

# 細菌検査 塗抹・培養 ガイドライン

## 第2版

一般社団法人日本衛生検査所協会

# 目 次

<b>I. 塗抹・染色・鏡検</b> . . . . .	<b>2 頁</b>
1. 【グラム染色】 . . . . .	2 頁
2. 【その他の染色】 . . . . .	2 頁
3. 【報告様式】 . . . . .	2 頁
4. 【菌量等表現】 . . . . .	2 頁
<b>II. 培養同定</b> . . . . .	<b>3 頁</b>
1. 【培養】 . . . . .	3 頁
2. 【材料別使用培地】 . . . . .	3 頁
3. 【目的菌別使用培地】 . . . . .	4 頁
4. 【同定】 . . . . .	4 頁
5. 【培地における菌量表現】 . . . . .	4 頁
6. 【材料別釣菌基準】 . . . . .	5 頁
7. 【常在菌の混入が避けられない材料での“病原菌 陰性”報告について】 . . . . .	7 頁
8. 【目的菌やその他の検査について】 . . . . .	8 頁
9. 【嫌気性菌の材料別釣菌基準】 . . . . .	9 頁
<b>III. 学術委員会委員名簿</b> . . . . .	<b>10 頁</b>

版数	改訂履歴	発行日	備考
1	新規のため、作成	2010年12月6日	
2	内容見直しのため、改訂	2023年6月1日	

# I. 塗抹・染色・鏡検

## 1. 【グラム染色】

- ・グラム染色した標本を顕微鏡(1000倍)にて観察し、菌体の染色性、細胞所見および菌量を調べる。
- ・グラム染色は細菌の外膜構造の違いを利用した染色法であり、グラム陽性菌はクリスタル紫により濃紫色に、グラム陰性菌はサフラニンまたはフクシンにより淡紅色に染色される。
- ・形態や染色性により、菌属や菌種の推定が可能な場合もある。

## 2. 【その他の染色】

- ・髄液からクリプトコッカスを目的とする場合、墨汁染色を行い、×100 か×400 にて鏡検する。
- ・皮膚、毛髪、爪から真菌を目的とする場合、KOH 染色を行い、×100 か×400 にて鏡検する。
  - ・菌体構造のひとつである芽胞を観察する場合、芽胞染色を行い、1000 倍にて鏡検する。

## 3. 【報告様式】

- |            |          |
|------------|----------|
| 1) グラム陽性球菌 | 5) 酵母様真菌 |
| 2) グラム陽性桿菌 | 6) 白血球   |
| 3) グラム陰性球菌 | 7) 上皮細胞  |
| 4) グラム陰性桿菌 | 8) その他   |

- 1)~7) の性状につき菌量等報告を行う。  
8) その他 1)~7)以外で、必要に応じて、報告すべきものが検出した場合は報告する。

## 4. 【菌量等表現】

菌量等の表現については、以下とする。

表 現	細 菌 (鏡検倍率 1,000 倍)	細 胞 (鏡検倍率 100 倍)
( - )	認めず	認めず
( 1 + )	1 視野 <1	1 視野 <1
( 2 + )	1 視野 1~5	1 視野 1~9
( 3 + )	1 視野 6~30	1 視野 10~25
( 4 + )	1 視野 >30	1 視野 >25

(参考資料: Clinical Microbiology Procedures Handbook 4th edition.)

## II. 培養同定

### 1. 【培養】

- ・検査材料を培地へ塗布、培養することで材料中に存在する細菌を肉眼的に確認できるよう、培地上に集落(コロニー)を形成させること。
- ・検査材料や目的とする菌により使用する培地の種類や培養条件が異なる。

### 2. 【材料別使用培地】

部位	材料名	血液寒天培地	チョコレート寒天培地	BTB寒天培地 / MacConkey 寒天培地	SS寒天培地	TCBS寒天培地	増菌用培地
呼吸器	喀痰	○	○	○	—	—	—
	咽頭粘液	○	○	○	—	—	—
	鼻腔粘液	○	○	○	—	—	—
	気管支擦過物	○	○	○	—	—	—
	気管支肺胞洗浄液	○	○	○	—	—	—
	その他呼吸器由来	○	○	○	—	—	○
消化器	便	—	—	○	○	○	—
	胆汁	○	—	○	—	—	○
	その他消化器由来	○	○	○	—	—	○
泌尿器・生殖器	尿	○	—	○	—	—	—
	尿管カテーテル	○	—	○	—	—	—
	膣分泌物	○	○	—	—	—	—
	前立腺分泌物	○	○	○	—	—	○
	その他泌尿器由来	○	○	○	—	—	○
血液・穿刺液	血液 (カルチャーボトル以外)	○	○	○	—	—	○
	髄液	○	○	—	—	—	○
	胸水・腹水	○	○	—	—	—	○
	関節液	○	○	—	—	—	○
	(IVH)カテーテル	○	○	○	—	—	○
	その他の穿刺液	○	○	○	—	—	○
その他	耳漏	○	○	—	—	—	—
	褥瘡	○	—	○	—	—	—
	組織	○	○	○	—	—	○
	膿	○	○	○	—	—	—
	皮膚	○	—	○	—	—	—
	その他	○	○	○	—	—	○
培養条件		35℃	35℃	35℃	35℃	35℃	35℃
		好気培養またはCO <sub>2</sub> 培養	CO <sub>2</sub> 培養	好気培養	好気培養	好気培養	好気培養

- ・平板培地を分画して使用してはならない。市販分画培地の使用については問題ない。
- ・血液カルチャーボトルにおいて、採取より24時間以上経過しているもの、または採取時期が不明な検体は、検体受領時にサブカルチャーを実施する。
- ・髄液は、Sabouraud 培地の使用については問題ない。

### 3. 【目的菌別使用培地】

検出に特殊な培地を使用する目的菌

目的菌	選択培地	培養条件	培養時間
MRSA	MRSA スクリーニング培地	35°C 好気培養	24～48 時間
真菌(酵母類)	クロモアガーカンジダ or カンジダ GS 培地 等	35°C 好気培養	48 時間
真菌(糸状菌類)	サブロー or ポテト寒天培地 マイコセル寒天培地等	25°C 好気培養	2 週間～
<i>Bordetella pertussis</i> (百日咳菌)	チャコール or ポルデテラCFDN 寒天培地 等	35°C 好気培養	5 日間
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> (ジフテリア菌)	荒川変法培地 等	35°C 好気培養	48 時間
<i>Legionella spp.</i> (レジオネラ)	BCYE α 寒天培地, WYO α 寒天培地および MWY 寒天培地 等	35°C 好気培養	7 日間
腸管出血性大腸菌O157	CT-SMAC 培地と CHROMagar 等	35°C 好気培養	24～48 時間
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	CCDA or スキロー寒天培地 等	42°C 微好気培養	48 時間
<i>Clostridium difficile</i>	CCMA寒天培地 or CCFA寒天培地 等	35°C 嫌気培養	48 時間
<i>Clostridium perfringens</i>	GMG or 卵黄CW寒天培地 等	35°C 嫌気培養	48 時間
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (淋菌)	サイアマーチン or チョコレートポリバITEックス培地 等	35°C CO <sub>2</sub> 培養	48 時間
<i>Neisseria meningitidis</i> (髄膜炎菌)	サイアマーチン培地 等	35°C CO <sub>2</sub> 培養	48 時間
嫌気性菌	ブルセラHK寒天培地 等	35°C 嫌気培養	48～96 時間

### 4. 【同定】

- ・培養によって得られたコロニー(菌)を用い、さまざまな性状(形態学的・生化学的・免疫学的)を検査することにより、属・種までを同定する。
- ・各社により自動機器の導入や使用している試薬等は異なるが、菌量表現や釣菌基準については以下の方法を標準とする。

### 5. 【培地における菌量表現】

培地に発育した菌量の表現については、以下とする。

菌量表現	培地発育状態
( - )	未発育
( 1 + )	1/3 未満
( 2 + )	1/3 以上 2/3 未満
( 3 + )	2/3 以上
( 4 + )	培地全面

Clinical Microbiology Procedures Handbook 4th edition

- ・血液カルチャーボトルの菌量表現は行わない。

## 6. 【材料別釣菌基準】

目的菌の依頼がない場合の釣菌基準

### 1) 喀痰・咽頭粘液・鼻腔粘液(呼吸器)

釣菌対象菌	釣菌基準	備考
<i>Staphylococcus aureus</i>	(1+)以上	同定・感受性実施
CNS※	(2+)以上	
β溶血レンサ球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	検出された場合	<i>Haemophilus</i> spp.は <i>H. parainfluenzae</i> も対象とする
<i>Enterococcus</i> spp.※	(2+)以上	
腸内細菌※※※		(1+)以上
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
ブドウ糖非発酵菌※	(2+)以上	※ 優位でなければ釣菌不要 ※※ 少数でも優位ならば釣菌 ※※※ 少数でも肺炎桿菌なら釣菌
<i>Haemophilus</i> spp.※※		
<i>Moraxella catarrhalis</i> ※※		
酵母様真菌	(2+)以上	感受性未実施

優位: Normal flora より多い時

### 2) 気管支肺胞洗浄液など(呼吸器)

釣菌対象菌	釣菌基準	備考
<i>Staphylococcus aureus</i>	検出された場合	同定・感受性実施
CNS		
β溶血レンサ球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>		<i>Haemophilus</i> spp.は <i>H. parainfluenzae</i> も対象とする
<i>Enterococcus</i> spp.		
腸内細菌		釣菌対象菌以外は Normal floraとして扱う
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
ブドウ糖非発酵菌		感受性未実施
<i>Haemophilus</i> spp.		
<i>Moraxella catarrhalis</i>		
酵母様真菌	検出された場合	感受性未実施

### 3) 便・大腸粘膜(消化器)

釣菌対象菌	釣菌基準	備考
<i>Salmonella</i> spp.	検出された場合	同定・感受性実施
<i>Shigella</i> spp.		
<i>Vibrio cholerae</i>		<i>Campylobacter</i> spp.、下痢原性 大腸菌は目的菌として扱う
<i>Vibrio</i> spp.		
<i>Yersinia</i> spp.		優位な時のみ
<i>Aeromonas</i> spp.		
<i>Plesiomonas shigelloides</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	優位な時のみ	感受性未実施
<i>Klebsiella oxytoca</i>		
<i>Bacillus cereus</i>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	優位な時のみ	感受性未実施

優位: Normal flora より多い時

4) 胆汁・十二指腸液など(消化器)

釣菌対象菌	釣菌基準	備考
<i>Staphylococcus aureus</i>	検出された場合	同定・感受性実施
CNS	(1+)以上	
β溶血レンサ球菌	検出された場合	
<i>Enterococcus</i> spp.		
腸内細菌		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
ブドウ糖非発酵菌	(1+)以上	感受性未実施
酵母様真菌		

※胃液の釣菌基準は喀痰に準ずる

5) 尿(泌尿器)

釣菌対象菌	釣菌基準	備考
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	(1+)以上	同定・感受性実施
<i>Staphylococcus aureus</i>		
CNS		
β溶血レンサ球菌		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		
<i>Enterococcus</i> spp.		
腸内細菌		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(1+)以上	感受性未実施
ブドウ糖非発酵菌		
酵母様真菌		

6) 膣分泌物(泌尿器)

釣菌対象菌	釣菌基準	備考
<i>Staphylococcus aureus</i>	(1+)以上	同定・感受性実施
CNS		
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	検出された場合	
β溶血レンサ球菌		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		
<i>Enterococcus</i> spp.	(1+)以上	
腸内細菌		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
ブドウ糖非発酵菌		
<i>Haemophilus</i> spp.		
酵母様真菌	(1+)以上	感受性未実施

7) 羊水・精液など(泌尿器)

釣菌対象菌	釣菌基準	備考
<i>Staphylococcus aureus</i>	検出された場合	同定・感受性実施
CNS		
β溶血レンサ球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>		
<i>Enterococcus</i> spp.		
腸内細菌		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
ブドウ糖非発酵菌 <i>Haemophilus</i> spp.		
酵母様真菌	検出された場合	感受性未実施

8) 血液・髄液・胸水・腹水・関節液(穿刺液)

釣菌対象菌	釣菌基準	備考
全菌種	検出された場合	同定・感受性実施
酵母様真菌	検出された場合	感受性未実施

9) その他

釣菌対象菌	釣菌基準	備考
<i>Staphylococcus aureus</i>	検出された場合	同定・感受性実施
CNS※		
β溶血レンサ球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>		
<i>Enterococcus</i> spp.		
腸内細菌		
<i>Neisseria meningitidis</i>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
ブドウ糖非発酵菌 <i>Haemophilus</i> spp.		
<i>Moraxella catarrhalis</i>		
酵母様真菌	検出された場合	感受性未実施

※ 皮膚の場合釣菌不要

7. 【常在菌の混入が避けられない材料での“病原菌 陰性”報告について】

1) 呼吸器材料

釣菌対象菌を認めなかった場合、或いは釣菌基準を満たさなかった場合は、原則“Normal flora”と報告する。

2) 便

釣菌対象菌を認めなかった場合、或いは釣菌基準を満たさなかった場合は、原則“腸管内病原菌 陰性”と報告する。

但し、上記形態にて報告を実施する場合、釣菌対象は如何なる菌であり、またそれ以外は“Normal flora”または“腸管内病原菌 陰性”となることを説明し、理解を得る必要がある。

## 8. 【目的菌やその他の検査について】

※1)～6)に関しては、CLSIの判定基準に準じて判定する。

### 1) バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE)について

VREスクリーニング検査は、通常の培養同定依頼では実施しない。ただし、実施可能な体制を構築しておくことが望ましい。

### 2) ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP)について

薬剤感受性実施時、PRSP、PISP、PSSPの区別を報告する。

また、感受性未実施の場合は菌名のみを報告する。

依頼形態ならびに結果		報告菌名
感受性依頼なし		<i>Streptococcus pneumoniae</i>
感受性依頼あり	ペニシリン (R)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP)
	ペニシリン (I)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PISP)
	ペニシリン (S)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PSSP)

### 3) *Staphylococcus aureus* の報告形式について

感受性依頼の有無、オキサシリン感受性、 $\beta$ -ラクタマーゼ(ニトロセフィン法)の結果より以下の菌名を報告する。

依頼形態ならびに結果		報告菌名
感受性依頼なし		<i>Staphylococcus aureus</i>
感受性依頼あり	オキサシリン (R)	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)
	セフォキシチン (R)	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)
	オキサシリン (S)	<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)

※MSSAについては、 $\beta$ -ラクタマーゼ検査まで実施することが望ましい。

### 4) 多剤耐性緑膿菌 (MDRP)について

薬剤感受性の結果、イミペネム(R)、アミカシン(I, R)、シプロフロキサシン(R)の場合、*Pseudomonas aeruginosa*(MDRP)として報告する。

### 5) $\beta$ -ラクタマーゼ陰性アンピシリン耐性 *Haemophilus influenzae* (BLNAR)について

薬剤感受性(アンピシリン)が耐性で $\beta$ -ラクタマーゼ(ニトロセフィン法)が陰性の場合、*Haemophilus influenzae* (BLNAR)として報告する。

### 6) 基質拡張型 $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌 (ESBL)について

通常培養同定時の報告は必須としないが、技術的には実施可能な体制を構築しておく必要がある。

### 7) 薬剤耐性アシネトバクター

薬剤感受性の結果、イミペネム(R)、アミカシン(I, R)、シプロフロキサシン(R)の場合、*multi drug resistant Acinetobacter*(MDRA)として報告する。

### 8) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌

薬剤感受性の結果、メロペネム(I, R)或いは、イミペネム(I, R) 且つ、セフメタゾール(R)の場合、*carbapenem resistant Enterobacteriaceae* (CRE)として報告する。

9) 病原性大腸菌について

釣菌時、大腸菌が疑われるコロニーを3コロニー以上(推奨)釣菌し、血清型判定に用いる。  
報告には菌名と血清型別のみの報告とし、推定報告(EPEC等)は行わない。

10) 目的菌の釣菌基準について

依頼された目的菌の釣菌基準は、検出された場合(1コロニー以上)とする。

## 9. 【嫌気性菌の材料別釣菌基準】

1) 喀痰・咽頭粘液・咽頭拭い液・鼻汁(呼吸器)

グラム染色形態	釣菌基準	備考
グラム陽性球菌	釣菌対象外	同定・感受性未実施 偏性嫌気性 Normal flora とする
グラム陰性球菌		
無芽胞グラム陽性桿菌		
有芽胞グラム陽性桿菌 (クロストリジウム)	(2+)以上	同定・感受性実施
グラム陰性桿菌		

2) 気管支洗浄液など(呼吸器)

グラム染色形態	釣菌基準	備考
グラム陽性球菌	(2+)以上	感受性実施 グラム染色形態で報告 釣菌対象基準以外は感受性未実施 偏性嫌気性 Normal flora とする
グラム陰性球菌		
無芽胞グラム陽性桿菌		
有芽胞グラム陽性桿菌 (クロストリジウム)	検出された場合	同定・感受性実施
グラム陰性桿菌		

3) 胆汁・十二指腸液など(消化器)

グラム染色形態	釣菌基準	備考
グラム陽性球菌	(2+)以上	感受性実施 グラム染色形態で報告 釣菌対象基準以外は感受性未実施
グラム陰性球菌		
無芽胞グラム陽性桿菌		
有芽胞グラム陽性桿菌 (クロストリジウム)	検出された場合	同定・感受性実施
グラム陰性桿菌		

※胃液の釣菌基準は喀痰に準ずる

## 4) 尿・腔分泌物(泌尿器)

グラム染色形態	釣菌基準	備考
グラム陽性球菌	(2+)以上	感受性実施 グラム染色形態で報告
グラム陰性球菌		
無芽胞グラム陽性桿菌	釣菌対象外	感受性未実施 グラム染色形態で報告
有芽胞グラム陽性桿菌 (クロストリジウム)	(1+)以上	同定・感受性実施
グラム陰性桿菌		

## 5) 羊水・精液など(泌尿器)

グラム染色形態	釣菌基準	備考
グラム陽性球菌	(1+)以上	感受性実施 グラム染色形態で報告
グラム陰性球菌		
無芽胞グラム陽性桿菌	釣菌対象外	感受性未実施 グラム染色形態で報告
有芽胞グラム陽性桿菌 (クロストリジウム)	検出された場合	同定・感受性実施
グラム陰性桿菌		

## 6) 血液・髄液・胸水・腹水・関節液(穿刺液)

グラム染色形態	釣菌基準	備考
全菌種	検出された場合	同定・感受性実施

## 7) その他

グラム染色形態	釣菌基準	備考
グラム陽性球菌	検出された場合	同定・感受性実施
グラム陰性球菌		
無芽胞グラム陽性桿菌	釣菌対象外	感受性未実施 グラム染色形態で報告
有芽胞グラム陽性桿菌 (クロストリジウム)	検出された場合	同定・感受性実施
グラム陰性桿菌		

### Ⅲ. 学術員会委員名簿

学術委員会委員名簿 (令和5年6月現在)

	氏 名	所 属
担当副会長	近 藤 健 介	(株)ビー・エム・エル
委 員 長	近 本 陽 一	(株)福山臨床検査センター
副 委 員 長	奥 原 俊 彦	(株)福山臨床検査センター
副 委 員 長	杉 田 宏 充	(株)武蔵臨床検査所
委 員	神 谷 厚	札幌臨床検査センター(株)
委 員	金 子 寛	(株)日本微生物研究所
委 員	竹 並 健	(株)エスアールエル
委 員	山 崎 次 男	(株)ビー・エム・エル
委 員	荒 木 年 夫	(株)大阪血清微生物研究所
委 員	花 川 準 司	(株)四国中検
委 員	矢 島 佑 一	(有)久留米臨床検査センター

初版 2010年12月

2版 2023年6月

一般社団法人日本衛生検査所協会  
学 術 委 員 会