

髄膜炎菌（ナイセリア属菌）の細菌学的検査に関する FAQ

（第 1 版 2019 年 11 月 6 日作成）

ヒトに病気をおこすナイセリア属菌である髄膜炎菌と淋菌に関しては国立感染症研究所細菌第一部で細菌学的検査を実施することが可能です。

<よくあるご質問>

- Q1. 「菌株を送りたいのですが、どこに発送すれば良いですか？」
- Q2. 「梱包は？」
- Q3. 「どんな培地使って送れば良いですか？」
- Q4. 「培養条件は？」
- Q5. 「髄膜炎菌って、死滅しやすいと聞いたことがあるのですが、本当ですか？」
- Q6. 「冷蔵庫で保管した方が良いですか？」
- Q7. 「自分達でも保存したいけど、どうすれば良いですか？」
- Q8. 「送る菌株の準備で気をつける点は？」
- Q9. 「死菌になってしまっている様ですが、検査可能ですか？」
- Q10. 「短期間（週末など）保存したいけど、簡単な方法がありますか？」
- Q11. 「どんな検査をしてもらえますか？」
- Q12. 「お問合せ・相談窓口を教えてください。」

<回答> 以下の回答をご覧ください、お問い合わせ下さい。

Q1. 菌株を送りたいのですが、どこに発送すれば良いですか？

<発送先>

〒162-8640 東京都新宿区戸山 1-23-1

国立感染症研究所 細菌第一部

高橋英之（髄膜炎菌担当）、志牟田健（淋菌担当）

電話 03-5285-1111（内線 2227）

までお送り下さい。

◆まずは、高橋（担当）までお電話もしくはメール「hideyuki アット nih. go. jp（アッ

トは@に変換) 」にてご連絡下さい。

Q2. 梱包は？

病原体の輸送は専用の三重容器に梱包後、ジュラルミンケースに入れて「ゆうパック着払い」の常温でお送り下さい。

その発送の際には若干の決まりごとがございます。

以下のサイトをご覧ください、ご不明な点はお尋ね下さい。

<https://www.niid.go.jp/niid/images/biosafe/PDF/consignorability.pdf>

三重容器やジュラルミンケースをお持ちでない場合には当方からお送りいたしますので、相談窓口までお問い合わせ下さい。

Q3. どんな培地を使って送れば良いですか？

臨床検査で汎用されている血液寒天培地（血液の動物種は問いません）、チョコレート寒天培地で大丈夫です。

生育と自己融解による死滅を考慮すると、血液寒天培地が推奨されます。

なお、現在、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）「マスギャザリングにおける髄膜炎菌感染症の検査体制強化に資する開発研究（研究代表者：齋藤 良一）」（以後、齋藤班）でナイセリア属菌の輸送の最適化を研究・開発しております。

以下の方法でも菌体を送ることが可能ですので、ご検討下さい。

髄膜炎菌の輸送（菌株保存がある場合） ver.20190325

菌株の起眠と採取

- -80℃（または-20℃）保存したマイクロバンクから**ピース1個**を取り出し、CA培地の12時方向に接種後、**10 μLループ**でその部分から6時方向まで塗り広げる
- 35℃（5%CO₂）で16-20h培養後、**培地1/4分画程度の菌をシードスワブ** *v3号'栄研'で採取し、培地入りチューブに挿入（キャップはしっかり閉める）
- 合計**3本**採取する



20h培養後（35℃、5%CO₂）のCA培地所見

培養と輸送のタイムスケジュール

日	月	火
	起眠	スワブで採取、輸送

- 記載するラベルは下記の通り
1. 採取後、輸送①
 2. 採取後、輸送②
 3. 採取後、輸送③

輸送

採取したスワブを**二次容器***と**三次容器***で梱包し、それらを**ジュラルミンケース**を用いて室温で輸送する

*二次・三次容器は決められた組合せで用いる（カテゴリーAまたはB）



サンプルを二次容器に入れた様子
（写真ではスワブは6本あるが、実際は3本梱包する。二次容器のシッパは閉じるが、シールで密封する必要はない。）



二次容器を三次容器で梱包した様子
（三次容器の蓋はテープ等を用いて開かないようにする）



三次容器をジュラルミンケースに入れた様子

（AMED 齋藤班により開発された手法）

Q4. どんな培地を使って送れば良いですか？

「37度、5%CO₂で14～16時間」が推奨条件となります。

24時間以上の培養はナイセリア属菌の自己融解による死滅を誘導しますので避けて下さい。

Q5. 髄膜炎菌って、死滅しやすいと聞いたことがありますが、本当ですか？

はい、その通りです。

髄膜炎菌や淋菌のナイセリア属菌は細菌学的にはデリケートに扱わないと死滅してしまう菌種です。

平板に生えた菌を室温や冷蔵で保存すると数日中に完全死滅します。

Q6. 冷蔵庫で保管した方が良いですか？

冷蔵庫で保存しても数日以内に菌は死滅してしまいます。

Q7. 自分達でも保存したいけど、どうすれば良いですか？

50%グリセロール、スキムミルク、マイクロバンク等の冷凍保存で保存実績があります。

AMED 齋藤班におけるナイセリア属菌の保存の最適化を研究・開発しております。
以下の方法でも保存可能ですので、ご検討下さい。

髄膜炎菌の保存 ver.20190418

他施設から輸送された菌株

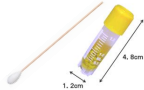


20h培養後 (35℃、5%CO²)
のCA培地所見




スワブを取り出し、**CA培地**に直接塗抹後、
16-20h培養 (35℃、
5%CO²)

培地1/4分画程度の菌をスワブで採取し、**マイクロバンク**
(マイクロバンク使用方法参照) を用いて保存 (-80℃*)
*もし無ければ-20℃で代用する




マイクロバンクの使用方法

- マーカペンを用いて保存番号をバイアルに記録します。
- ①18~24時間培養した培養液をとり、バイアル中の液体培地に濃度がマクファランド43~4に相当するように希釈させます(図1)。
- ②キャップを締め、浮遊菌がビーズに吸着するようにバイアルを穏やかに4~5回上下させます(図2)。この際、バイアルをうず状に回転させないでください。
- ③上記の操作により菌は多孔性ガラスビーズに吸着します。つぎに滅菌ピペットを用いて浮遊菌を残らず吸引します(図3)。キャップを固く締め、フリーザーに入れ保管します。



●菌株の復元

- ①バイアルをフリーザーから取り出します。バイアルの凍結融解を防ぐため、別売のアルミ製保冷スタンドを使用することを推奨します(図4)。バイアルのキャップを開け、滅菌した白金線なしピンセットを用いてビーズを1個取り出します(図5)。バイアルはキャップを締め、直ちにフリーザーに戻します。
- ②取り出したビーズを平板ないし液体培地に接種します(図6)。



イワキ株式会社HPより

(AMED 齋藤班により開発された手法)

Q8. 送る準備で気を付ける点は？

必ず一晩培養した新鮮培養菌をご用意下さい。

Q9. 死菌になってしまってる様ですが、検査可能ですか？

抗生物質の耐性度（薬剤耐性）の検査には必ず生菌が必要となるため、可能な限り生菌をお送り頂くと検査の種類とそこから得られる情報が増えます。

残念ながら死滅してしまった場合にも DNA のみで血清群の推定など、検査可能な項目もございますので、死菌体も生菌同様にお送り下さい。

Q10. 短期間（週末など）保存したいけど、簡単な方法はありますか？

もっとも簡略な方法は新鮮培養菌を綿棒にできるだけ多く掻き取り、滅菌チューブに入れて冷凍保存（-70 度が推奨ですが、-30 度でも可）して下さい。

その綿棒を血液寒天培地に塗布して一晚培養すると翌日にはナイセリア属菌が生えてきます。

Q11. どんな検査をしてもらえますか？

髄膜炎菌は菌種を同定されてから問い合わせをするケースが多いので、通常は

@血清群

@遺伝子型

@予防内服に使用されるシプロフロキサシン、リファンピシンに対する薬剤耐性

を検査します。

「ナイセリア属菌らしいが、確定してほしい」という場合にも対応致しますのでお問い合わせ下さい。

Q12. お問い合わせ・相談窓口を教えてください。

<お問い合わせ・相談窓口>

国立感染症研究所 細菌第一部

高橋英之（代表窓口）

電話：03-5285-1111（内線 2227）

メールアドレス：hideyuki アット nih. go. jp（アットは@に変換）

◆ナイセリア属菌の検査に対応可能な各種専門の検査員がおりますので、広く対応させていただきます。

◆まずは、お電話もしくはEメールにて高橋（代表窓口）までご連絡ください。