

黄色ブドウ球菌の検査

黄色ブドウ球菌の検査

検体以外からの微生物汚染がないように、器具類は全て滅菌したものを使用します。
検体が液状の場合は、均一に混合した後に内容物の一定量を採取します。
検体が固体の場合は、数箇所から少しずつ、まんべんなく採取します。
採取した検体の 25g (もしくは容易に均一化できるものは 10g) を量り採り、ストマッカー処理用の滅菌袋などに移します。

試料原液の調製および更なる希釈

液状の検体では、採取した検体を試料原液とします。
固形の検体では、以下の手順で試料原液と希釈試料液を調製します。
希釈試料液は必要に応じて希釈水で 10 倍段階希釈して調製します。

試験操作

1) 培地および希釈水

培地 : 卵黄加マンニット食塩寒天培地、ベアードパーカー寒天培地
希釈水 : 緩衝ペプトン水 (試験する検体による)

2) 培地への試料接種方法

寒天平板生培地に希釈試料液 0.1mL を滴下し、素早くコンラージ棒で全体に塗り拡げます。培地表面の水分が寒天に吸収されたことを確認し、シャーレを倒置して培養します。

3) 培養

インキュベーターで、37°C、48±2 時間培養します。

4) 判定

ベアードパーカー寒天培地

中心部が黒色または灰色の隆起した円形のコロニーで、周辺に透明帯を形成する。

卵黄加マンニット食塩寒天培地

黄色の隆起した円形のコロニーで、周辺に白濁帯を形成する。コロニー周辺の培地は黄変する。

5) 確認試験

純培養

黄色ブドウ球菌が疑われるコロニーを、1 平板あたり 2~5 釣菌し、トリプトケースソイ寒天(TSA) に接種し、37°C で 22±2 時間培養する。

同定

グラム染色

単離したコロニーから釣菌し、グラム染色する。黄色ブドウ球菌は、グラム陽性の球菌である。

コアグララーゼ反応

ブレインハートインフュージョン(BHI) ブイヨンが 2~3ml 入った少試験管に、TSA 上のコロニーから釣菌して接種し、22±2 時間培養する。一部を非選択培地に塗抹培養し、コアグララーゼ再試験用として保存する。

ウサギ血漿 0.5ml が入った少試験管に、BHI 培養液を 0.2~0.3ml 接種し、1、2、3、4、5、6、22 ±2 時間まで培養して、凝固を観察する。完全凝固、部分凝固した場合、陽性と判定する。判定が疑わしいときは、上記再試験用菌株を用いて、再度試験する。

黄色ブドウ球菌検査法

