

# *Neisseria meningitidis* および *Neisseria gonorrhoeae* は 低温で死滅するか

富山大学附属病院 研修医一年次 川口 真一

2016 年 10 月 31 日 初版  
2016 年 12 月 6 日 最終改訂

## 1 背景

髄膜炎菌 *N. meningitidis* や淋菌 *N. gonorrhoeae* は発育環境に対する要求性が複雑であることが知られている<sup>1)</sup>。臨床検査上は、これらの菌種は低温では死滅しやすいというのが通説であり、検体を冷蔵保存すべきではないとする意見が主流である<sup>2)</sup>。この考えは歴史が深く、1931 年の *The Lancet* に掲載された著者不明のレビューには既に

*the meningococcus rapidly perishes when exposed to temperatures lower than 22 °C*

と記載されている<sup>3)</sup>。

また、国立感染症研究所の「病原体検出マニュアル」では

髄膜炎菌および淋菌を輸送・保存する条件に関する様々な報告がなされているが、標準的な方法は確立されていない。特に髄液等の検体の輸送・保存に関しては、検体の状態や株の性状により適した条件が異なることが予想され、温度条件さえも定まっていない。一般的に検体は室温から 37 °C に保つようにされているが、35-37 °C では短時間で死滅することもある。低温でも死滅しやすいとされているが、髄液を冷蔵して数日間生存することもあり、また Stuart 培地では 4 °C で良好な成績が得られている。

と述べられている<sup>4)</sup>。ここでは「低温でも死滅しやすい『とされている』』という控えめな表現に注意すべきであろう。

実際、*Neisseria* 属菌が低温に弱いという一般的事実を実験的に示した報告は、著者の知る限りでは存在しない。また、細菌学の教科書にも、これらの菌種が高温や乾燥に弱いとは記載されているが、低温に弱いとは明記されていない<sup>1)</sup>。そこで本文書では、これらの菌種の低温環境への耐性を巡る研究の現状を簡潔にレビューする。

## 2 淋菌と低温の関係

淋菌は取り扱いが難しいということは歴史的に知られており、検体採取後は速やかに培養を開始することが望ましい。しかし臨床的には、検体を採取した施設が検査施設から地理的に離れている、などの理由により、直ちに培養開始することができないことも稀ではない。一方、検体を採取した医療機関で、不慣れた医師な

どが培養しようとする、淋菌だけでなく他の細菌が混入・増殖し、結果として淋菌が死滅してしまうことも稀ではない<sup>5)</sup>。そこで R. D. Stuart は、検体採取から培養開始までに時間を要する場合のための輸送培地 transport medium を開発した。輸送培地の基本的な作用は、1) 発育阻止物質を吸着する; 2) 酸化や乾燥を防ぐ; 3) 栄養を欠乏させることで他の細菌の増殖を防ぐ、というものである<sup>6)</sup>。Stuart の輸送培地を用いることで、淋菌を比較的長期間にわたり生存させることが可能であるが、時に輸送培地中で *Escherichia* 属菌などが増殖し、結果として淋菌が死滅する、という欠点もある<sup>7)</sup>。なお、J. C. Arbique らは、この Stuart の報告を引用して

*Stuart et al. initially recommended holding specimens at ambient temperature.*

と述べた<sup>8)</sup> が、Stuart は実際には

*it should be kept in the refrigerator.*

と記載しており、Arbique らの記述は事実と反する。

Stuart 以後も輸送培地の改良は続けられ、また、保存は常温と冷蔵のどちらが良いのか、という探究も続けられた。細菌学の観点からは、淋菌の自己融解は高温であるほど起こりやすいことが報告されている<sup>9,10)</sup>。市販されている輸送培地を比較した実験では、37 °C や室温より冷蔵の方が淋菌の保存に適するという報告が多い<sup>8,11-14)</sup>。一方、輸送培地によっては冷蔵すると淋菌の死滅を促すという報告もある<sup>15)</sup> が、その機序は不明である。

### 3 髄膜炎菌と低温の関係

髄膜炎菌の保存方法については、淋菌に比して報告が少ない。1969 年に U. Berger らは、3 種類の輸送培地を用いて、4 °C で髄膜炎菌を 2 週間以上にわたり生存させることに成功した<sup>16)</sup>。また、1976 年には、4 °C の冷蔵保存や -20 °C の冷凍保存で髄膜炎菌を 48 時間以上生存させたという報告がある<sup>17)</sup>。このような低温環境下では、淋菌の場合と同様に、自己融解酵素が不活化しているものと考えられる<sup>18)</sup>。その一方で、淋菌と同様に輸送培地によっては低温よりも常温の方が髄膜炎菌の生存性に優れるという報告もある<sup>19)</sup> が、これも機序は不明である。

脳脊髄液中には髄膜炎菌の発育を抑制する物質が含まれているようであり<sup>20)</sup>、こうした物質を除去することが、髄膜炎菌の保存に重要であると考えられる。

### 4 まとめ

淋菌については、4 °C などの低温環境に比して室温や 37 °C の方が保存に適するとする根拠はない。淋菌が低温環境で死滅しやすい、という説の由来は、不明である。臨床上是個々の輸送培地の特性に応じて判断すべきであるが、一般論としては淋菌の保存に際しては低温の方が好ましいと考えられる。

髄膜炎菌についても、細菌学的な一般論としては、低温環境で死滅しやすいとはいえない。ただし淋菌と同様に、輸送培地の特性によっては低温環境での保存が不適となる例がある。

## 参考文献

- 1) 吉田眞一, 柳雄介, 吉開泰信 編, 『戸田新細菌学』改訂 34 版. 東京: 南山堂; 2013. [in Japanese]
- 2) Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH *et al.* Ed., Manual of Clinical Microbiology. 9th Ed., Washington D.C.: ASM Press; 2007.
- 3) Anonymous, 'Cerebro-Spinal Fever', *The Lancet* **217**, 418-420 (1931).
- 4) 国立感染症研究所, 病原体検出マニュアル - 髄膜炎菌 *N. meningitidis* 検査マニュアル, [http://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/neisseria\\_meningitidis\\_2011.pdf](http://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/neisseria_meningitidis_2011.pdf), (2016/11/19 閲覧).
- 5) Stuart RD, 'The Diagnosis and Control of Gonorrhoea by Bacteriological Cultures; with a Preliminary Report on a New Method for Transporting Clinical Material', *Glasgow Med. J.* **27**, 131-142 (1946).
- 6) Stuart RD, Toshach SR, Patsula TM, 'The Problem of Transport of Specimens for Culture of Gonococci', *Can. J. Public Health* **45**, 73-83 (1954).
- 7) Stuart RD, 'Transport Medium for Specimens in Public Health Bacteriology', *Public Health Rep.* **74**, 431-438 (1959).
- 8) Arbique JC, Forward KR, LeBlanc John, 'Evaluation of Four Commercial Transport Media for the Survival of *Neisseria Gonorrhoeae*', *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **36**, 163-168 (2000).
- 9) Hebler BH, Young FE, 'Autolysis of *Neisseria gonorrhoeae*', *J. Bacteriol.* **122**, 385-392 (1975).
- 10) Elmros T, Sandström G, Burman L, 'Autolysis of *Neisseria gonorrhoeae*; Relation between Mechanical Stability and Viability', *Brit. J. Vener. Dis.* **52**, 246-249 (1976).
- 11) Sng EH, Rajan VS, Yeo KL *et al.*, 'The Recovery of *Neisseria gonorrhoeae* from Clinical Specimens: Effects of Different Temperatures, Transport Times, and Media', *Sex. Transm. Dis.* **9**, 74-78 (1982).
- 12) Human RP, Jones GA, 'Evaluation of Swab Transport Systems Against a Published Standard', *J. Clin. Pathol.* **57**, 762-763 (2004).
- 13) Wade JJ, Graver MA, 'Refrigeration Does Not Compromise Recovery of *Neisseria gonorrhoeae* from Charcoal Transport Swabs', *Sex. Transm. Infect.* **81**, 93-94 (2005).
- 14) Tan TY, Ng LSY, Sim DMF *et al.*, 'Evaluation of Bacterial Recovery and Viability from Three Different Swab Transport Systems', *Pathol.* **46**, 230-233 (2014).
- 15) Papp JR, Henning T, Khubbar M *et al.*, 'Recovery of *Neisseria gonorrhoeae* from 4 Commercially Available Transport Systems', *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **86**, 144-147 (2016).
- 16) Berger U, Schlez K, 'Sensitivity of *Neisseria meningitidis* to Low Temperatures', *Arch. Hyg. Bacteriol.* **153**, 560-563 (1969). [in German]
- 17) Kuzemenská P, Burian V, Nováková, 'Preservation of a *N. meningitidis* Strain by Freezing; a Model Experiment', *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A* **236**, 16-21 (1976).
- 18) Hoiby EA, Sandven P, Solberg O, 'Effect of Temperature on the Survival of *Neisseria Meningitidis*', *Acta Pathol. Immunol. Scand. Sect. B* **92**, 73-77 (1984).
- 19) Drake C, Barenfanger J, Lawhorn J *et al.*, 'Comparison of Easy-Flow Copan Liquid Stuart's and Starplex Swab Transport Systems for Recovery of Fastidious Aerobic Bacteria', *J. Clin. Microbiol.* **43**, 1301-1303 (2005).
- 20) Hassan-King M, Whittle HC, Greenwood BM, 'Inhibitory Effect of Cerebrospinal Fluid on the Growth of Meningococci and Pneumococci', *J. Clin. Pathol.* **37**, 428-432 (1984).