

原 著

剖検室内でのモルモットへの結核感染実験および
結核罹患モルモットを利用しての
感染可能性の検討

穴 戸 真 司^{**}・森 亨

結核予防会結核研究所
(現国立療養所松江病院^{**})

河 合 道

元結核予防会結核研究所
受付 平成6年1月19日
受理 平成6年6月21日

EXPERIMENTAL TUBERCULOSIS INFECTION OF GUINEA PIGS IN THE
NECROPSY ROOM AND EXAMINATION OF INFECTION RISK
USING GUINEA PIGS WITH TUBERCULOSIS

Shinji SHISHIDO^{*}, Toru MORI and Michi KAWAI

(Received 19 January 1994/Accepted 21 June 1994)

The high incidence of tuberculosis among necropsy workers is well known and several problems related to their working conditions have been pointed out. We investigated the possibility of infection with tubercle bacilli under necropsy working conditions using guinea pigs housed in a necropsy room in which about 2,000 necropsies per year were carried out. Tuberculosis infection developed in one out of five guinea pigs. In addition, we exposed five guinea pigs to tubercle bacilli and sacrificed them in a safety cabinet. The lungs, livers, and spleens were resected, flattened, and sliced finely on a cutting board. Detection of tubercle bacilli from filtered air and the surfaces of the room was attempted, however, no bacilli were cultured. The resected tuberculous lungs were intra-tracheally treated with formalin or physiological saline and the viability of the bacilli in the lung was assessed. Bacilli survived up to two hours after physiological saline injection but no viable organisms were detected after 15 minutes of formalin treatment.

These findings indicate that the necropsy room workers were exposed to tuberculosis infection. As a preventive control measure, we recommend to treat tuberculous organs in the safety cabinet and to slice lungs after formalin treatment.

^{*} From the Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association (Present place of work : The Division of Respiratory Disease, National Matsue Hospital, 5-8-31 Azenogi Matsue-shi Shimane-ken 850 Japan)

Key words : Tuberculosis infection, Necropsy room, Infectious hazard, Safety-cabinet, Formalin treatment

キーワード : 結核感染, 剖検室, 感染危険, 安全キャビネット, フォルマリン処理

はじめに

解剖従事者および病理組織材料を取り扱う者に、結核発症率が高いことが推定されている。著者らも、解剖従事者からの結核発症者が多いこと、その解剖作業過程、剖検環境に問題があることを指摘した¹⁾。そこで解剖作業に伴う結核感染の可能性をモルモットを用いて実験し、感染予防対策に寄与出来ないか検討した。

方 法

実験は3種類に分けて行った。

I. 剖検室内、屋外排気排出口部におけるモルモットへの結核感染実験：年間約2000例余の解剖が行われ、そのうち結核死が主原因の剖検が30例余あるA医療施設の剖検室内でと、剖検室からの屋外排気の排出口が屋上にある排出口部にてハートレイ系雄モルモットを飼育した。モルモット15匹のツベルクリン反応が陰性であることを確かめておいた。このうちの5匹を昭和63年12月1日より平成元年2月26日まで、88日間毎日解剖の行われている剖検室にて飼育した。解剖中は剖検室内の隅の所にモルモット飼育ケージを置き、結核が強く推定された症例に遭遇した場合にはその剖検台の下に飼育ケージを移動するように努めた。解剖終了後は、剖検室に隣接している材料保管室にて飼育した。一方、残りの10匹は解剖作業中は屋上の排出口部で飼育し、解剖終了後は屋上にある部屋の中で飼育した。A医療施設で飼育後、結核研究所にて飼育を続け、ツベルクリン反応検査を施行した後解剖を行い、結核病巣の有無について検討した。

II. 結核罹患モルモットの解剖作業に伴う結核菌の空中飛散についての検討：結核研究所保存の強毒結核菌黒野株（凍結乾燥菌5mg/amp）を用いた。この菌体を滅菌生理的食塩水5mlに浮遊させ、1mg/mlおよび0.1mg/ml菌液各々0.3mlをハートレイ系雄モルモット5匹の筋肉内に接種した。結核菌接種感染後85日目に、5匹のモルモットをバイオハザード室内設置の安全キャビネット内で解剖し、かつ摘出した肺、肝、脾をスライス台上でやや乱暴に細切した。この解剖作業時に日立製 low air sampler を使用し、安全キャビネット内の空気捕集を1分間30l流量の条件下で、各モルモット2分間ずつ5回の捕集を行った。捕集口にはザルト

リユース社の滅菌ゼラチンフィルターを置いた。捕集後、結核菌以外のカビ、雑菌汚染を避けるために1%の苛性ソーダを用いて37°Cで溶解し、その溶液をメンブランフィルターで濾過した。次に濾過した濾紙を1%小川培地の平板にのせ、翌日黄変部分が元の色に戻った段階で濾紙を取り除き培養を継続した。一方、5匹のモルモット解剖作業中と感染臓器細切時に、ふたをあけて開放した状態の小川培地シャーレ6個をスライス台周辺に置いて、結核菌飛散の有無を同時に検討した。

III. 結核罹患モルモット摘出肺へのホルマリン注入による結核菌に対する影響実験：ハートレイ系雄モルモット12匹に、黒野株結核菌の筋肉内接種による人工感染を行った後66日目に解剖し肺を摘出した。この摘出肺に、気管から生理的食塩水を注入した群と、10%ホルマリン注入群に分け、経時的に肺内の結核菌生菌単位を比較検討した。肺のホルマリン固定時間は15分、30分、60分、90分、120分、24時間とした。各群の下葉の一部を切り取り生理的食塩水で洗浄後、肺組織10mgをガラスホジナイザーですり潰し、1%小川培地に接種し培養を行った。

結 果

I. 剖検室内、屋外排気排出口部におけるモルモットへの結核感染実験：A医療施設の剖検室内でと、剖検室からの排気排出口部において、昭和63年12月1日より平成元年2月26日まで飼育した。雨のため、この間5日間だけ屋外にある排出口部での飼育が出来なかった。A医療施設で飼育後、15匹のモルモットを結核研究所動物研究棟に移動し、3月2日にツベルクリン反応検査を行い全例陰性であった。3月22日再度ツベルクリン反応検査を施行したところ、剖検室飼育群の5匹中1匹が硬結を伴う発赤径17mmと陽性反応を呈し（図1）、残りの4匹は陰性であった。一方、排出口部飼育の10匹はすべて陰性であった。3月30日に、ツベルクリン反応陰性であった14匹の解剖を行ったが、肺その他の全器官には結核病巣を認めなかった。ツベルクリン反応陽性であった1匹は4月18日解剖し、肺、肝、脾に多発性結核結節を認め、この病巣部の培養で結核菌を同定確認した。図2に肺に生じた多発性結核結節の肉眼像を示した。

II. 結核罹患モルモットの解剖作業に伴う結核菌の空

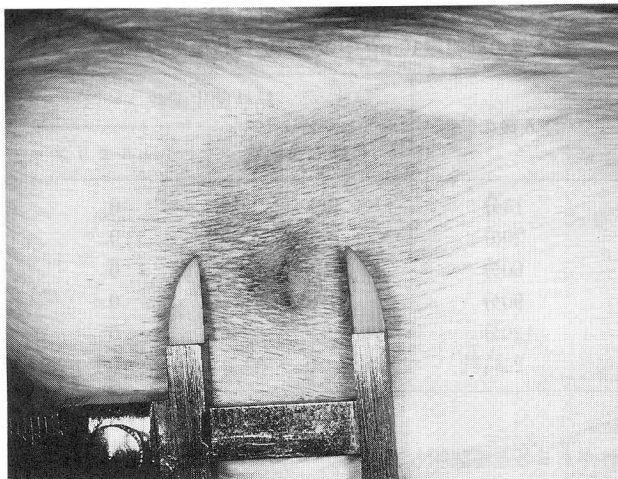


図1 剖検室内飼育モルモットのツベルクリン反応陽転像

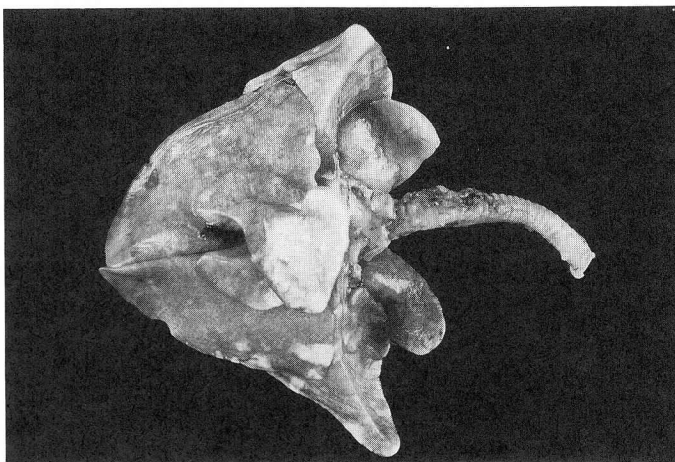


図2 剖検室内飼育モルモットの多発性結核結節を伴った結核罹患摘出肺肉眼像

中飛散についての検討：結核罹患モルモット5匹の安全キャビネット内での解剖作業中と、摘出した多発性結核結節を伴う肺、肝、脾の細切中の空気捕集結果、結核菌は捕捉されなかった。また並行して行った安全キャビネット内に置いた6個の小川培地開放シャーレへの結核菌落下もなかった。

Ⅲ. 結核罹患モルモット摘出肺へのホルマリン注入による結核菌に対する影響実験結果（表）：生理的食塩水注入群は、注入後15分から120分まで表のごとき生菌数がみられたが、10%ホルマリン注入群は15分後より生菌の証明は得られなかった。

考 案

解剖従事者に結核発症率が高いことが、諸家によって報告されている^{2)~4)}。著者ら¹⁾は、年間剖検数の多い東京都内AからEの5カ所の医療施設における解剖従事者の結核発症状況と解剖環境の実態調査を行い、解剖従事者に結核発症者が多く、解剖作業中の感染が極めて強く疑われることを報告した。そこで、解剖作業に伴う結核菌の飛散、摘出臓器のホルマリン処理による結核菌への影響についての動物実験を行った。

年間剖検数約2000例余を有すA医療施設の剖検室内で飼育したモルモット5匹のうち1匹に結核発症を生じた。このことは、解剖作業に伴い結核菌飛散が起こり、

表 結核感染モルモット剖検肺へ生理的食塩水およびフォルマリン
注入後の肺組織10mg 中の経時的結核菌生菌単位

注入後の時間	結核菌生菌数	
	生理的食塩水	フォルマリン
15分	40×10^2	0
30分	76×10^2	0
60分	51×10^2	0
90分	66×10^2	0
120分	49×10^2	0
24時間	0	0

その結果感染を生じる可能性があることを証明したことになる。結核感染モルモットから非感染モルモットへの空気感染実験⁵⁾や、結核入院患者の部屋の空気をモルモット飼育室へ送って感染せしめた実験⁶⁾は報告されている。しかし解剖室内飼育動物への結核感染報告は、著者が検索した範囲では見当たらず、今回の実験結果は感染証明に関する初めての報告であると考ええる。剖検室での飼育に際して、結核を疑われた症例に遭遇した場合には、その症例の剖検台の下に飼育ゲージを移動させる努力を行ったことが、感染を生じる結果となった一因ではと推定された。

結核菌を人工接種した結核罹患モルモットを使用して、その解剖作業に伴う結核菌飛散の有無について検討したが、菌の飛散の証拠は得られなかった。これは、実験に伴う実験者への危険性回避と実験室内の菌汚染を防ぐ目的で安全キャビネット内で行ったため、飛沫の空中飛散の程度が少なかったことが考えられる。このことは、ホルマリン未処理の結核感染臓器の取扱いに際しては、解剖室内に安全キャビネットを設置して、その中で行うことの安全性を示す結果となると考えられた。

結核罹患モルモットを利用して摘出臓器、特に肺へのホルマリン注入による結核菌の影響をみたが、ホルマリンを注入した肺からは、注入15分後より肺からの結核菌生菌はみられなかった。これはモルモットの肺は小さくて、ホルマリンが全肺に十分浸透されたこともあろうと思われる。人体の肺に、ホルマリン注入後どれ位たってから安全かは判然としないが、日本病理学会⁷⁾は、48時間後のスライス勧告を行っている。著者らが調査した5カ所の医療施設においては、A医療施設のみはホルマリン注入なしでスライスを行い、他の医療施設はホルマリン注入1時間～1時間半後にスライスを行っていた¹⁾。生理的食塩水を注入した結核罹患モルモットの肺からは、15分～120分後まで結核菌生菌が証明されていることでも明らかなように、ホルマリン注入なしの肺へのスライ

ス施行は時により危険である。一方、4医療施設で行われていた注入時間が安全かどうかは今後検討を要する。しかし、モルモットと異なり、病巣を有する人の肺にホルマリンが十分浸透し得るかどうかという点や、4医療施設の解剖従事者からも結核発症者が出ていることから勘案して、できれば48時間以上のホルマリン固定が望ましいと考える。

結 語

解剖作業に伴う結核感染の可能性を、モルモットを用いて実験した。

その結果剖検室内での結核菌感染の危険はあり得ることが証明された。なお、解剖作業に伴う感染予防対策として、結核罹患臓器取扱いに際しては安全キャビネット内での作業と、摘出肺へのホルマリン注入後のスライスが望ましいと考える。

本論文の要旨は第68回日本結核病学会総会（1993年4月、東京）にて発表した。終わりに本実験に多大のご協力を頂いた関係各所の皆様に深謝致します。

文 献

- 1) 穴戸真司, 森 亨, 徳留修身, 他 : 解剖従事者の結核発症状況と剖検環境の実態調査. 結核. 1994 ; 69 : 549-553.
- 2) Reid DD : Incidence of tuberculosis among workers in medical laboratories. British Med J. 1957 ; 2 : 10-14.
- 3) Harrington JM, Shannon HS : Incidents of tuberculosis, hepatitis, brucellosis, and shigellosis in British medical laboratory workers. British Med J. 1976 ; 1 : 759-762.
- 4) Sugita M, Tsutsumi Y, Suchi M, et al. : Pulmonary tuberculosis : An occupational

- hazared for pathologists and pathology technicians in Japan. *Acta pathologica Japonica*. 1990 ; 40 : 116-127.
- 5) Lurie MB : Experimental epidemiology of tuberculosis Air-borne contagion of tuberculosis in an animal room. *J Experimentary Med*. 1930 ; 51 : 743-751.
- 6) Riley RL, Mills CC, O'grady F, et al. : Infectiousness of air from a tuberculosis word Ultraviolet irradiation of infected air : Comparative infectiousness of different patients. *Am Rev Resp Dis*. 1962 ; 85 : 511-525.
- 7) 日本病理学会 : 病理学領域における感染防止対策. 日本病理学会. 1988 ; pp. 1-17.