/157 検)であった。

このような高い汚染を減らすために、Medan lab. における培地滅菌テスト、高圧滅菌器及び乾熱滅菌器の温度機能チェックを行ったが汚染原因になり得るものではなかった。最も考えられる汚染原因として、採痰容器及び検体保存の改善を胸部疾患センターにおいて試みた。即ち検体は、膿盆の様な滅菌されていない容器に採取されてから採痰容器に移しかえていたのを中止し、直接患者に採痰容器に入れてもらうこととし、採取後の検体は必ず 4~5℃ の冷蔵庫に保存することを徹底させた。同時に Medan lab. では培養時に行う喀痰処理 2分を 5分とした。この二点の改善後は、Table 2 の連続番号 81 以降にみられるように、培地の 3/4 から判定不能になる全面汚染は胸部疾患センターにおいては全くみられなくなった。

プロジェクト地域保健所で採取、接種された検体においては、前処理時間を 5分にしたにもかかわらず高い汚染率がみられるのは、培養検査技術そのものに問題があるというより、培養に適当でない検体であったためではないかと考えられる。このことは特に培養検査においては採痰容器は使用されるまで清浄で無菌的であること、採取された喀痰は検査されるまで正しく保存されていることという条件が満たされなければならないし、そのための指導は重要であることを示すものである。

喀痰塗抹検査技術の普及

インドネシアではそれまで塗抹検査の標準法はなく、Kinyon-Gabette 法 (Tan-Tiam Hok 変法)⁴⁾ で染め、Bronkhorst スケールで報告する方法が一般に用いられていた。

Medan lab. においてもその方法が定着していたが、染色法においては Kinyon 液より Ziehl 液の方が使用するフクシン粉末の量が少なくて済み、染色標本のできむらが少なく鏡検しやすいこと、また国際的に広く使われていることなどから Ziehl-Neelsen (WHO 変法) 法に切り換えた。

1984 年になってインドネシアの喀痰塗抹検査の標準法が確立された。即ち Kinyon-Gabette 法または Ziehl-Neelsen 法で染め、結果報告は IUAT スケール⁵⁾ を用いるというものである。この標準法が確立されてから 2年後に、Medan lab. においても IUAT スケールが取り入れられ、Medan lab. における喀痰塗抹検査は Ziehl-Neelsen 染色法/ IUAT スケールと統一された。これをきっかけとして結核対策の最前線の戦力となっている末端医療機関への標準化された塗抹検査技術の普及が急務となった。

Table 3 は Bronkhorst スケールと IUAT スケールを示したものである。Bronkhorst スケールは菌の存在に重きをおいているのに対し、IUAT スケールは臨床的意義の点から菌数を分類している。

1. Microscopist 訓練

プロジェクト地域内の保健所で働いている Micros-

Table 3. Bronkhorst Scale and IUAT Scale for the Smear Examination

Bronkhorst scale	Report	IUAT scale
0 / Whole Smear	(-)	0 / 100 Fields
.....	(±)	1~ 9 / 100 Fields, Report exact figure
1~ 40 / Whole Smear	(+)	10~99 / 100 Fields
1~ 20 / 10 Fields	(++)	1~10 / Field
21~ 60 / 10 Fields	(+++)	10</ Field
61~120 / 10 Fields	(++++)
121</ 10 Fields	(+++++)

Numerator indicates the number of bacteria.

Table 4. Situation of Microscopy Laboratory in Health Centers

Health center	Microscope (years used)	Condition of microscope	No. of smear examination per month
1 Gambir-Baru-Kisaran	Monocular (10 ys)	Good	20
2 Aek Songsongan	Monocular	Good	No
3 Tanjung Tiram	Monocular (5 ys)	Good	20
4 Pagurawan	Monocular (10 ys) Binocular (5 ys)	Good	50
5 Sipare Pare Indrapura	Binocular (>5 ys)	Good	45
6 Pulau Rakyat	Monocular (>10 ys) Binocular (New)	Good Ocular lens Not good	10
7 Buntu Pane	Monocular (4 ys)	Not good	20
8 Simpang Empat	Monocular (4 ys)	Good	5
9 Lima Puluh	Monocular (10 ys) Binocular (5 ys)	Good	Unknown
10 Pematang Panjang	Binocular (New)	Good	Unknown

copist またはこれから Microscopist となる人を対象に、塗抹染色技術及び塗抹鏡検技術についての講習及び訓練を行った。受講者はプロジェクト地域内各保健所から1人とし、総計10カ所10人とした。

Table 4 は訓練受講者の所属する保健所の塗抹検査室状況である。訓練内容として、塗抹染色技術については Ziehl-Neelsen 染色法/IUAT スケールを伝達した。鏡検訓練については、標本のダブルチェック法を用いた。これは Medan lab. の経験ある技術者を Standard reader として、既に読まれた標本を訓練者に読ませ、Standard reader の結果とどのように一致(または不一致)するかを統計的処理によって評価、解析するものである。不一致の場合は、Standard reader より高い grade で読んだ場合を「読み過ぎ」、低い grade で読んだ場合を「見落し」とした。

2. 塗抹鏡検結果

Cross-checking による結果は Table 5 に示す通りである。経験的に Standard reader との一致率は80%以上が Microscopist として理想であり、それ以下で

あれば再訓練が必要とされている。Table 5 によると10人の訓練者のうち4人が80%以下であり、彼等は Microscopist としての経験は全くなかったか2年以内であった。また不一致率については Fig.2 に見るように、標本中の抗酸菌を Standard reader よりも多めに読む「読み過ぎ」(Over reading)より少なめに読む「見落し」(Under reading)の傾向がみられた。

Medan lab. における結核菌検査室の今後の課題

喀痰塗抹検査のみが僅かに行われていた Medan lab. への結核菌培養検査導入は、培地の汚染除去問題に取り組むことから始められた。しかし現在では、培養検査のみならず同定検査、薬剤感受性試験などの検査技術、設備を持つインドネシアでも有数の施設になった。

このように移転された技術の質を維持するには絶えることのない毎日の検査経験の積み重ねがなければならないが、現在 Medan lab. に送られて来る検体はいまだ充分でない。送られて来る検体数の少ないことの背景には様々な問題が含まれている。その改善策として、医師及び

Table 5. Results of Cross Checking of Smears

Health center	Experi- ence as TB micro- scopist	Total cases of reading (%)	Cases of agreement (%)	Cases of disagreement		
				Total(%)	Under reading	Over reading
1 Gambir-Baru-Kisaran	8 ys	60 (100)	52 (86.7)	8 (13.3)	6	2
2 Aek Songsongan	No	60 (100)	46 (76.7)	14 (23.3)	12	2
3 Tanjung Tiram	2 ys	60 (100)	47 (78.3)	13 (21.7)	8	5
4 Pagurawan	4 ys	60 (100)	57 (95)	3 (5)	0	3
5 Sipare Pare Indrapura	5 ys	60 (100)	56 (93.3)	4 (6.7)	1	3
6 Pulau Rakyat	3 ys	60 (100)	56 (93.3)	4 (6.7)	3	1
7 Buntu Pane	4 ys	60 (100)	49 (81.7)	11 (18.3)	7	4
8 Simpang Empat	No	24 (100)	19 (79.2)	5 (20.8)	5	0
9 Lima Puluh	No	60 (100)	49 (81.7)	11 (18.3)	6	5
10 Pematang Panjang	No	40 (100)	26 (65)	14 (35)	7	7
Total		544 (100)	457 (84)	87 (16)	55	32

		Standard reader			
		(-)	G1	G2	Total
Test reader	(-)	32	15	47	Under reading
	G1	20	8	28	
	G2	3	9	12	
	Total	23	41	23	

Over reading

Fig. 2. Detail of disagreement

住民の結核に対する意識を高める工夫、患者と医療機関の距離を縮める工夫改善、末端医療機関の Microscopist の養成などがあげられよう。これらの改善を一層進められてこそ移転された技術が効果的に生まれ、文字通り技術は移転されたと言えるのではないだろうか。

おわりに

Medan lab. において結核菌検査業務が拡大、充実され末端医療機関への塗抹検査技術の普及が比較的短期間

に行われたことの大きな理由に、協力の受け入れ側の相互理解即ち何故今、その技術が必要であるか、あるいは不必要であるかの納得があったことや Medan lab. から技術者が東京清瀬の結核研究所で行われている細菌検査技術国際研修コースに参加し、技術、知識を深めたり、検査技術マニュアルを作成し、それを活用したりというその技術受け入れのための条件、素地を養うことに努力、時間を費すことが考慮されたことがあげられよう。

今後海外における医療協力はますます増える一方であ

るが、技術受け入れ側は必ずしも日本の豊富な技術、経験をそのまますぐ受け入れられる状況であるとは限らない。結核菌検査技術は塗抹検査、培養検査、同定及び感受性試験と順次高度な技術及び設備が必要とされる。またその各々の検査は独立した「点」ではなく、連続した技術の行為という「線」であり、一つ一つの確かな技術の習得、積み重ねが必要であることに、指導する上においては留意されるべきであろう。

本稿は JICA 報告書 OTA-43, 1984 年 3 月(高井その他), OTA-43, 1986 年 8 月(藤木その他)を基にまとめたものである。なお本稿を終るにあたり、ご指導、ご校閲下さいました高山市保健所長高井鏖二先生並びに結核研究所第一研究部長戸井田一郎先生に深謝致します。

文 献

- 1) 工藤祐是他：遠隔地における結核菌分離培養法の検討と提案(その1), 結核, 48 : 453, 1973
- 2) 工藤祐是他：遠隔地における結核菌分離培養法の検討と提案(その2), 結核, 48 : 501, 1973
- 3) Kudoh, S. and Kudoh, T. : Simple technique for culturing tubercle bacilli, Bull Wld Hlth Org, 51 : 71, 1974
- 4) 工藤祐是：結核菌検査, 結核予防会 : 36, 1977 版.
- 5) Technical guide for sputum examination for tuberculosis by direct microscopy, IUAT : 13, 1978.