

식품의 기준 및 규격 고시에 따른

# 식품의 미생물 시험 방법



2020.10.



**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

**MESDIA**

## Microbiology

for Clinical  
Food & Beverag  
Pharmaceutical  
Environmental  
Verterinary

Culture Media  
Quality Control Organism  
Antimicrobial Susceptibility Testing  
Environmental Monitoring  
Atmosphere Generation System  
Biochemical Diagnostics  
Immunological Diagnostics  
Molecular Diagnostics  
Process Simulation



www.mesdia.com  
Tel.02-313-4541  
Fax.02-313-4539  
일반문의 info@mesdia.com  
기술지원 techsupport@mesdia.com

설명서 또는 성적서 검색  
웹브라우저에서 [www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com) 으로 접속  
상단 검색창에서, All Documents & Support 선택



All Documents & Support

"All Documents & Support" 내에서 검색

성적서 검색을 위해, 로트번호 입력  
설명서 검색을 위해, 제품번호 입력 (Oxoid제품의 경우, 용량을 뜻하는 맨 뒤 알파벳 1글자 생략)

Oxoid 제품, 추가 사이트  
웹브라우저에서 <http://www.oxid.com/UK/blue/index.asp?c=UK&lang=EN> 접속



한글 설명서 검색

웹브라우저에서 [www.mesdia.com](http://www.mesdia.com) 으로 접속  
상단의 검색창에서 제품번호 입력  
\* 준비된 한글 설명서만 제공됩니다.



# 미생물 시험법 목차

제8.4.1	일반사항, 기구 및 재료, 시험용액의 제조 .....	4
~ 제8.4.3		
제8.4.4	배지 및 시액 .....	6
제8.4.5	세균수 .....	17
제8.4.6	세균발육시험 .....	19
제8.4.7	대장균군 .....	20
제8.4.8	대장균 ( <i>Escherichia coli</i> ) .....	26
제8.4.9	유산균수 .....	34
제8.4.10	진균수(효모 및 사상균수) .....	36
제8.4.11	살모넬라 ( <i>Salmonella spp.</i> ) .....	37
제8.4.12	황색포도상구균 ( <i>Staphylococcus aureus</i> ) .....	40
제8.4.13	장염비브리오 ( <i>Vibrio Parahaemolyticus</i> ) .....	42
제8.4.14	클로스트리디움 퍼프린젠스 ( <i>Clostridium perfringens</i> ) .....	44
제8.4.15	리스테리아 모노사이토제네스 ( <i>Listeria monocytogenes</i> ) .....	46
제8.4.16	장출혈성 대장균 ( <i>Enterohemorrhagic E. coli</i> ) .....	48
제8.4.17	여시니아 엔테로콜리티카 ( <i>Yersinia enterocolitica</i> ) .....	50
제8.4.18	바실러스 세레우스 ( <i>Bacillus cereus</i> ) .....	52
제8.4.19	캠필로박터 제주니/콜리 ( <i>Campylobacter jejuni/coli</i> ) .....	54
제8.4.20	클로스트리디움 보툴리눔 ( <i>Clostridium botulinum</i> ) .....	56
제8.4.21	크로로박터 ( <i>Cronobacter spp.</i> ).....	57
제8.4.22	탄저균( <i>Bacillus anthracis</i> ) .....	58
제8.4.23	결핵균 .....	59
제8.4.24	브루셀라 ( <i>Brucella</i> ) .....	60
부록	미생물 배양 배지 사용법과 주의사항 .....	62
부록	식품 안전을 위한 ISO 방법 .....	65
부록	배지 및 시액 가이드 .....	80
부록	Oxoid Chromogenic Media, <i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> .....	84
부록	RapID System .....	86
부록	품질관리 미생물 Quanti-Cult Plus, Culti-Loops .....	87
부록	대기 형성 시스템(AGS) .....	88

!! 본 자료는 식품의약품안전처의 "식품의 기준 및 규격"을 기반으로 하며 개정고시 제2020-70호 (2020.08.04.)를 반영하여 제작하였으며, 사용자의 편의를 위해 식품공전의 배지 및 시액에 해당하는 ThermoFisher의 Microbiology 제품 또는 대체하여 사용할 수 있는 제품을 표시한 참고용 자료입니다. 반드시, 식품공전 및 제품 매뉴얼을 함께 참고하시기 바랍니다.

미생물학적 검사를 위해서는 반드시 모든 과정이 무균적으로 수행되어야 하며 동시에 시험과정 중의 교차오염을 방지하기 위해 실험실내는 항상 청결을 유지하여야 한다.

## 4.1 일반사항

### 4.1.1 검체의 채취

- 가. 검체 채취기구는 미리 핀셋, 시약스폰 등을 몇 개씩 건열 및 화염멸균을 한 다음 검체 1건마다 바꾸어 가면서 사용하여야 한다.
- 나. 검체가 균질한 상태일 때에는 어느 일부분을 채취하여도 무방하나 불균질한 상태일 때에는 여러 부위에서 일반적으로 많은 양의 검체를 채취하여야 한다.
- 다. 미생물학적 검사를 하는 검체는 잘 섞어도 균질하게 되지 않을 수 있기 때문에 실제와는 다른 검사 결과를 가져올 경우가 많다.
- 라. 미생물학적 검사를 위한 검체의 채취는 반드시 무균적으로 행하여야 한다.
- 마. 미생물 규격이 n, c, m, M으로 표현된 경우, 정하여진 시료수(n) 만큼 검체를 채취하여 각각을 시험한다.
- 바. 소, 돼지의 도체 표면에서 시료 채취시는 금속, 알루미늄 호일 또는 골판지 등으로 된 시료채취틀이 필요하다. 금속틀을 재사용할 경우 소독수에 담근 후 증류수로 세척 및 건조시켜 사용하고 알루미늄 호일, 골판지 등은 종이로 포장하여 멸균한 후 1회용으로 사용한다.
- 사. 소 및 돼지 등의 도체는 표면(10cm×10cm)의 3개 부위에서 채취하여 검사하는 것을 원칙으로 하고 부득이한 경우에 1개 부위(흉부표면)에서 채취하여 검사할 수도 있으며, 닭의 도체는 1마리 전체를 세척하여 검사함을 원칙으로 한다.
- 아. 기타 제반사항은 제6. 검체의 채취 및 취급방법을 참고하여 따른다.

### 4.1.2 확인시험

- 가. 균의 확인시험은 국제적으로 공인된 키트(kit) 또는 장비를 이용할 수 있다. 또한, 필요한 경우 혈청형 확인시험, 독소 유전자 확인시험, 유전체 상동성 분석 시험을 추가할 수 있다.
  - 1) 혈청형 확인시험: 비브리오 혈청형 확인 (O1, O139 등), 장출혈성대장균 혈청형 확인 (O157, O111, O26 등), 살모넬라 혈청형 확인 (*Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium* 등) 등
  - 2) 독소 유전자 확인시험: 장출혈성 대장균 (VT1, VT2) 등
  - 3) 유전체 상동성 분석시험: PFGE(Pulsed-Field Gel Electrophoresis) 등
- 나. 대장균, 대장균군, 식중독균 정량검사 시 계수된 집락수가 규격치 이하일 경우 확인시험을 생략할 수 있다.
- 다. 발효제품에서 균주 확인이 필요한 경우 차세대염기서열분석기(NGS)를 활용한 유전체 분석(전장유전체, 메타게놈 등)을 할 수 있다.
- 라. 식품의약품안전처장이 필요하다고 인정하는 경우에

는 식중독균 증균배양 후 PCR 등 분자생물학적 시험법을 활용한 스크리닝 시험을 통하여 불검출로 판정할 수 있다. 다만, 유전자가 확인된 경우 분리배양 후 생화학적 검사를 통하여 해당 식중독균으로 동정되면 검출로 판정한다.

## 4.2. 기구 및 재료

- 가. 무균대(Clean bench)
- 나. 고압멸균기(Autoclave)
- 다. 원심분리기(Centrifuger)
- 라. 교반기(Stirrer)
- 마. 건조기(Dry Oven)
- 바. 배양기(Incubator), CO<sub>2</sub> 배양기, 혐기배양 Jar
- 사. 항온수조(Water Bath, 자동온도 조절기능포함)
- 아. 균질기(Stomacher 또는 Homogenizer)
- 자. 냉동 및 냉장고(-70°C Freezer 포함)
- 차. 초순수 제조장치(Ultra Pure Water System)
- 카. 집락계수기(Colony Counter)
- 타. 수소이온농도측정기(pH meter)
- 파. 피펫(1 mL, 5 mL, 10 mL 등)
- 하. 시험관(Test Tube, 18×170 mm 등)
- 거. 발효관(Durham tube, Smith tube)
- 너. 페트리접시(Petridish)
- 더. 광학현미경(Optical microscope)
- 러. 슬라이드/커버 글라스
- 머. 알콜램프, 백금이, 백금선 등
- 버. 표준항혈청(대장균, 살모넬라, 리스테리아 등)
- 서. Guinea pig(250~300 g), 마우스(12~15 g)

## 4.3 시험용액의 제조

- 가. 미생물검사용 시료는 25 g(mL)을 대상으로 검사함을 원칙으로 한다. 다만 시료량이 적은 불가피한 경우 그 이하의 양으로 검사할 수도 있다.
- 나. 미생물 정성시험에서 5개 시료를 검사하는 경우, 5개 시료에서 25 g(mL)씩 채취하여 각각 검사한다. 다만, 시료에 직접 증균배지를 가하여 배양하는 경우는 5개 시료에서 25 g(mL)씩 채취하여 섞은(pooling) 125 g(mL)을 검사할 수 있다.
- 다. 채취한 검체는 희석액을 이용하여 필요에 따라 10배, 100배, 1,000배 등 단계별 희석용액을 만들어 사용할 수 있다. 다만, 제조된 시험용액과 단계별 희석액은 즉시 실험에 사용하여야 한다.
- 라. 희석액은 멸균생리식염수, 멸균인산완충액 등을 사용할 수 있다. 단, 별도의 시험용액 제조법이 제시되는 경우 그에 따른다.
- 마. 검체를 용기 포장한 대로 채취할 때에는 그 외부를 물로 씻고 자연 건조시킨 다음 마개 및 그 하부 5~10 cm의 부근까지 70% 알코올탈지면으로 닦고, 멸균한 기구로 개봉, 또는 개관하여 2차 오염을 방지하여야 한다.
- 바. 지방분이 많은 검체의 경우는 Tween 80과 같은 세균에 독성이 없는 계면활성제를 첨가할 수 있다.
- 사. 실험을 실시하기 직전에 잘 균질화 하고 검사검체에 따라 다음과 같이 시험용액을 제조한다.
- 1) 액상검체 : 채취된 검체를 강하게 진탕하여 혼합한 것을 시험용액으로 한다.
  - 2) 반유동상검체 : 채취된 검체를 멸균 유리봉 또는 시약스폰 등으로 잘 혼합한 후 그 일정량(10~25 mL)을 멸균용기에 취해 9배 양의 희석액과 혼합한 것을 시험용액으로 한다.
  - 3) 고체검체 : 채취된 검체의 일정량(10~25 g)을 멸균된 가위와 칼 등으로 잘게 자른 후 희석액을 가해 균질기를 이용해서 가능한 한 저온으로 균질화한다. 여기에 희석액을 가해서 일정량(100~250 mL)으로 한 것을 시험용액으로 한다.
  - 4) 고체표면검체 : 검체표면의 일정면적(보통 100 cm<sup>2</sup>)을 일정량(1~5 mL)의 희석액으로 적신 멸균거즈와 면봉 등으로 닦아내어 일정량(10~100 mL)의 희석액을 넣고 강하게 진탕하여 부착균의 현탁액을 조제하여 시험용액으로 한다.
  - 5) 분말상검체 : 검체를 멸균 유리봉과 멸균 시약스폰 등으로 잘 혼합한 후 그 일정량(10~25 g)을 멸균용기에 취해 9배 양의 희석액과 혼합한 것을 시험용액으로 한다.
  - 6) 버터와 아이스크림류 : 검체 일정량(10~25g)을 멸균용기에 취해 40°C이하의 온탕에서 15분 내에 용해시킨 후 희석액을 가하여 100~250mL로 한 것을 시험용액으로 한다.
  - 7) 캡슐제품류 : 캡슐을 포함하여 검체의 일정량(10~25 g)을 취한 후 9배 양의 희석액을 가해 균질기 등을 이용하여 균질화한 것을 시험용액으로 한다.
  - 8) 냉동식품류 : 냉동상태의 검체를 포장된 상태로 40°C이하에서 될 수 있는대로 단시간에 녹여

- 용기, 포장의 표면을 70% 알코올솜으로 잘 닦은 후 상기 가.~사.의 방법으로 시험용액을 조제한다.
- 9) 칼, 도마 및 식기류 : 멸균한 탈지면에 희석액을 적셔, 검사하고자 하는 기구의 표면을 완전히 닦아낸 탈지면을 멸균용기에 넣고 적당량의 희석액과 혼합한 것을 시험용액으로 사용한다.

## 제8.4.4

# 배지

- 미생물 시험을 위한 배지 조제 시 이미 상품화된 배지의 사용이 가능하며, 사용할 경우 각 제조사별 조제법을 따를 수 있다.
- 배지 성상은 뒷편의 부록을 참조하세요.

번호	식품공전상 배지명	Oxoid/Remel 제품명** 또는 성분명	제품번호	웹 설명서
1	표준한천배지 (Plate Count Agar)	Standard Plate Count Agar APHA, 500g	CM0463B	
2	유당배지 (Lactose Broth)	Lactose Broth, 500g	CM0137B	
3	BGLB배지 (Brilliant Green Lactose Bile Broth)	Brilliant Green Bile 2% Broth, 500g * 필요시, MUG Supplement, 50mg x 10vials	CM0031B BR0071E	 
4	두배농도 BGLB배지	Brilliant Green Bile 2% Broth, 500g * 2배 농도로 조제	CM0031B	
5	Endo 한천배지 (Endo Agar)	Endo Agar Base, 500g Basic Fuchsin Indicator, 10g	CM0479B BR0050A	 
6	EMB 한천배지 (Eosin Methylene Blue Agar)	Eosin Methylene Blue Agar (Levine), 500g	CM0069B	
7	보통배지 (Nutrient Broth)	Lab-Lemco Broth (Nutrient Broth), 500g	CM0015B	
8	보통한천배지 (Nutrient Agar)	Lab-Lemco Agar (Nutrient Agar), 500g	CM0017B	
9	데스옥시콜레이트유당한천배지 (Desoxycholate Lactose Agar)	Desoxycholate Lactose Agar (DCLA), 500g	CM1081B	
10	EC 배지 (EC Broth)	EC Broth, 500g	CM0853B	
11	BCP첨가 평판측정용 한천배지 (Plate Count Agar with Bromocresol Purple)	-	-	-
12	포테이토 덱스트로즈 한천배지 (Potato Dextrose Agar)	Potato Dextrose Agar, 500g 10% 주석산 대체품: Lactic Acid 10%, 10x1mL	CM0139B - SR0021H	 

QR코드 스캔시 서로 간섭이 있으면, 나머지 부분을 가린 후 스캔하세요.

## 제8.4.4

# 배지

- 미생물 시험을 위한 배지 조제 시 이미 상품화된 배지의 사용이 가능하며, 사용할 경우 각 제조사별 조제법을 따를 수 있다.
- 배지 성상은 뒷편의 부록을 참조하세요.

번호	식품공전상 배지명	Oxoid/Remel 제품명** 또는 성분명	제품번호	웹 설명서
13	티오클리콜린산염배지 (Fluid Thioglycollate Medium)	Thioglycollate Medium USP, 500g	CM0173B	
14	난황첨가 만니톨 식염한천배지 (Mannitol Salt Agar with Egg Yolk)	Mannitol Salt Agar, 500g Egg Yolk Emulsion, 100ml	CM0085B SR0047C	 
15	BL 한천배지 (BL Agar)	-	-	
16	Alkaline 펩톤수 (Alkaline Peptone Water)	Alkaline Peptone Water, 500g	CM1028B	
17	TCBS 한천배지 (Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar)	Cholera Medium TCBS, 500g	CM0333B	
18	LIM 반유동배지 (Lysine Indole Motility Medium)	MIL Medium , 20x5ml (생배지)	R061350	
19	VP 반유동배지 (Voges-Proskauer broth)	(참고) MRVP Medium, 500g	CM0043B	
20	Purple Broth Base	Purple Broth Base, 500g Lab-Lemco Powder (Beef Extract), 500g	R454352 LP0029B	 
21	Moeller Basal 배지 (Moeller Basal Broth)	-	-	
22	ONPG 배지 (O-nitrophenyl-β-D-galacto-pyranoside Broth)	ONPG Broth, 1ml x 20ea ONPG Broth, 2ml x 500ea *참고: ONPG Discs, 50 discs	R062032 EB0169A DD0013T	  
23	TSB 배지 (Tryptic Soy Broth)	Tryptone Soya Broth, 500g	CM0129B	
24	3% Ogawa 배지	-	-	
25	TOS-MUP 배지	-	-	
26	Liver 한천배지 (Liver Agar)	-	-	
27	클로스트리디움 퍼프린젠스 한천배지 (Clostridium perfringens Agar)	-	-	
28	Selenite F 배지 (Selenite F Broth)	Selenite F Broth Base, 500g Sodium Biselenite, 100g	CM0395B LP0121A	 

QR코드 스캔시 서로 간섭이 없으면, 나머지 부분을 가린 후 스캔하세요.

## 제8.4.4

# 배지

- 미생물 시험을 위한 배지 조제 시 이미 상품화된 배지의 사용이 가능하며, 사용할 경우 각 제조사별 조제법을 따를 수 있다.
- 배지 성상은 뒷편의 부록을 참조하세요.

번호	식품공전상 배지명	Oxoid/Remel 제품명** 또는 성분명	제품번호	웹 설명서
29	SS 한천배지 (Salmonella Shigella Agar)	SS Agar, 500g	CM0099B	
30	MacConkey 한천배지 (MacConkey Agar)	MacConkey Agar No.3, 500g	CM0115B	
31	Desoxycholate Citrate 한천배지 (Desoxycholate Citrate Agar)	Desoxycholate Citrate Agar (Hynes), 500g	CM0227B	
32	TSI 사면배지 (Triple Sugar Iron Agar)	Triple Sugar Iron Agar, 500g	CM0277B	
33	Cooked Meat 배지 (Cooked Meat Medium)	Cooked Meat Medium, 500g	CM0081B	
34	GAM 배지 (Gifu Anaerobic Medium)	-	-	
35	Listeria 증균배지 (Listeria Enrichment Broth)	Listeria Enrichment Broth, 500g	CM0862B	
		Listeria Selective Enrichment Supplement, 10vials 대체품: Listeria Selective Enrichment Supplement (Modified), 10vials	SR0141E SR0149A	 
36	UVM Modified Listeria 증균배지 (UVM Modified Listeria Enrichment Broth)	Listeria Enrichment Broth - UVM 1 Broth (Complete), 500g	CM1054B	
		Listeria Enrichment Broth Base (UVM formulation), 500g	CM0863B	
		Listeria Primary Selective Enrichment Supplement (UVM I), 10vials	SR0142E	
37	Fraser Listeria 배지 (Fraser Listeria Broth)	Fraser Broth Base, 500g	CM0895B	
		Fraser Supplement, 10vials	SR0156E	
38	Oxford 한천배지 (Oxford Agar)	Listeria Selective Agar Base (Oxford), 500g	CM0856B	
		Listeria Selective Supplement (Oxford), 10vials	SR0140E	
		대체품: Modified Listeria Selective Supplement(Oxford), 10vials	SR0206E	

QR코드 스캔시 서로 간섭이 있으면, 나머지 부분을 가린 후 스캔하세요.

## 제8.4.4

# 배지

- 미생물 시험을 위한 배지 조제 시 이미 상품화된 배지의 사용이 가능하며, 사용할 경우 각 제조사별 조제법을 따를 수 있다.
- 배지 성상은 뒷편의 부록을 참조하세요.

번호	식품공전상 배지명	Oxoid/Remel 제품명** 또는 성분명	제품번호	웹 설명서
39	LPM 한천배지 (Lithium Chloride Phenylethanol Moxalatom Agar)	LPM Agar Base, 500g	R453762	 
		Moxalatom Selective Supplement, 10vials	R450551	
40	Tryptic Soy 한천배지 (Tryptic Soy Agar)	Tryptone Soya Agar, 500g	CM0131B	
41	TSC 한천배지 (Tryptose- Sulfite-Cycloserine Agar)	Perfringens Agar Base (TSC/SFP), 500g	CM0587B	  
		Perfringens (TSC) Supplement, 10vials	SR0088E	
		Egg Yolk Emulsion, 100ml	SR0047C	
42	mEC 배지 (mEC Broth)	EC Broth (Reduced Bile Salt), 500g	CM0990B	 
		Novobiocin Supplement, 10vials	SR0181E	
43	MacConkey Sorbitol 한천 배지 (MacConkey Sorbitol Agar)	Sorbitol MacConkey Agar, 500g	CM0813B	
44	PSBB 배지 (Peptone Sorbitol Bile Broth)	-	-	
45	CIN 한천배지 (Cefsulodin Irgasan Novobiocin Agar)	Yersinia Selective (CIN) Agar Base, 500g	CM0653B	 
		Yersinia Selective Supplement, 10vials	SR0109E	
46	MYP 한천배지 (Mannitol Egg Yolk Polymyxin agar)	MYP Agar Base, 500g	CM0929B	  
		Polymyxin B Supplement, 10vials	SR0099E	
		Egg Yolk Emulsion, 100ml	SR0047C	
47	HUNT (CEB) 배지 (Hunt Broth, Campylobacter Enrichment Broth)	Nutrient Broth No.2, 500g	CM0067B	 
		Campylobacter Growth Supplement (FBP), 10vials	SR0232E	
		Yeast Extract Powder, 500g	LP0021B	 
		Laked Horse Blood, 100ml	SR0048C	
		Supplement A(1리터 기준) : Sodium Cefoperazone 0.032g, Trimethoprim Lactate 0.015g, Vancomycin 0.01g, Amphotericin B 0.002g	-	
		Supplement B(1리터 기준) : Sodium Cefoperazone 0.032g, Trimethoprim Lactate 0.015g, Vancomycin 0.01g, Rifampicin 0.005g	-	

QR코드 스캔시 서로 간섭이 없으면, 나머지 부분을 가린 후 스캔하세요.

## 제8.4.4

# 배지

- 미생물 시험을 위한 배지 조제 시 이미 상품화된 배지의 사용이 가능하며, 사용할 경우 각 제조사별 조제법을 따를 수 있다.
- 배지 성상은 뒷편의 부록을 참조하세요.

번호	식품공전상 배지명	Oxoid/Remel 제품명** 또는 성분명	제품번호	웹 설명서
48	Modified Campy blood Free 한천배지 (Modified Campy blood Free Agar)	Campylobacter Blood-Free Selective Agar Base (CCDA Agar), 500g	CM0739B	
		Yeast Extract Powder, 500g	LP0021B	
		CCDA Selective Supplement, 10vials	SR0155E	
49	Abeyta-Hunt blood 한천배지 (Abeyta-Hunt blood Agar)	Heart Infusion Broth, 500g	CM1032B	
		Agar Technical No.2, 500g	LP0012B	
		Yeast Extract Powder, 500g	LP0021B	
		Laked Horse Blood, 100ml	SR0048C	
		Supplement(1리터기준): Sodium Cefoperazone 0.032 g, Rifampicin 0.005 g, Amphotericin B 0.002 g	-	
50	TPGY 배지 (Trypticase Peptone Glucose Yeast Extract Broth)	-	-	
51	Liver-Veal 난황한천배지 (Liver-Veal Egg Yolk Agar)	Egg Yolk Emulsion, 100ml	SR0047C	
52	혐기성 난황 한천배지 (Anaerobic Egg Yolk Agar)	Yeast Extract 5.0g / Tryptone 5.0 g / Proteose Peptone 20.0 g / Sodium Chloride 5.0 g / Agar 20.0 g, per liter	LP0021B / LP0042B / LP0085B / LP0005B / LP0012B	
		Egg Yolk Emulsion, 100ml	SR0047C	
53	세균수 건조필름배지 I	-	-	
54	대장균균 건조필름배지 I	-	-	
55	대장균 건조필름배지 I	-	-	
56	펩톤수 (Peptone Water)	Peptone Water, 500g	CM0009B	
57	RV 배지 (Rappaport-Vassiliadis Broth)	Rappaport-Vassiliadis (RV) Enrichment Broth, 500g	CM0669B	
58	XLD 한천배지 (Xylose Lysine Desoxycholate agar)	XLD Medium, 500g	CM0469B	
59	EE 배지 (Enterobacteriaceae Enrichment Broth)	EE Broth (Buffered Glucose Brilliant Green Bile Broth), 500g	CM0317B	

QR코드 스캔시 서로 간섭이 있으면, 나머지 부분을 가린 후 스캔하세요.

## 제8.4.4

# 배지

- 미생물 시험을 위한 배지 조제 시 이미 상품화된 배지의 사용이 가능하며, 사용할 경우 각 제조사별 조제법을 따를 수 있다.
- 배지 성상은 뒷편의 부록을 참조하세요.

번호	식품공전상 배지명	Oxoid/Remel 제품명** 또는 성분명	제품번호	웹 설명서
60	CESA 한천배지 (Chromogenic Enterobacter sakazakii Agar)	Brilliance Enterobacter sakazakii Agar (DFI), 500g	CM1055B	
61	VRBG 한천배지 (Violet Red Bile Glucose Agar)	Violet Red Bile Glucose Agar, 500g	CM0485B	
62	E. sakazakii 한천배지 (E. sakazakii Agar)	-	-	
63	Baird-Parker 한천배지 (Baird-Parker Agar)	Baird-Parker Agar Base, 500g Egg Yolk Tellurite Emulsion, 100ml	CM0275B SR0054C	 
64	Bismuth Sulfite 한천배지 (Bismuth Sulfite Agar)	Bismuth Sulphite Agar, 500g	CM0201B	
65	PALCAM 한천배지 (Polymyxin Acriflavin LiCl Cefotaxime Esculin Mannitol Agar)	PALCAM Agar Base, 500g PALCAM Selective Supplement, 10vials	CM0877B SR0150E	 
66	TC-SMAC 한천배지 (Tellurite Cefixime- Sorbitol MacConkey Agar)	Sorbitol MacConkey Agar, 500g C-T (Cefixime Tellurite) Supplement, 10vials	CM0813B SR0172E	 
67	Baird-Parker PRF 한천배지 (Baird-Parker RPF Agar)	Baird-Parker RPF Agar Base, 500g RPF Supplement, 10vials [또는 생배지 세트] Baird-Parker RPF Agar(BO0290J, 10x90ml) & Supplement(SR0122A, 10vials)	CM0961B SR0122A BO0290J- SET	  
68	Bolton 배지 (Bolton Broth)	Bolton Broth Base, 500g Bolton Broth Selective Supplement, 10vials Laked Horse Blood, 100ml [SR0183E 대체 추천] Modified Bolton Broth Selective Supplement, 10vials	CM0983B SR0183E SR0048C SR0208E	   
69	세균수 건조필름배지 II	-	-	
70	대장균군 건조필름배지 II	-	-	
71	대장균 건조필름배지 II	-	-	
72	MMGM (Minerals Modified Glutamate medium)	Minerals Modified Glutamate medium, 500g	CM0607G	

QR코드 스캔시 서로 간섭이 없으면, 나머지 부분을 가린 후 스캔하세요.

- 미생물 시험을 위한 배지 조제 시 이미 상품화된 배지의 사용이 가능하며, 사용할 경우 각 제조사별 조제법을 따를 수 있다.
- 배지 성상은 뒷편의 부록을 참조하세요.

번호	식품공전상 배지명	Oxoid/Remel 제품명** 또는 성분명	제품번호	웹 설명서
73	BCIG 한천배지 (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl-β-D-Glucuronide (BCIG) Agar)	TBX Agar, 500g	CM0945B	
74	mTSB 배지	Tryptone Soya Broth Modified (mTSB), 500g	CM0989B	 
		Novobiocin Supplement, 10vials	SR0181E	
75	Preston 한천배지 (Preston Agar)	Campylobacter Agar Base, 500g	CM0689B	 
		Preston Campylobacter Selective Supplement, 10vials	SR0117E	
		Campylobacter Growth Supplement, 10vials	SR0232E	
		Laked Horse Blood, 100ml	SR0048C	
		[SR0117E 대체품] Modified Preston Campylobacter Supplement, 10vials	SR0204E	
76	Campy Cefex 한천배지 (Campy Cefex Agar(CCA))	Brucella Agar, 500g	R452652	  
		Campylobacter Growth Supplement, 10vials	SR0232E	
		CCDA Selective Supplement, 10vials	SR0155E	
		[또는 생배지] Campy-Cefex Agar, 10plates	R110138	
				
77	Blaser's Campylobacter 한천배지 (Blaser's Campylobacter Agar(BCA))	Blood Agar Base No. 2, 500g	CM0271B	 
		Laked Horse Blood, 100ml Supplement A(1리터 기준) : Sodium Cefoperazone 0.032g, Trimethoprim Lactate 0.015g, Vancomycin 0.01g, Amphotericin B 0.002g	SR0048C	
78	Preston 배지(Preston broth)	Nutrient Broth No. 2, 500g	CM0067B	 
		Preston Campylobacter Selective Supplement, 10vials	SR0117E	
		Laked Horse Blood, 100ml	SR0048C	
		Campylobacter Growth Supplement, 10vials	SR0232E	
		[SR0117E 대체품] Modified Preston Campylobacter Selective Supplement, 10vials	SR0204E	
				
79	혈액한천배지(Blood Agar)	Tryptone Soya Agar, 500g	CM0131B	 
		Defibrinated sheep blood, 25ml	SR0051B	

QR코드 스캔시 서로 간섭이 있으면, 나머지 부분을 가린 후 스캔하세요.

## 제8.4.4

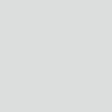
# 배지

- 미생물 시험을 위한 배지 조제 시 이미 상품화된 배지의 사용이 가능하며, 사용할 경우 각 제조사별 조제법을 따를 수 있다.
- 배지 성상은 뒷편의 부록을 참조하세요.

번호	식품공전상 배지명	Oxoid/Remel 제품명** 또는 성분명	제품번호	웹 설명서
80	Lowenstein-Jensen 사면배지	Lowenstein Jensen(L-J) Base, 500g	R453752	
		Glycerol	-	
		Homogenized whole egg	-	
		[또는 생배지] LJ Medium (F-slant), 20/Pk LJ Medium (G-slant), 20/Pk LJ Medium (G-5ml butt), 20/Pk	R08502 R09506 R09512	
81	Middlebrook 7H10 한천배지	Middlebrook 7H10 Agar, 500g	R453982	
		Glycerol	-	
		OADC Enrichment, 100ml	R450603	
		[또는 생배지] Middlebrook 7H10 Agar, 10 deep pour(26ml) plates Middlebrook 7H10 Agar, 20 slant tubes	R01600 R08562	
82	Serum Dextrose 배지 (Serum Dextrose broth)	Tryptose, 500g	LP0047B	
		Lab-Lemco powder (Beef extract), 500g	LP0029B	
		Sodium Chloride Bacteriological, 500g	LP0005B	
		Filtered horse serum, 100ml (* heat-inactivation 필요)	SR0035C	
		Dextrose Bacteriological, 500g	LP0071B	
83	Serum Dextrose 한천배지 (Serum Dextrose Agar)	Peptone Bacteriological, 500g	LP0037B	
		Meat Extract	-	
		Sodium Chloride Bacteriological, 500g	LP0005B	
		Agar Technical (Agar No.2), 500g	LP0012B	
		Fetal bovine serum	-	
		Dextrose Bacteriological, 500g	LP0071B	
84	Brucella 한천배지 (Brucella Agar)	Brucella Agar, 500g	R452652	
		defibrinated bovine serum	-	
85	Brucella 배지 (Brucella Broth)	Brucella Broth, 500g defibrinated bovine serum	R452662 -	
86	피루베이트 고형배지 (pyruvate-based solid medium)	-	-	

QR코드 스캔시 서로 간섭이 있으면, 나머지 부분을 가린 후 스캔하세요.

- 미생물 시험을 위한 배지 조제 시 이미 상품화된 배지의 사용이 가능하며, 사용할 경우 각 제조사별 조제법을 따를 수 있다.
- 배지 성상은 뒷편의 부록을 참조하세요.

번호	식품공전상 배지명	Oxoid/Remel 제품명** 또는 성분명	제품번호	웹 설명서
87	MRS 배지	MRS Agar, 500g	CM0361B	
88	Tetrathionate 배지 (Tetrathionate Broth)	Tetrathionate Broth (USA), 500g	CM0671B	  
		Iodine for Tetrathionate Broth, 100ml	R114350	
		Brilliant Green for Tetrathionate, 100ml	R114080	
89	RVS 배지 (Rappaport-Vassiliadis Soya peptone Broth)	Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth, 500g	CM0866B	
90	BG Sulfa 한천배지 (Brilliant Green Sulfa Agar)	Brilliant Green Sulfa Agar, 500g	R452622	
91	HE 한천배지 (Hektoen Enteric Agar)	Hektoen Enteric Agar, 500g	CM0419B	
92	XLT4 한천배지 (XLT4 Agar)	XLT-4 Agar	CM1061B	 
		XLT-4 Selective Supplement	SR0237C	
93	LIA 사면배지 (Lysine Iron Agar)	Lysine Iron Agar, 500g	CM0381B	
94	EC-MUG 배지	EC Broth with MUG, 500g	CM0979B	 
		EC Broth, 500g	CM0853B	
		MUG Supplement, 50mg x 10vials	BR0071E	
95	Lauryl Sulfate Tryptose (LST) Broth	Lauryl Tryptose Broth (Lauryl sulphate broth), 500g	CM0451B	  
		(필요시) MUG Supplement, 10vials (→ LST-MUG)	BR0071E	
		(또는) Lauryl Tryptose Broth with MUG, 500g (=LST-MUG)	CM0980B	
96	Violet Red Bile Agar (VRBA)	Violet Red Bile (Lactose) Agar, 500g	CM0107B	
97	ITC배지(Irgasan, Ticarcillin and potassium Chlorate broth)	-	-	-

QR코드 스캔시 서로 간섭이 있으면, 나머지 부분을 가린 후 스캔하세요.

- 미생물 시험을 위한 배지 조제 시 이미 상품화된 배지의 사용이 가능하며, 사용할 경우 각 제조사별 조제법을 따를 수 있다.
- 배지 성상은 뒷편의 부록을 참조하세요.

번호	식품공전상 배지명	Oxoid/Remel 제품명** 또는 성분명	제품번호	웹 설명서
98	PEMBA한천배지 (Polymyxin pyruvate Egg yolk Mannitol Bromothymol blue Agar)	Bacillus cereus Selective Agar (PEMBA), 500g	CM0617B	
		Polymyxin B Supplement, 10vials	SR0099E	
		Egg Yolk Emulsion, 100mL	SR0047C	
99	CCI한천배지(Chromogenic Cronobacter Isolation agar)	Chromogenic Cronobacter Isolation Agar(CCI), 500g	CM1122B	
100	ALOA 한천배지(Agar Listeria according to Ottaviani and Agosti)	Chromogenic Listeria Agar (ISO), 500g for 7.2L medium	CM1084B	
		OCLA(ISO) Selective Supplement, 10vials for 5L medium	SR0226E	
		OCLA(ISO) Differential Supplement, 10vials for 5L medium	SR0244E	

QR코드 스캔시 서로 간섭이 있으면, 나머지 부분을 가린 후 스캔하세요.

번호	식품공전상 시액명	Oxoid/Remel 제품명** 또는 성분명	제품번호	웹 설명서
1)	멸균인산 완충 희석액 (BPD: Butterfield's Phosphate Buffered Dilution Water)	Phosphate buffer, Butterfield's, 1000ml (or 10x100ml) (참고) Ringer Solution Tablets, 100tabs (1 tab for 500ml) 링거 용액 (참고) Phosphate Buffered Saline (Dulbecco A), 100tabs (1 tab for 100ml) 인산염 완충용액	R112520 (R112519) BR0052G BR0014G	  
2)	멸균생리식염수 (Saline : Sodium chloride (0.85%) solution)	Saline Tablets, 100tabs · 1 tablet으로 500ml을 제조.	BR0053G	
3)	뉴만 염색액 (NewMan Stain)	-	-	
4)	BTB-MR 지시약	-	-	
5)	젤라틴-인산완충액	Gelatin Bacteriological, 500g  Disodium phosphate 별도 첨가	LP0008B  -	
6)	Nitrite 지시약	Nitrate Reagent A, 25ml  Nitrate Reagent B, 25ml	R21239  R21242	 
7)	펩톤식염완충액 (BPW, Buffered Peptone Water)	Buffered Peptone Water, 500g	CM0509B	
8)	난황액	(참고1) Egg Yolk Emulsion, 100ml (참고2) Egg Yolk Suspension, 100ml	SR0047C R450290	 
9)	0.1% Peptone Solution (pH 7.0 +/- 0.2)	Peptone Bacteriological, Neutralized, 500g · pH 7.0 +/- 0.2 for 2% solution  Peptone Bacteriological, 500g · pH 6.2 +/- 0.2 for 2% solution · 필요시 pH 조절	LP0034B  LP0037B	 
10)	Ninhydrin 용액	Ninhydrin Reagent, 25ml BactiDrop Ninhydrin, 0.75mlx50amp	R21238 R21534	 
11)	Ziehl-Neelsen 염색액	TB Ziehl-Neelsen Carbol-fuchsin, 250ml  TB Decolorizer, 250ml  TB Methylene Blue, 250ml 또는 TB Brilliant Green, 250ml	R40102  R40106  R40110 / R40100	    
12)	루골솔루션 (iodine/potassium iodide solution)	-	-	

QR코드 스캔시 서로 간섭이 있으면, 나머지 부분을 가린 후 스캔하세요.

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

**희석액**

멸균인산완충희석액 (시액 1) : R112520

멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G

Ringer Solution Tablets, 100tabs (BR0052G)

Phosphate Buffered Saline, Dulbecco A (BR0014G)

표준한천배지(배지 1) : CM0463B

세균수 측정법은 일반세균수를 측정하는 표준평판법, 건조필름법 또는 자동화된 최확수법(Automated MPN)을 사용할 수 있다.

### 4.5.1 일반세균수

#### 가. 표준평판법

표준한천배지에 검체를 혼합 응고시켜 배양 후 발생한 세균 집락수를 계수하여 검체 중의 생균수를 산출하는 방법이다.

##### 1) 시험조작

- ① 4.3. 제조법에 따라 시험용액을 준비하고, 10배 단계 희석법으로 희석한 각 단계 희석액을 준비한다.

검액을 가하지 아니한 동일 희석액(대조시험액)은 시험조작의 무균여부를 확인한다.

- ② 시험 용액 원액 및 단계별 희석액 1ml씩을 멸균 페트리 접시 (시험용액당 2매 이상)에 첨가한다.

- ③ 제조하여 약 43~45°C로 유지한 표준한천평판 배지(배지 1) 약 15 mL를 무균적으로 분주하고 뚜껑을 닫는다.

- ④ 페트리접시 뚜껑에 부착하지 않도록 주의하면서 조용히 회전하여 좌우로 기울이면서 검체와 배지를 잘 혼합한 후 응고시킨다.

- ⑤ 응고된 배지 표면에 배지 3~5 mL를 가하여 중첩시키고 응고시킨다. (확산집락 발생 억제)

\* 검체를 취하여 배지를 가할 때까지의 시간은 20분 이상 경과하여서는 아니 된다.

- ⑥ 응고된 페트리접시는 뒤집어 35±1°C에서 48±2시간(시료에 따라서 30±1°C 또는 35±1°C에서 72±3시간) 배양한다.

\* 검액을 가하지 아니한 동일 희석액 1ml를 대조시험액으로 하여 시험 조작의 무균 여부를 확인한다.

##### 2) 집락수 산정

배양 후 생성된 집락수를 신속히 계산한다.

- 부득이할 경우에는 5°C에 보존시켜 24시간 이내에 산정한다.
- 확산집락이 없고(전면의 1/2이하 일 때에는 지장이 없음) 1개의 평판당 15~300개의 집락을 생성한 평판을 택하여 집락수를 계산하는 것을 원칙으로 한다.
- 전 평판에 300개 초과 집락이 발생한 경우 300에 가까운 평판에 대하여 밀집평판 측정법에 따라 계산한다.
- 전 평판에 15개 미만의 집락만을 얻었을 경우에는 가장 희석배수가 낮은 것을 측정한다.

3) 세균수의 기재보고

표준평판법에 있어서 검체 1 mL 중의 세균수를 기재 또는 보고할 경우에 그것이 어떤 제한된 것에서 발육한 집락을 측정할 수치인 것을 명확히 하기 위하여 1평판에 있어서의 집락수는 상당 희석배수로 곱하고 그 수치가 표준평판법에 있어서 1 mL 중(1 g 중)의 세균수 몇 개라고 기재보고하며 동시에 배양온도를 기록한다. 숫자는 높은 단위로부터 3단계에서 반올림하여 유효숫자를 2단계로 끊어 이하를 0으로 한다.

$N = \frac{\Sigma C}{(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2) \times d}$				N = 검체 g 또는 mL 당 세균 집락수 ΣC = 모든 평판에 계산된 집락수의 합 n1 = 첫 번째 희석배수에서 계산된 평판수 n2 = 두 번째 희석배수에서 계산된 평판수 d = 첫 번째 희석배수에서 계산된 평판의 희석배수			
1) 15~300 CFU/plate인 경우				2) 15 CFU/plate 미만인 경우			
구분	희석배수		CFU/g(mL)	구분	희석배수		CFU/g(mL)
	1:100	1:1,000			1:10	1:100	
집락수	232	33	24,000	집락수	14	2	120
	244	28			10	1	
$N = \frac{(232+244+33+28)}{(1 \times 2) + (0.1 \times 2) \times 10^{-2}} = 537/0.022 = 24,409 = 24,000$				$N = \frac{(14+10)}{(1 \times 2) \times 10^{-1}} = 24/0.2 = 120$			

4) 식육의 세균수 산출 방법

- 소 및 돼지 도체의 경우 균수는 도체 표면적당 집락수(CFU/cm<sup>2</sup>)로서 환산되어야 한다. 희석배수 × 10(배지 접종량이 0.1 mL일 경우) × 집락수 × 40(재료 채취 용량)/10 cm × 10 cm(1개부위 채취인 경우임, 단 3개 부위를 채취할 경우는 300 cm<sup>2</sup>로 나누어 준다)로 산출한다.
- 닭의 경우는 mL당으로 집락수를 환산한다.
- 기타 시료는 집락수 × 희석배수로 mL당 또는 g당 세균수를 산출한다.

나. 건조필름법

공전 참고

다. 자동화된 최확수법(Automated MPN)

우유류, 유당분해우유, 가공유(무지유고형분 5.5% 미만인 제품 제외), 조제유류, 분유류, 소 도체, 돼지 도체, 닭 도체, 오리 도체에 한한다.

4.5.2 총균수

주로 원유 중 오염된 세균을 측정하기 위하여 일정량의 원유를 슬라이드그라스위에 일정면적으로 도말하고 건조시켜 염색한 후 현미경으로 검경하고 염색된 세균수를 측정한다. 측정된 세균수를 현미경 시야 면적과의 관계에 따라 검체 중에 존재하는 세균수를 측정하는 방법(직접현미경법: Breed method)이다.

자세한 사항은 공전 참고

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

희석액

멸균인산완충희석액 (시액 1) : R112520

멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G

Ringer Solution Tablets, 100tabs (BR0052G)

Phosphate Buffered Saline, Dulbecco A (BR0014G)

티오글리콜린산염 배지 (배지 13) : CM0173B

장기보존식품 중 통·병조림, 레토르트식품에서 세균의 발육유무를 확인하기 위한 것이다.

가. 가온보존시험

- ① 시료 5개를 개봉하지 않은 용기·포장 그대로 35~37°C 배양기에서 10일간 보존한다.
- ② 상온에서 1일간 추가로 방치한다.
- ③ 용기·포장이 팽창 또는 새는 것은 세균발육 양성으로 하고 가온보존시험에서 음성인 것은 다음의 세균시험을 실시한다.

나. 세균시험

세균시험은 가온보존시험한 검체 5관에 대해 각각 시험한다.

- ④ 검체 5관(또는 병)의 개봉부의 표면을 70% 알코올탈지면으로 잘 닦고 개봉한다.
- ⑤ 검체 25 g을 희석액 225 mL에 가하여 균질화 시킨다.
- ⑥ 균질액 1 mL를 멸균시험관에 넣고 희석액 9 mL에 가하여 잘 혼합한 것을 시험용액으로 한다.
- ⑦ 시험용액 1 mL씩을 5개의 티오글리콜린산염 배지(배지 13)에 접종한다.
- ⑧ 35~37°C에서 48±3시간 배양한다.
- ⑨ 5관 중 어느 하나라도 세균증식이 확인되면 세균발육 양성으로 한다.

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

희석액

멸균인산완충희석액 (시액 1) : R112520

멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G

Ringer Solution Tablets, 100tabs (BR0052G)

Phosphate Buffered Saline, Dulbecco A (BR0014G)

배지

유당배지(배지 2): CM0137B

BGLB배지(배지 3): CM0031B

Endo 한천배지(배지 5): CM0479B + BR0050A

EMB 한천배지(배지 6): CM0069B

보통한천배지(배지 8): CM0017B

데스옥시콜레이트유당한천배지(DCLA)(배지 9): CM1081B

VRBA 평판배지(배지 96) : CM0107B

MacConkey한천배지(배지 30) : CM0115B

그램염색시약

Gram Stain Kit, 4x250mL (R40080)

includes 1 each of crystal violet, decolorizer, iodine, safranin and a tray

QC-Slide Gram Stain Control, 10 slides(R40140), 45 slides(R40142)

heat fixed quality control slide for Gram stain procedures

## 제8.4.7

# 대장균군 (coliforms)

대장균군은 Gram음성, 무아포성 간균으로서 유당을 분해하여 가스를 발생하는 모든 호기성 또는 통성 혐기성세균을 말한다. 대장균군 시험에는 대장균군의 유무를 검사하는 정성시험과 대장균군의 수를 산출하는 정량시험이 있다.

### 4.7.1 정성시험

#### 가. 유당배지법

유당배지를 이용한 대장균군의 정성시험은 추정시험, 확정시험, 완전시험의 3단계로 나눈다.

##### 1) 추정시험

- ① 4.3 제조법에 따라 시험용액을 준비한다.
- ② 다음처럼 유당배지 발효관을 준비하고 시험 용액당 3개 이상씩 접종, 배양한다.

사용	배지	배지 부피	시험용액 접종량	배양온도	배양시간	의심 양성 대장균군 양성
						발효관 가스 생성
필수	2배농도 유당배지(배지2)	10mL	10mL	35~37°C	24±2시간	
	1배농도 유당배지(배지2)	10mL	1mL			
	1배농도 유당배지(배지2)	10mL	0.1mL			

- ③ 발효관내에 가스 발생 유무를 확인한다.
  - 가스가 발생하면 추정시험 양성이다.
- ④ 가스가 발생하지 않은 경우, 배양을 계속하여 48±3시간까지 관찰한다
  - 가스발생이 있을 때에는 추정시험 양성이며 다음의 확정시험을 실시한다.
  - 가스가 발생하지 않았을 때에는 추정시험 음성이다.

##### 2) 확정시험

- ⑤ 추정시험에서 가스 발생한 유당배지발효관으로부터 다음 배지에 접종, 배양한다.

사용	배지	배양온도	배양시간	의심 양성 대장균군 양성
				발효관 가스 생성
필수	BGLB(배지3)	35~37°C	24±2시간	발효관 가스 생성

- ⑥ 발효관내 가스발생 여부를 확인한다.
  - 가스가 발생하지 아니하였을 때에는 배양을 계속하여 48±3시간까지 관찰한다.
  - \* BGLB배지에서 35~37°C로 48±3시간 동안 배양하였을 때 배지의 색이 갈색으로 되었을 때에는 반드시 완전시험을 실시한다.
- ⑦ 가스발생을 보인 BGLB 배지로부터 다음 배지 중 하나에 접종 및 배양한 후, 전형적인 집락이 발생되면 확정시험 양성으로 한다.

사용	배지	배양온도	배양시간	의심집락 양성		
				유당분해균 (대장균)	유당분해균 (대장균군)	유당 비분해균
선택 1	Endo 한천배지(배지5)	35~37°C	24±2시간	금색 금속성 광택의 질은 붉은 색 집락	붉은색/분홍색 집락	무색 반투명 집락
	EMB 한천배지(배지6)			녹색의 금속성 광택 의 보라색 집락	보라색 점액성 집락	무색 반투명 집락

##### 3) 완전시험

대장균군의 존재를 완전히 증명하기 위하여 위의 평판상의 집락이 그람음성, 무아포성의 간균임을 확인하고, 유당을 분해하여 가스의 발생 여부를 재확인한다.

- ⑧ 확정시험의 Endo 한천배지나 EMB한천배지에서 전형적인 집락 1개 또는 비전형적인 집락 2개 이상을 보통한천배지(배지 8)에 접종한다.
- ⑨ 35~37°C에서 48±3시간동안 배양한다.
- ⑩ 그람 염색 → 그람 음성, 무아포성 간균 → 완전시험 양성 → 대장균군 양성

## 나. BGLB법

- ① 4.3 제조법에 따라 시험용액을 준비하고 발효관을 준비한다.  
 대량의 시험용액을 가할 필요가 있을 때에는 대량의 배지를 넣은 발효관을 사용한다.
- ② 시험용액 1~0.1 mL를 2개씩 BGLB 배지(배지 3)발효관에 가한다.
- ③ 시험용액을 접종한 BGLB 배지발효관을 35~37°C에서 48±3시간 배양한다.
- ④ 발효관내에 가스 발생 유무를 확인한다.
  - 가스가 발생하면 양성이며 확정시험을 실시한다.
  - \* 배지를 흔들 때 거품 모양의 가스의 존재도 인정한다.
  - 가스가 발생하지 않았을 때에는 음성이다.

### 확정시험

- ⑤ 가스발생을 보인 BGLB 배지로부터 다음 배지 중 하나에 접종 및 배양한 후 전형적인 집락이 발생되면 확정시험 양성으로 한다.

사용	배지	배양온도	배양시간	의심집락 성상		
				유당분해균 (대장균)	유당분해균 (대장균군)	유당 비분해균
선택 1	Endo 한천배지 (배지5)	35~37°C	24±2시간	금색 금속성 광택의 짙은 붉은 색 집락	붉은색/분홍색 집락	무색 반투명 집락
	EMB 한천배지 (배지6)			녹색의 금속성 광택의 보라색 집락	보라색 점액성 집락	무색 반투명 집락

### 완전시험

대장균군의 존재를 완전히 증명하기 위하여 위의 평판상의 집락이 그람음성, 무아포성의 간균임을 확인하고, 유당을 분해하여 가스의 발생 여부를 재확인한다.

- ⑥ 확정시험의 Endo 한천배지나 EMB한천배지에서 전형적인 집락 1개 또는 비전형적인 집락 2개 이상을 각각 유당배지(배지 2)발효관과 보통한천배지(배지 8)에 동시에 접종한다.
- ⑦ 35~37°C에서 48±3시간동안 배양한다.
- ⑧ 가스 발생이 일어난 유당배지발효관에 해당되는 한천배지의 집락에 대해서 다음 시험을 한다.

그람 염색 → 그람 음성, 무아포성 간균 → 완전시험 양성 → 대장균군 양성

## 다. 데스옥시콜레이트 유당한천 배지법

- ① 4.3 제조법에 따라 시험용액을 준비하고 일련의 10배 단계 희석액을 준비한다.
- ② 시험용액 1 mL와 10배 단계 희석액 1 mL씩을 각각 멸균 페트리접시 2매 이상씩에 무균적으로 넣는다.
- ③ 약 43~45°C로 유지한 데스옥시콜레이트 유당한천배지(DCLA, 배지 9) 또는 VRBA 배지(배지 96) 약 15 mL를 무균적으로 분주한다.  
페트리접시 뚜껑에 부착하지 않도록 주의하면서 회전하여 검체와 배지를 잘 혼합한 후 응고 시킨다.
- ④ 그 표면에 동일한 배지 또는 보통한천배지를 3~5 mL를 가하여 중첩 및 응고 시킨 후 배양하여 전형적인 암적색 집락 및 의심집락에 대해서 확정시험을 실시한다.

사용	배지	배양온도	배양시간	의심집락 성상		
				유당분해균 (대장균)	유당분해균 (대장균군)	유당 비분해균
선택 1	DCLA(배지9)	35~37°C	24±2시간	Bile 침전이 있는 암적색 집락	Bile 침전이 있는 암적색 집락	무색 집락
	VRBA(배지96)			Bile 침전이 있는 붉은 색 집락	Bile 침전이 약간 있거나 혹은 없는 붉은 색 집락	무색 집락

### 확정시험

- ⑤ 전형적인 암적색의 집락을 인정하였을 때에는 1개 이상의 집락을, 의심스러운 집락 일 경우에는 2개 이상을 분리 배양을 위해 다음의 배지들 중 하나에 접종 및 배양하여, 전형적인 집락이 발생되면 확정시험 양성으로 한다.

사용	배지	배양온도	배양시간	의심집락 성상		
				유당분해균 (대장균)	유당분해균 (대장균군)	유당 비분해균
선택 1	Endo 한천배지 (배지5)	35~37°C	24±2시간	금색 금속성 광택의 짙은 붉은 색 집락	붉은색/분홍색 집락	무색 반투명 집락
	EMB 한천배지 (배지6)			녹색의 금속성 광택의 보라색 집락	보라색 점액성 집락	무색 반투명 집락
	MacConkey 배지(배지30)			Bile 침전이 있는 붉은 색 집락	Bile 침전이 있는 붉은 색 집락	담황색 집락

### 완전시험

대장균군의 존재를 완전히 증명하기 위하여 위의 평판상의 집락이 그람음성, 무아 포성의 간균임을 확인하고, 유당을 분해하여 가스의 발생 여부를 재확인한다.

- ⑥ 확정시험의 Endo 한천배지, EMB한천배지, 또는 MacConkey배지에서 전형적인 집락 1개 또는 비전형적인 집락 2개 이상을 각각 유당배지(배지 2)발효관과 보통한천배지(배지 8)에 동시에 접종한다.
- ⑦ 35~37°C에서 48±3시간동안 배양한다.
- ⑧ 가스 발생이 일어난 유당배지발효관에 해당되는 한천배지의 집락에 대해서 다음 시험을 한다.

그람 염색 → 그람 음성, 무아포성 간균 → 완전시험 양성 → 대장균군 양성

## 4.7.2 정량시험

### 가. 최확수법

최확수란 이론상 가장 가능한 수치를 말하여 동일 희석배수의 시험용액을 배지에 접종하여 대장균군의 존재 여부를 시험하고 그 결과로부터 확률론적인 대장균군의 수치를 산출하여 이것을 최확수(MPN)로 표시하는 방법이다. 최확수는 연속한 3단계 이상의 희석시료(10, 1, 0.1 또는 1, 0.1, 0.01 또는 0.1, 0.01, 0.001)를 각각 5개씩(별표 1) 또는 3개씩(별표 2) 발효관에 가하여 배양 후 얻은 결과에 의하여 검체 1 mL중 또는 1 g중에 존재하는 대장균군수를 표시하는 것이다.

예로 검체 또는 희석검체의 각각의 발효관을 5개씩 사용하여 다음과 같은 결과를 얻었다면 최확수표(별표 1)에 의하여 시험검체 1 mL중의 MPN은 70으로 된다. 이 때 접종량이 1, 0.1, 0.01 mL일 때에는  $70/10=7$ 로 한다. 10, 1, 0.1 mL일 때에는  $70/100=0.7$ 로 한다.

시험용액접종량	0.1 mL	0.01 mL	0.001 mL	MPN
가스발생양성관수	5	2	1	70

시험용액 접종이 4단계 이상으로 행하여졌을 때에는 다음 표와 같이 취급한다.

예	가스발생 양성관수				유효숫자			
	1mL	0.1mL	0.01mL	0.001mL	1mL	0.1mL	0.01mL	0.001mL
I	5	5	2	0	-	5	2	0
II	5	4	3	0	5	4	3	-
III	0	1	0	0	0	1	0	-
IV	5	3	1	1	5	3	2	-

예 I, II : 5개 양성을 표시한 최소 접종량부터 시작한다.

예 III : 양성을 인정한 접종량을 중간으로 한다.

예 IV : 최소 유효 접종량 보다 1단계 적은 접종량에서 양성을 인정한 때에는 양성을 인정한 수를 최소유효 접종량의 양성관 수에 더한다(0.001 mL 단계의 양성관의 수를 0.01단계의 양성관의 수에 더함)

#### 1) 유당배지법

- 4.3 제조법에 따른 시료액을 연속 10배 단계 희석하여 3단계이상 희석시료(10, 1, 0.1 또는 1, 0.1, 0.01 또는 0.1, 0.01, 0.001)를 준비한다.
- 시험용액을 5개 또는 3개씩의 유당배지(배지 2)발효관에 접종한다.  
단, 10mL을 접종할 때는 2배농도 유당 배지를 사용하고, 0.1mL 이하를 접종할 때는 10배 희석단계액을 각각 1mL 씩 사용한다.
- 가스발생 발효관 각각에 대하여 추정, 확정, 완전시험을 행하고 대장균군의 유무를 확인한 다음 최확수표로부터 검체 1 mL 또는 1 g중의 대장균군수를 구한다.

시험용액을 가한 배지의 전부 또는 대부분에서 가스발생이 인정되거나 또 최소량을 가한 배지의 전부 또는 대부분이 가스가 발생되지 않도록 접종량과 희석도를 고려하여야 한다.

#### 2) BGLB배지법

- 4.3 제조법에 따른 시료액을 연속 10배 단계 희석하여 3단계이상 희석시료(10, 1, 0.1 또는 1, 0.1, 0.01 또는 0.1, 0.01, 0.001)를 준비한다.
- 시험용액 5개 또는 3개씩을 BGLB배지(배지 3)발효관에 접종한다.  
단, 10mL을 접종할 때는 두배농도 BGLB 배지를 사용하고, 0.1mL 이하를 접종할 때는 10배 희석단계액을 각각 1mL 씩 사용한다.
- 가스발생 각 발효관에 대하여 BGLB배지에 의한 정성시험법에 따라 행하고 대장균군의 유무를 확인한 다음 최확수표로부터 검체 1 mL 또는 1 g중의 대장균군수를 구한다.

시험용액을 가한 배지의 전부 또는 대부분에서 가스발생이 인정되거나 또 최소량을 가한 배지의 전부 또는 대부분이 가스가 발생되지 않도록 접종량과 희석도를 고려하여야 한다.

나. 데스옥시콜레이트유당한천배지법

- ① 4.3 제조법에 따른 시험용액과 10배 단계 희석액을 준비한다.
- ② 시험용액 각 1mL에 대하여 데스옥시콜레이트유당한천배지법의 정성시험법을 따라 조작하고 35~37°C에서 24±2시간 배양한다.
- ③ 생성된 집락중 전형적인 집락 또는 의심스러운 집락에 대하여 정성시험법에 따라 대장균군의 유무를 결정한다.
- ④ 균수 산출은 제8.4.5.1 일반세균수에 따른다.

다. 건조필름법

공전 참조

라. 자동화된 최확수법(Automated MPN)

우유류, 유당분해우유, 가공유(무지유고형분 5.5%미만인 제품 제외), 발효유류, 가공치즈, 조제유류, 분유류, 건조저장육류, 식육추출가공품, 알가열제품 검사에 한한다.

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

희석액

멸균인산완충희석액 (시액 1) : R112520  
 멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G  
 Ringer Solution Tablets, 100tabs (BR0052G)  
 Phosphate Buffered Saline, Dulbecco A (BR0014G)  
 0.1% Peptone solution(시액 9): LP0034B

배지

EC 배지(배지 10): CM0853B  
 EMB 한천배지 (배지 6): CM0069B  
 유당배지 (배지 2): CM0137B  
 보통한천배지 (배지 8): CM0017B  
 BCIG 한천배지 (배지 73): CM0945B 또는 <생배지> PO5109A  
 MMGM 배지(배지 72) : CM0607G  
 EC-MUG배지(배지 94) : CM0979B (또는 CM0853B + BR0071E)  
 BGLB-MUG배지 (배지 3 + MUG) : CM0031B + BR0071E  
 LST-MUG배지 (배지 95 + MUG) : CM0980B (또는 CM0451B + BR0071E)  
 MacConkey한천배지 (배지 30): CM0115B

그람염색시약

Gram Stain Kit, 4x250mL (R40080)  
 includes 1 each of crystal violet, decolorizer, iodine, safranin and a tray  
 QC-Slide Gram Stain Control, 10 slides(R40140), 45 slides(R40142)  
 heat fixed quality control slide for Gram stain procedures

생화학적 동정키트:

RapID ONE System, 20panels/kit (R8311006)  
 + RapID Inoculation Fluid, 2mlx20tubes (R8325106)  
 + RapID Spot Indole Reagent, 15mlx1vial (R8309002)

생화학 단일 시험:

Indole 시험

Microbact Spot Indole (DMAC), 10ml (MB1448A)  
 또는 Indole Reagent, Kovac's, 25ml/bottle (R21227)  
 또는 BactiDrop Indole, Kovac's, 0.75mlx50ampules (R21522)

Methyl Red 시험

MRVP Medium, 500g (CM0043B)  
 Methyl Red Reagent, 25ml/bottle (R21236)

VP 시험

MRVP Medium, 500g (CM0043B)  
 Voges-Proskauer A reagent, 12ml (R21200) + Voges-Proskauer B reagent, 25ml (R21281)  
 또는 BactiDrop Voges-Proskauer A, 0.75mlx50ampules (R21560)  
 + BactiDrop Voges-Proskauer B, 0.75mlx50ampules (R21562)

Citrate 시험

Simmons Citrate Agar, 500g (CM0155B)

대장균의 시험법에는 최확수법 및 건조필름법에 의한 정량시험과 일정한 한도까지 균수를 정성으로 측정하는 한도시험법이 있다.

### 4.8.1 정성시험

#### 가. 한도시험

- ① 4.3 제조법에 따른 시험용액을 준비한다.
- ② 시험용액 1mL을 3개의 EC 배지(배지 10)발효관에 접종한다.
- ③ 44±1°C에서 24±2시간 배양 후 가스발생을 관찰한다.  
가스발생 발효관은 추정시험 양성. 가스발생이 인정되지 않으면 음성.
- ④ 추정시험 양성의 발효관으로부터 다음 배지에 접종 및 배양한 후 전형적인 집락을 관찰한다.

사용	배지	배양온도	배양시간	의심집락 성상		
				유당분해균 (대장균)	유당분해균 (대장균군)	유당 비분해균
필수	EMB한천배지 (배지6)	35~37°C	24±2시간	녹색의 금속성 광택 의 보라색 집락	보라색 점액성 집락	무색 반투명 집락

- ⑤ 전형적인 집락을 보통한천배지에 접종한다.
- ⑥ 35~37°C에서 24±2시간 배양한다.
- ⑦ 보통한천배지에서 배양된 집락을 취하여,  
그람 염색 : 그람 음성, 무아포성 간균을 확인  
생화학시험 (Rapid ONE System 등) 실시하여 대장균 양성으로 판정

## 4.8.2 정량시험

## 가. 최확수법

## 1) 제1법

- ① 4.3 제조법에 따른 시험용액을 연속한 3단계 이상의 희석시료(10, 1, 0.1 또는 1, 0.1, 0.01 또는 0.1, 0.01, 0.001)를 준비한다.
- ② 희석시료를 각각 5개 또는 3개의 EC 배지(배지 10) 발효관에 접종한다.  
\* 시험용액 10 mL를 첨가할 경우 2배농도의 배지 10 mL를 이용한다.
- ③ 44.0±1°C 항온수조에서 24±2시간 배양한다.
- ④ 가스발생을 인정한 발효관을 대장균(*E. coli*) 양성이라고 판정하고 별표 1 또는 별표 2 최확수표에 따라 검체 1 mL 또는 1 g 중의 대장균수를 산출한다.

## 2) 제2법

## (1) 시험용액의 제조

- ① 패각을 제거한 검체 200 g에 0.1% peptone solution(시액 9) 200mL을 첨가하여 마쇄한다.
- ② 마쇄액 20 mL과 0.1% peptone solution(시액 9) 80 mL을 혼합하여, 최종 10배 희석한 것을 시험용액으로 사용한다.  
\* 시험용액은 필요에 따라 100배, 1,000배 등으로 희석하여 사용할 수 있다.

## (2) 추정시험

- ③ 시험용액 10 mL을 5개의 2배 농도 MMGM 배지(배지 72)가 들어있는 시험관에 접종하고,  
시험용액 1 mL 및 0.1 mL을 각각 5개의 MMGM 배지가 들어있는 시험관에 접종한다.
- ④ 37±1°C에서 24±2시간 배양하고, 시험관내의 배지의 색깔을 확인한다.  
노란색으로 되었을 때 추정시험 양성으로 하며 확정시험을 실시한다.

## (3) 확정시험

- ⑤ 추정시험에서 양성으로 확인된 MMGM 시험관 배양액을 다음처럼 접종 및 분리 배양한다.

사용 필수	배지	배양온도	배양시간	대장균 양성
	BCIG 한천배지(TBX) (배지73)	44±1°C	24±2시간	청녹색(blue-green) 집락

- ⑥ 전형적인 집락이 발생되면 대장균(*E. coli*) 양성이라고 판정하고 별표 1 최확수표에 따라 검체 100 g중의 대장균수를 산출한다.

3) 유가공품·식육가공품·알가공품

가) 최확수법

- ① 4.3 제조법에 따른 시료액을 연속 10배 단계 희석하여 3단계이상 희석시료(10, 1, 0.1 또는 1, 0.1, 0.01 또는 0.1, 0.01, 0.001)를 준비한다.  
\* 시험용액을 가한 배지의 전부 또는 대부분에서 가스발생이 인정되거나 또 최소량을 가한 배지의 전부 또는 대부분이 가스가 발생되지 않도록 접종량과 희석도를 고려하여야 한다.
- ② 시험용액 5개 또는 3개씩을 BGLB배지(배지 3)발효관에 접종한다.  
단, 10mL을 접종할 때는 2배농도 BGLB 배지를 사용하고, 0.1mL 이하를 접종할 때는 10배 희석단계액을 각각 1mL 씩 사용한다.
- ③ 시험용액을 접종한 BGLB 배지발효관을 35~37°C에서 48±3시간 배양한다.
- ④ 발효관내에 가스 발생 유무를 확인한다.  
· 가스가 발생하면 양성이다.  
\* 배지를 흔들 때 거품 모양의 가스의 존재도 인정한다.  
· 가스가 발생하지 않았을 때에는 음성이다.
- ⑤ BGLB 가스생성 양성인 시험관으로부터 다음의 시험관 배지들 중 하나에 접종 및 배양하고 결과를 관찰한다.

사용	배지	배양온도	배양시간	대장균 양성
선택 1	EC-MUG배지(배지94)	44±1°C	24±2시간	자외선 조사하에 푸른 형광
	BGLB-MUG배지(배지3+MUG)			
	LST-MUG배지 (배지95+MUG)			

- ⑥ 대장균 양성으로 판정된 것을 최확수표 (별표 1 또는 별표 2)에 근거하여 대장균수를 산출한다.

나) 대장균 확인시험

최확수법에서 가스생성과 형광이 관찰된 것을 대장균 추정시험 양성으로 판정하며 확인시험을 실시한다.

- ⑦ 추정시험 양성으로 판정된 시험관으로부터 다음 배지들 중 하나에 이식 및 배양한 후 전형적인 집락을 관찰한다.

사용	배지	배양온도	배양시간	대장균 양성
선택 1	EMB배지 (배지6)	37°C	24시간	녹색 금속성 광택을 가진 보라색 집락 Bile 침전이 있는 붉은 색 집락
	MacConkey Agar (배지30)			

- ⑧ 그람염색, MUG시험, IMViC시험, 유당으로부터 가스 생성시험 등을 검사하여 최종 확인한다.

대장균은 MUG시험에서 형광이 관찰되며, 가스생성, 그람음성의 무아포간균이며, IMViC시험에서 “++--”의 결과를 나타내는 것은 대장균(*E. coli*) biotype 1로 규정한다.

생화학적 동정키트: RapID ONE System

나. 건조필름법

식품공전 참고

다. 자동화된 최확수법(Automated MPN)

자연치즈, 식육추출가공품, 닭도체, 오리도체에 한한다.

# 별표 1

별표 1. 3단계회석 시험관 5개씩 시험하였을 때 양성에 대한 최확수(95%의 신뢰한계)

양성시험관수 0.1 0.01 0.001	MPN/ g(mL)										
0 0 0	<1.8	1 0 0	2	2 0 0	4.5	3 0 0	7.8	4 0 0	13	5 0 0	23
0 0 1	1.8	1 0 1	4	2 0 1	6.8	3 0 1	11	4 0 1	17	5 0 1	31
0 0 2	3.6	1 0 2	6	2 0 2	9.1	3 0 2	13	4 0 2	21	5 0 2	43
0 0 3	5.4	1 0 3	8	2 0 3	12	3 0 3	16	4 0 3	25	5 0 3	58
0 0 4	7.2	1 0 4	10	2 0 4	14	3 0 4	20	4 0 4	30	5 0 4	76
0 0 5	9	1 0 5	12	2 0 5	16	3 0 5	23	4 0 5	36	5 0 5	95
0 1 0	1.8	1 1 0	4	2 1 0	6.8	3 1 0	11	4 1 0	17	5 1 0	33
0 1 1	3.6	1 1 1	6.1	2 1 1	9.2	3 1 1	14	4 1 1	21	5 1 1	46
0 1 2	5.5	1 1 2	8.1	2 1 2	12	3 1 2	17	4 1 2	26	5 1 2	63
0 1 3	7.3	1 1 3	10	2 1 3	14	3 1 3	20	4 1 3	31	5 1 3	84
0 1 4	9.1	1 1 4	12	2 1 4	17	3 1 4	23	4 1 4	36	5 1 4	110
0 1 5	11	1 1 5	14	2 1 5	19	3 1 5	27	4 1 5	42	5 1 5	130
0 2 0	3.7	1 2 0	6.1	2 2 0	9.3	3 2 0	14	4 2 0	22	5 2 0	49
0 2 1	5.5	1 2 1	8.2	2 2 1	12	3 2 1	17	4 2 1	26	5 2 1	70
0 2 2	7.4	1 2 2	10	2 2 2	14	3 2 2	20	4 2 2	32	5 2 2	94
0 2 3	9.2	1 2 3	12	2 2 3	17	3 2 3	24	4 2 3	38	5 2 3	120
0 2 4	11	1 2 4	15	2 2 4	19	3 2 4	27	4 2 4	44	5 2 4	150
0 2 5	13	1 2 5	17	2 2 5	22	3 2 5	31	4 2 5	50	5 2 5	180
0 3 0	5.6	1 3 0	8.3	2 3 0	12	3 3 0	17	4 3 0	27	5 3 0	79
0 3 1	7.4	1 3 1	10	2 3 1	14	3 3 1	21	4 3 1	33	5 3 1	110
0 3 2	9.3	1 3 2	13	2 3 2	17	3 3 2	24	4 3 2	39	5 3 2	140
0 3 3	11	1 3 3	15	2 3 3	20	3 3 3	28	4 3 3	45	5 3 3	180
0 3 4	13	1 3 4	17	2 3 4	22	3 3 4	31	4 3 4	52	5 3 4	210
0 3 5	15	1 3 5	19	2 3 5	25	3 3 5	35	4 3 5	59	5 3 5	250
0 4 0	7.5	1 4 0	11	2 4 0	15	3 4 0	21	4 4 0	34	5 4 0	130
0 4 1	9.4	1 4 1	13	2 4 1	17	3 4 1	24	4 4 1	40	5 4 1	170
0 4 2	11	1 4 2	15	2 4 2	20	3 4 2	28	4 4 2	47	5 4 2	220
0 4 3	13	1 4 3	17	2 4 3	23	3 4 3	32	4 4 3	54	5 4 3	280
0 4 4	15	1 4 4	19	2 4 4	25	3 4 4	36	4 4 4	62	5 4 4	350
0 4 5	17	1 4 5	22	2 4 5	28	3 4 5	40	4 4 5	69	5 4 5	430
0 5 0	9.5	1 5 0	13	2 5 0	17	3 5 0	25	4 5 0	41	5 5 0	240
0 5 1	11	1 5 1	15	2 5 1	20	3 5 1	29	4 5 1	48	5 5 1	350
0 5 2	13	1 5 2	17	2 5 2	23	3 5 2	32	4 5 2	56	5 5 2	540
0 5 3	15	1 5 3	19	2 5 3	26	3 5 3	37	4 5 3	64	5 5 3	920
0 5 4	17	1 5 4	22	2 5 4	29	3 5 4	41	4 5 4	72	5 5 4	1,600
0 5 5	19	1 5 5	24	2 5 5	32	3 5 5	45	4 5 5	81	5 5 5	>1,600

# 별표 1

양성시험관수 10, 1, 0.1	MPN/ 100mL										
0 0 0	<1.8	1 0 0	2	2 0 0	4.5	3 0 0	7.8	4 0 0	13	5 0 0	23
0 0 1	1.8	1 0 1	4	2 0 1	6.8	3 0 1	11	4 0 1	17	5 0 1	31
0 0 2	3.6	1 0 2	6	2 0 2	9.1	3 0 2	13	4 0 2	21	5 0 2	43
0 0 3	5.4	1 0 3	8	2 0 3	12	3 0 3	16	4 0 3	25	5 0 3	58
0 0 4	7.2	1 0 4	10	2 0 4	14	3 0 4	20	4 0 4	30	5 0 4	76
0 0 5	9	1 0 5	12	2 0 5	16	3 0 5	23	4 0 5	36	5 0 5	95
0 1 0	1.8	1 1 0	4	2 1 0	6.8	3 1 0	11	4 1 0	17	5 1 0	33
0 1 1	3.6	1 1 1	6.1	2 1 1	9.2	3 1 1	14	4 1 1	21	5 1 1	46
0 1 2	5.5	1 1 2	8.1	2 1 2	12	3 1 2	17	4 1 2	26	5 1 2	63
0 1 3	7.3	1 1 3	10	2 1 3	14	3 1 3	20	4 1 3	31	5 1 3	84
0 1 4	9.1	1 1 4	12	2 1 4	17	3 1 4	23	4 1 4	36	5 1 4	110
0 1 5	11	1 1 5	14	2 1 5	19	3 1 5	27	4 1 5	42	5 1 5	130
0 2 0	3.7	1 2 0	6.1	2 2 0	9.3	3 2 0	14	4 2 0	22	5 2 0	49
0 2 1	5.5	1 2 1	8.2	2 2 1	12	3 2 1	17	4 2 1	26	5 2 1	70
0 2 2	7.4	1 2 2	10	2 2 2	14	3 2 2	20	4 2 2	32	5 2 2	94
0 2 3	9.2	1 2 3	12	2 2 3	17	3 2 3	24	4 2 3	38	5 2 3	120
0 2 4	11	1 2 4	15	2 2 4	19	3 2 4	27	4 2 4	44	5 2 4	150
0 2 5	13	1 2 5	17	2 2 5	22	3 2 5	31	4 2 5	50	5 2 5	180
0 3 0	5.6	1 3 0	8.3	2 3 0	12	3 3 0	17	4 3 0	27	5 3 0	79
0 3 1	7.4	1 3 1	10	2 3 1	14	3 3 1	21	4 3 1	33	5 3 1	110
0 3 2	9.3	1 3 2	13	2 3 2	17	3 3 2	24	4 3 2	39	5 3 2	140
0 3 3	11	1 3 3	15	2 3 3	20	3 3 3	28	4 3 3	45	5 3 3	180
0 3 4	13	1 3 4	17	2 3 4	22	3 3 4	31	4 3 4	52	5 3 4	210
0 3 5	15	1 3 5	19	2 3 5	25	3 3 5	35	4 3 5	59	5 3 5	250
0 4 0	7.5	1 4 0	11	2 4 0	15	3 4 0	21	4 4 0	34	5 4 0	130
0 4 1	9.4	1 4 1	13	2 4 1	17	3 4 1	24	4 4 1	40	5 4 1	170
0 4 2	11	1 4 2	15	2 4 2	20	3 4 2	28	4 4 2	47	5 4 2	220
0 4 3	13	1 4 3	17	2 4 3	23	3 4 3	32	4 4 3	54	5 4 3	280
0 4 4	15	1 4 4	19	2 4 4	25	3 4 4	36	4 4 4	62	5 4 4	350
0 4 5	17	1 4 5	22	2 4 5	28	3 4 5	40	4 4 5	69	5 4 5	430
0 5 0	9.5	1 5 0	13	2 5 0	17	3 5 0	25	4 5 0	41	5 5 0	240
0 5 1	11	1 5 1	15	2 5 1	20	3 5 1	29	4 5 1	48	5 5 1	350
0 5 2	13	1 5 2	17	2 5 2	23	3 5 2	32	4 5 2	56	5 5 2	540
0 5 3	15	1 5 3	19	2 5 3	26	3 5 3	37	4 5 3	64	5 5 3	920
0 5 4	17	1 5 4	22	2 5 4	29	3 5 4	41	4 5 4	72	5 5 4	1,600
0 5 5	19	1 5 5	24	2 5 5	32	3 5 5	45	4 5 5	81	5 5 5	>1,600

## 별표 2

별표 2. 3단계회석 시험관 3개씩 시험하였을 때 양성에 대한 최확수(95%의 신뢰한계)

양성시험관수			MPN/g(mL)	양성시험관수			MPN/g(mL)
0.1	0.01	0.001		0.1	0.01	0.001	
0	0	0	<3	2	0	0	9.2
0	0	1	3	2	0	1	14
0	0	2	6	2	0	2	20
0	0	3	9	2	0	3	26
0	1	0	3	2	1	0	15
0	1	1	6.1	2	1	1	20
0	1	2	9.2	2	1	2	27
0	1	3	12	2	1	3	34
0	2	0	6.2	2	2	0	21
0	2	1	9.3	2	2	1	28
0	2	2	12	2	2	2	35
0	2	3	16	2	2	3	42
0	3	0	9.4	2	3	0	29
0	3	1	13	2	3	1	36
0	3	2	16	2	3	2	44
0	3	3	19	2	3	3	53
1	0	0	3.6	3	0	0	23
1	0	1	7.2	3	0	1	38
1	0	2	11	3	0	2	64
1	0	3	15	3	0	3	95
1	1	0	7.4	3	1	0	43
1	1	1	11	3	1	1	75
1	1	2	15	3	1	2	120
1	1	3	19	3	1	3	160
1	2	0	11	3	2	0	93
1	2	1	15	3	2	1	150
1	2	2	20	3	2	2	210
1	2	3	24	3	2	3	290
1	3	0	16	3	3	0	240
1	3	1	20	3	3	1	460
1	3	2	24	3	3	2	1100
1	3	3	29	3	3	3	>1,100

## 별표 2

양성시험관수			MPN/100(mL)	양성시험관수			MPN/100(mL)
10	1	0.1		10	1	0.1	
0	0	0	<3	2	0	0	9.2
0	0	1	3	2	0	1	14
0	0	2	6	2	0	2	20
0	0	3	9	2	0	3	26
0	1	0	3	2	1	0	15
0	1	1	6.1	2	1	1	20
0	1	2	9.2	2	1	2	27
0	1	3	12	2	1	3	34
0	2	0	6.2	2	2	0	21
0	2	1	9.3	2	2	1	28
0	2	2	12	2	2	2	35
0	2	3	16	2	2	3	42
0	3	0	9.4	2	3	0	29
0	3	1	13	2	3	1	36
0	3	2	16	2	3	2	44
0	3	3	19	2	3	3	53
1	0	0	3.6	3	0	0	23
1	0	1	7.2	3	0	1	38
1	0	2	11	3	0	2	64
1	0	3	15	3	0	3	95
1	1	0	7.4	3	1	0	43
1	1	1	11	3	1	1	75
1	1	2	15	3	1	2	120
1	1	3	19	3	1	3	160
1	2	0	11	3	2	0	93
1	2	1	15	3	2	1	150
1	2	2	20	3	2	2	210
1	2	3	24	3	2	3	290
1	3	0	16	3	3	0	240
1	3	1	20	3	3	1	460
1	3	2	24	3	3	2	1100
1	3	3	29	3	3	3	>1,100

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

희석액

멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G

펩톤식염완충액(시액 7): CM0509B

배지

MRS 배지(배지 87): CM0361B

BL한천배지 (배지 15)

BCP첨가 평판측정용 배지 (배지 11)

TOS-MUP배지(배지 25)

혐기성 배양 제품

부록 "대기 형성 시스템(AGS)" 참조

## 4.9.1 유산균수

- ① 검사시료 10~25 g(mL)에 9배 희석액(멸균생리식염수(시액 2) 또는 펩톤식염완충액(시액 7))을 가하여 100~250 mL가 되게 하고 균질화한다 (10<sup>-1</sup>용액)
- ② 시험용액(10<sup>-1</sup>용액) 1 mL에 희석액을 가하여 10 mL가 된 10<sup>-2</sup>시험용액을 만든 후 동일하게 조작하여 희석한다.

MRS 배지(배지 87) 또는 BCP첨가 평판측정용배지(배지 11)를 사용할 경우, 다음과 같이 일반세균수의 표준평판법에 준하여 시험한다.

- ③ 각 희석 시험 용액 1ml을 2장 이상의 멸균 페트리디쉬에 놓는다.
- ④ 제조하여 43-45°C로 유지한 MRS배지 15ml를 넣고 잘 섞어 균힌다.
- ⑤ 동일배지 3-5ml를 더 넣어 중첩시킨다.  
\* 검체를 취한 후 배지를 첨가할 때까지의 시간이 20분이 넘지 않도록 주의한다.
- ⑥ 35~37°C에서 48~72±3시간 혐기배양(발효유류의 경우 호기 배양 가능)한다.
- ⑦ 1개 평판 당 15-300개의 집락을 생성한 평판을 선택하여 집락수를 계산하고, 측정된 집락수를 희석배수를 곱하여 검사시료 g당 균수를 산출한다.

BL 한천배지(배지 15)를 사용할 경우,

각 희석 시험용액 0.1 mL씩을 BL한천배지(배지 15) 2매 이상에 접종하여 멸균초자봉으로 도말한다. 시료가 접종된 페트리디쉬는 35~37°C에서 48~72±3시간 혐기배양(발효유류의 경우 호기 배양 가능)한다. 배양 후 생성된 집락수를 측정하고 희석배수를 곱하여 검사시료 g당 균수를 산출한다.

## 4.9.2 유산간·구균 및 비피더스균

이 시험법은 유산간·구균 단순첨가(함유)제품(과자류, 코코아가공품류 또는 초콜릿류, 기타음료, 우유류, 아이스크림류 등)이거나 유산간·구균과 비피더스균을 구분하여 산정해야 하는 경우에 한한다.

## 유산간·구균

BCP첨가 평판측정용 배지(배지 11)를 사용하는 경우, 일반세균수의 표준평판법에 준하여 시험하며, 35~37°C에서 48~72±3시간 호기 또는 혐기 배양한 후 발생한 황색의 집락을 유산균으로 계수한다.

## 비피더스균

TOS-MUP 배지(배지 25)를 사용하는 경우, 일반세균수의 표준평판법에 준하여 시험하고, 35~37°C에서 48~72±3시간 혐기 배양한다. 모든 시험에서는 시험용액을 가하지 아니한 동일 희석액 0.1 mL를 대조시험액으로 하여 시험조작의 무균여부를 확인한다.

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

#### 희석액

멸균인산완충희석액 (시액 1) : R112520

멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G

Ringer Solution Tablets, 100tabs (BR0052G)

Phosphate Buffered Saline, Dulbecco A (BR0014G)

#### 배지

포테이토 덱스트로오즈 한천배지 (배지12): CM0139B + 10%주석산(또는 추천 10% Lactic acid, SR0021H)

### 시험방법

진균수의 측정방법은 4.5.1 일반세균수 가. 표준평판법에 준하여 시험한다

- ① 4.3. 제조법에 따라 시험용액을 준비하고, 10배 단계 희석법으로 희석한 각 단계 희석액을 준비한다.  
검액을 가하지 아니한 동일 희석액(대조시험액)은 시험조작의 무균여부를 확인한다.
- ② 각 시험 용액 1ml씩을 멸균 페트리 접시 (시험용액당 2매 이상)에 첨가한다.  
검체를 취하여 배지를 가할 때까지의 시간은 20분 이상 경과하여서는 아니 된다.
- ③ 제조하여 약 43~45°C로 유지한 덱스트로오즈 한천배지(배지 12) 약 15 mL를 무균적으로 분주한다.  
페트리접시 뚜껑에 부착하지 않도록 주의하면서 조용히 회전하여 좌우로 기울이면서 검체와 배지를 잘 혼합하여 응고시킨다.
- ④ 배지 3~5 mL를 가하여 중첩시키고 응고시킨다. (확산집락 발생 억제)
- ⑤ 응고시킨 페트리접시는 뒤집어 25°C에서 5~7일간 배양한다.
- ⑥ 발생한 집락수를 계산하고 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 진균수로 한다.

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

**1차 증균 배지**

펩톤식염완충액(시액 7): Buffered Peptone Water (CM0509B)

TSB(배지 23) : CM0129B

**2차 증균 배지**

Tetrathionate 배지(배지 88): CM0671B + R114350 + R114080

RV(Rappaport-Vassiliadis) 배지(배지 57): CM0669B

RVS 배지(배지 89): CM0866B

**분리배양 배지**

XLD 한천배지(배지 58): CM0469B

BG Sulfa 한천배지(배지 87): R452622

Bismuth Sulfite 한천배지(배지 64): CM0201B

Desoxycholate Citrate 한천배지(배지 31): CM0227B

Hektoen Enteric 한천배지(배지 90) : CM0419B

XLT4 한천배지(배지 91): CM1061B + SR0237C

**생화학 동정 키트**

RapID ONE System, 20panels/kit (R8311006)

+ RapID Inoculation Fluid, 2mlx20tubes (R8325106)

+ RapID Spot Indole Reagent, 15mlx1vial (R8309002)

**생화학 단일 시험**

시험 항목	제품명 및 제품번호
TSI 사면배지(배지 32)	Triple Sugar Iron (TSI) Agar, 500g (CM0277B)
LIA 사면배지(배지 92)	Lysine Iron Agar, 500g (CM0381B)
그람염색	Gram Stain Kit, 4x250mL (R40080)
	includes 1 each of crystal violet, decolorizer, iodine, safranin and a tray
	QC-Slide Gram Stain Control, 10 slides(R40140), 45 slides(R40142) heat fixed quality control slide for Gram stain procedures
Indole 시험	Microbact Spot Indole (DMAC), 10ml (MB1448A)
	또는 Indole Reagent, Kovac's, 25ml/bottle (R21227)
	또는 BactiDrop Indole, Kovac's, 0.75mlx50ampules (R21522)
Methyl Red 시험	MRVP Medium, 500g (CM0043B)
	Methyl Red Reagent, 25ml/bottle (R21236)
VP 시험	MRVP Medium, 500g (CM0043B)
	VP A reagent, 12ml (R21200) + VP B reagent, 25ml (R21281)
	또는 BactiDrop VP A, 0.75ml x 50ampules (R21560) + BactiDrop VP B, 0.75ml x 50ampules (R21562)
Citrate 시험	Simmons Citrate Agar, 500g (CM0155B)
Urea 시험	Urea Agar Base (Christensen Agar Base), 500g (CM0053B) + Urea 40% Solution, 10vials (SR0020K)
Lysine Decarboxylase 시험	Lysine Decarboxylase Broth Tablets, 100tabs (CM0308S)
Malonate 시험	-
KCN 시험	-

**라텍스 신속 응집 키트**

Wellcolex Colour Salmonella Kit, 50T(R30858301), 200T(R30858302) : O항원 Group 구별(A, B, C, D<sub>1</sub>, E/G, Vi) 라텍스 응집검사

Oxoid Salmonella Test Kit, 100T(DR1108A) : H항원에 반응. H항원 구별 없음

**응집 혈청**

Salmonella O Agglutinating Sera  
Salmonella H Agglutinating Sera

분자 진단

제품명	제품번호	용량	노트
SureTect™ Salmonella Species Assay	PT0100A	96 tests / kit	AOAC validated
MicroSEQ™ Salmonella spp. Detection Kit	4403930	96 tests / kit	AOAC validated
MicroSEQ™ Salmonella spp. Detection Start Kit with PrepSEQ™ Nucleic Acid Extraction Kit	4412639	96 assays	AOAC validated
MicroSEQ™ Salmonella spp. Detection Start Kit with PrepSEQ™ Rapid Spin Sample Preparation Kit - Extra Clean	4415044	96 assays	AOAC validated
Dynabeads™ anti-Salmonella	71002	5mL	For the selective enrichment of Salmonella directly from pre-enrichment samples

### 가. 증균배양

1) 식품 및 식육

- ① 시료 25 mL(g)에 225 mL의 펩톤식염완충액(BPW, 시액7)을 첨가한다.
- ② 36±1°C에서 18~24시간 배양한다.

2) 소, 돼지 도체

- ① 제8.5.2.3. 세균학적 시험법 가. 시료채취 및 방법 1) 도체 가)소 및 나)돼지의 시료채취 방법에 따라 멸균가아제나 스폰지로 시료를 채취한 후 멸균백에 넣고 50 mL BPW(시액7)를 넣은 다음 균질화 시킨다.
- ② 36±1°C에서 18~24시간 배양한다

3) 닭, 오리 도체

- ① 제8.5.2.3. 세균학적 시험법 가. 시료채취 및 방법 1) 도체 다)닭의 시료 채취방법에 따라 채취한 시료 30 mL을 취하여 30 mL BPW(시액7)에 넣은 다음 균질화 시킨다.
- ② 36±1°C에서 18~24시간 배양한다

4) 식용란

- ① 식용란 20개를 채취하여 제8.5.3.3. 세균학적 시험법 가. 시료채취 및 조제에 따라 소독 한 후 말린 식용란을 깨서 4L 용량의 멸균 용기(비커, 비닐백 등)에 넣어서 준비한 다음(달걀을 깼 때는 위생장갑을 껴야하며 샘플마다 위생장갑을 바꾸어 준다.) 멸균된 도구 등으로 난황과 난백이 섞이도록 균질화를 시킨다.
- ② 준비된 시료에 2L의 멸균 TSB를 넣어 섞고 35°C에서 24±2시간동안 증균한다.

③ 배양액을 다음의 배지에 첨가하고 증균배양한다.

사용	배지	배지부피	배양액 접종량	배양조건	배양시간
필수	Tetrathionate배지 (배지88)	10mL	1mL	36±1°C	20~24시간
선택 1	RV배지(배지57)	10mL	0.1mL	41.5±1°C	20~24시간
	RVS배지(배지89)				

### 나. 분리배양

④ 각각의 증균배양액을 다음의 배지에 도말하고 배양한 후, 의심집락을 관찰한다.

사용	배지	배양온도	배양시간	의심집락 성상
필수	XLD Agar(배지58)	36±1°C	20~24시간	가운데가 검거나 검지 않은 붉은 집락
선택 1	BG Sulfa 한천배지(배지90)			분홍색-흰색 집락
	Bismuth Sulfite 한천배지(배지64)			금속성 광택이 있고, 가운데가 검거나 혹은 검지 않은 녹색 집락
	Desoxycholate Citrate 한천배지(배지31)			가운데가 검거나 혹은 검지 않은 담황색 집락
	HE 한천배지(배지91)			중심에 검은색이 있거나 없는 청록색 집락
	XLT4 한천배지(배지92)			검정 또는 중심에 검은색이 있는 적색 집락

**다. 확인시험**생화학적 시험

- ⑤ 의심스러운 집락 5개 이상을 취하여 TSI Agar(배지 32) 또는 LIA 사면배지(배지 93)에 천자하여 37±1°C에서 20~24시간 배양한다.

TSI: 바닥-노란색(산) and/or 균열(가스생성)  
 사면-변화없음 or 적색(염기성)  
 H<sub>2</sub>S 생성여부: 검정(생성) or 변화없음(무생성)

LIA: 바닥-보라색(염기)  
 사면-보라색(염기)  
 H<sub>2</sub>S 생성여부: 검정(생성)

- ⑥ TSI, LIA 의심 결과에 대해, 그람 염색을 실시하여 그람음성의 간균이면,  
 ⑦ 생화학시험을 실시하여 살모넬라 양성유무를 판정한다.  
 동정키트: RapID ONE System  
 단일시험: Indole(-), MR(+), VP(-), Citrate(+), Urease(-), Lysine(+), KCN(-), malonate(-))

응집시험

균종 확인이 필요한 경우 살모넬라용 항혈청을 사용한 응집반응 결과에 따라 균종을 결정한다.

- ⑧ O혼합혈청 시험
- Wellcolex Colour Salmonella Kit, 50T (R30858301), 200T(R30858302)
  - 또는 다가 O항혈청을 사용하여 슬라이드 응집반응검사를 실시한 후 살모넬라 O인자 혈청시험 즉 A, B, C, D, E군 등의 인자 항혈청으로 슬라이드 응집반응을 실시하여 O혈청형을 결정한다.
- ⑨ H인자 혈청시험
- 편모(H)항혈청 즉 a, b, c, d, e, h, g, k, l, r, y, 1.2, 1.3, 1.5, 1.6 등에 대해 시험관 응집반응을 실시하여 결정한다.

**2일만에 완료하는 Salmonella 시험**

--> 부록"②-2 Salmonella Preci<sup>TM</sup> Method(ISO 16140 Validated alternative)"참조

## 제8.4.12 황색포도상구균 (*Staphylococcus aureus*)

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

### 희석액

멸균인산완충희석액 (시액 1) : R112520  
멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G  
Ringer Solution Tablets, 100tabs (BR0052G)  
Phosphate Buffered Saline, Dulbecco A (BR0014G)

### 배지

10% NaCl 첨가 TSB 배지: LP0005B + TSB배지(배지 23)(CM0129B)  
난황첨가 만니톨 식염한천배지(배지 14): CM0085B + SR0047C  
Baird-Parker 한천배지(배지 63): CM0275B + SR0054C  
Baird-Parker(RPF) 한천배지(배지 67): CM0961B + SR0122A  
또는 [생배지 세트] BO0290J-SET: BO0290J(Bottled Agar, 90mlx10bt) + SR0122A  
보통한천배지(배지 8): CM0017B

### 그람염색시약

Gram Stain Kit, 4x250mL (R40080)  
includes 1 each of crystal violet, decolorizer, iodine, safranin and a tray  
QC-Slide Gram Stain Control, 10 slides(R40140), 45 slides(R40142)  
heat fixed quality control slide for Gram stain procedures

### Coagulase 시험용 제품

Coagulase Plasma Lyophilized, 5ml x 6vials (R21060) : 시험관 응집 반응용  
Staphylase Test, 100tests (DR0595M) : 슬라이드 응집 방식의 키트화된 제품

### 생화학적 동정 키트

RapID Staph Plus system, 20 panels (R8311009)  
+ RapID Inoculation Fluid (R8325106) (2 ml/Tube, 20tubes)  
+ RapID Nitrate A Reagent (R8309003) (15 ml/Btl)  
+ RapID Nitrate B Reagent (R8309004) (15 ml/Btl)

### 황색포도상구균 확인 라텍스 신속 키트 (Coagulase, Protein A, polysaccharide antigen 확인)

StaphyTECT Plus, 100T (DR0850M) : 라텍스 시약이 병에 담긴 액체형  
Dryspot StaphyTECT Plus, 120T (DR0100M) : 라텍스 시약이 카드에 건조되어 있는 Dryspot 제품

### 분자 진단

제품명	제품번호	용량	노트
SureTect™ Staphylococcus aureus PCR Assay	A44255	96 tests / kit	

## 4.12.1 정성시험

### 가. 증균배양

- ① 검체 25 g 또는 25 mL를 취하여 225 mL의 10% NaCl을 첨가한 TSB 배지(배지23)에 가한다.
- ② 35~37°C에서 18~24시간 증균배양한다.

## 제8.4.12 황색포도상구균 (*Staphylococcus aureus*)

### 나. 분리배양

- ③ 증균 배양액을 다음 배지들 중 하나에 도말 접종하고 배양 후, 의심집락은 확인시험을 실시한다.

사용	배지	배양 조건	의심 집락 성장
선택 1	난황첨가만니톨 식염 한천배지(MSA) (배지 14)	35~37°C, 18~24시간	황색불투명 집락을 나타내고 주변에 혼탁한 백색환이 있는 집락(18시간 배양 시 직경 1-1.5mm, 48시간 배양 시 직경 3mm 정도의 검은색의 윤기있는 볼록한 집락이며 가장자리는 가느다란 흰색이며 그 주위를 투명한 구역이 둘러싸고 있다.)
	Baird-Parker 한천배지 (배지63)		투명한 띠로 둘러싸인 광택이 있는 검정색 집락
	Baird-Parker(RPF) 한천배지 (배지67)		불투명한 환으로 둘러싸인 검정색 집락

### 다. 확인시험

- ④ 분리배양된 평판배지상의 집락을 보통한천배지(배지 8)에 옮기고 35~37°C에서 18~24시간 배양한다.
- ⑤ 순수배양된 집락을 그람염색을 실시하여 포도상의 배열을 갖는 그람양성 구균을 확인한다.
- ⑥ Coagulase 시험을 실시하며 24시간 이내에 응고유무를 판정한다.  
\* Baird-Parker(RPF) 한천배지에서 전형적인 집락으로 확인된 것은 coagulase 시험을 생략할 수 있다.
- ⑦ Coagulase 양성으로 확인된 것은 생화학 시험(RapID Staph Plus system 등)을 실시하여 판정한다.

## 4.12.2 정량시험

### 가. 균수측정

- ① 검체 25 g 또는 25 mL를 취한 후, 225 mL의 희석액을 가하여 2분간 고속으로 균질화한다.
- ② 균질화한 것을 시험용액으로 하여 10배 단계 희석액을 만든다.
- ③ 각 단계별 희석액을 Baird-Parker 한천배지(배지 63) 3장에 0.3 mL, 0.4 mL, 0.3 mL 씩 총 접종액이 1 mL이 되게 도말하고 10분간 실내에서 방치한다.  
\* 배지는 완전히 건조시켜 사용하고 접종액이 배지에 완전히 흡수되도록 도말한다.
- ④ 35~37°C 에서 48±3시간 배양한 후 다음의 의심집락을 계수한다.  
투명한 띠로 둘러싸인 광택의 검정색 집락(18시간 배양 시 직경 1-1.5mm, 48시간 배양시 직경 3mm 정도의 검은색의 윤기있는 볼록한 집락이며 가장자리는 가느다란 흰색이며 그 주위를 투명한 구역이 둘러싸고 있다.)

### 나. 확인시험

- ⑤ 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 보통한천배지(배지8)에 접종하고 35~37°C에서 18~24시간 배양한다.
- ⑥ 4.12.1 정성시험 다. 확인시험에 따라 시험을 실시한다.

### 다. 균수계산

- ⑦ 확인 동정된 균수에 희석배수를 곱하여 계산한다.

예를 들어 10<sup>-1</sup> 희석용액을 0.3 mL, 0.3 mL, 0.4 mL씩 3장의 선택배지에 도말 배양하고, 3장의 집락을 합한 결과 100개의 전형적인 집락이 계수되었고 5개의 집락을 확인시험한 결과 3개의 집락이 황색포도상 구균으로 확인되었을 경우 시험용액 1 mL에는 황색포도상 구균의 수는 10 × 100 × (3/5) = 600이다.

## 제8.4.13 장염비브리오(*Vibrio parahaemolyticus*)

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

### 희석액

멸균인산완충희석액 (시액 1) : R112520  
 멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G  
 Ringer Solution Tablets, 100tabs (BR0052G)  
 Phosphate Buffered Saline, Dulbecco A (BR0014G)

### 배지

Alkaline 펩톤수(배지 16): CM1028B  
 TCBS 한천배지(배지 17): CM0333B  
 보통한천배지(배지 8): CM0017B  
 보통배지(배지 7): CM0015B  
 NaCl: Sodium chloride bacteriological, 500g, LP0005B

TSI 사면배지(배지 32): Triple Sugar Iron (TSI) Agar, 500g (CM0277B)  
 LIM 반유동배지(Lysine Indole Motility Medium)(배지 18): [생배지]MIL Medium, 20x5ml (R061350)

### 생화학 동정 키트

RapID NF Plus Panel: 20 panels(R8311005)  
 + RapID Inoculation Fluid (R8325102) (1 ml x 20tubes)  
 + RapID Nitrate A Reagent (R8309003)(15 ml x 1Bottle)  
 + RapID Spot Indole Reagent (R8309002)(15 ml x 1Bottle)

### 생화학 단일 시험

Oxidase 시험: Oxidase Strips, 50tests (MB0266A) 또는 BactiDrop Oxidase 0.75mlx50ampules (R21540)

### Indole 시험

Microbact Spot Indole (DMAC), 10ml (MB1448A)  
 또는 Indole Reagent, Kovac's, 25ml/bottle (R21227)  
 또는 BactiDrop Indole, Kovac's, 0.75mlx50ampules (R21522)

### VP 시험

MRVP Medium, 500g (CM0043B)  
 Voges-Proskauer A reagent, 12ml (R21200) + Voges-Proskauer B reagent, 25ml (R21281)  
 또는 BactiDrop Voges-Proskauer A, 0.75mlx50ampules (R21560)  
 + BactiDrop Voges-Proskauer B, 0.75mlx50ampules (R21562)

### Mannitol 이용성시험

Purple Broth Base(배지20)(R454352, 500g) + 1% Mannitol

### Arginine 및 Ornithine 분해시험

Moeller Basal Broth(배지 21) + 1%Arginine 또는 1% Ornithine

### ONPG 시험

ONPG Broth: 1mlx20(R062032), 2mlx500(EB0169A)  
 또는 ONPG Discs, 50T (DD0013T)

### 분자진단

제품명	제품번호	용량	노트
SureTect™ Vibrio cholerae, V. parahaemolyticus and V. vulnificus PCR Assay	A44253	96 reactions	V. cholerae, V. parahaemolyticus, V. vulnificus
TaqMan® Vibrio Multiplex Assay Beads	4485068	96 reactions	V. cholerae, V. parahaemolyticus, V. vulnificus

## 4.13.1 정성시험

## 가. 증균배양

- ① 검체 25 g 또는 25 mL를 취하여 225 mL의 Alkaline 펩톤수(배지 16)를 가한다.
- ② 35~37°C에서 18~24시간 증균배양한다.

## 나. 분리배양

- ③ 증균배양액을 다음처럼 접종 및 배양한 후 의심집락을 관찰한다.

사용	배지	배양조건	의심 집락 성상
필수	TCBS 한천배지 (배지 17)	35~37°C, 18~24시간	직경 2~4 mm인 청록색의 서당(sucrose) 비분해 집락

## 다. 확인시험

- ④ 의심집락을 다음 배지에 접종하고 배양한 후, 결과를 관찰한다.

사용	배지	배양조건	양성 의심 결과
필수	TSI 사면배지 (배지 32)	35~37°C, 18~24시간	사면부가 적색(alkaline), 고층부는 황색(acid), 가스가 생성되지 않음 (균열없음)
	LIM 반유동배지 (배지 18)		Lysine Decarboxylase 양성(바닥이 보라색), Indole 생성(indole시약을 가하면 위쪽이 붉은 색을 띠), 운동성 양성(찌른 부위 주변으로 퍼져서 성장한다)
	2% NaCl을 첨가한 보통 한천배지 (배지 8)		-

- ⑤ 의심집락에 대해 다음 시험을 실시한다.

내염성 시험:

0% 및 10% NaCl을 가한 Alkaline 펩톤수: 발육 음성

3% 및 8% NaCl을 가한 Alkaline 펩톤수: 발육 양성

Oxidase 시험: 양성 / VP 시험: 음성 / Mannitol 이용성시험: 산생성(배지가 노란색을 띠) / Arginine 및 Ornithine 분해시험: Arginine 분해 음성, Ornithine 분해 양성 / ONPG시험: 음성 / 3% NaCl을 가한 보통배지(Nutrient Broth) 성장 시험: 42°C에서 발육 양성

생화학 동정 키트 : Rapid NF PLUS System

## 4.13.2 정량시험

## 가. 균수측정

- ① 검체 25 g 또는 25 mL를 취한 후, 225 mL의 희석액을 가하여 2분간 고속으로 균질화하여 시험용액을 준비한다. 시험용액을 10배 단계 희석액을 만든다.
- ② 각 단계별 희석액을 TCBS 한천배지(배지 17) 3장에 0.3 mL, 0.4 mL, 0.3 mL씩 총 접종액이 1 mL이 되게 도말한다.  
사용된 배지는 완전히 건조시켜 사용하고 접종액이 배지에 완전히 흡수되도록 도말한 후 10분간 실내에서 방치시킨다.
- ③ 35~37°C 에서 18~24시간 배양한 다음 청록색의 서당 비분해 집락을 계수한다.

## 나. 확인시험

- ④ 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 2% NaCl을 첨가한 보통한천배지(배지 8)에 접종한다.
- ⑤ 35~37°C에서 18~24시간 배양한다.
- ⑥ 형성된 집락에 대해서 제8.4.13.1 정성시험의 다. 확인시험을 실시한다.

## 다. 균수계산

- ⑦ 확인 동정된 균수에 희석배수를 곱하여 계산한다.

## 제8.4.14 클로스트리디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*)

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

### 희석액

멸균인산완충희석액 (시액 1) : R112520

멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G

Ringer Solution Tablets, 100tabs (BR0052G)

Phosphate Buffered Saline, Dulbecco A (BR0014G)

### 배지

Cooked Meat 배지(배지 33): CM0081B

카나마이신: Kanamycin Sulphate Supplement, 10mg x 10vials (SR0092E)

난황첨가 TSC 한천배지(배지 41): CM0587B + SR0088E + SR0047C

난황첨가 *Clostridium perfringens* 한천배지(배지 27)

보통한천배지 (배지 8): CM0017B

### 그램염색시약

Gram Stain Kit, 4x250mL (R40080)

includes 1 each of crystal violet, decolorizer, iodine, safranin and a tray

QC-Slide Gram Stain Control, 10 slides(R40140), 45 slides(R40142)

heat fixed quality control slide for Gram stain procedures

GAM 배지(배지 34)

BTB-MR 지시약 (시액 4)

혐기성 배양 제품

부록 참조

생화학 동정 키트

RapID ANA II, 20 panels, R8311002

+ RapID Spot Indole Reagent, 15mL, R8309002

+ RapID Inoculation Fluid-1mL, 20x1mL, R8325102

## 제8.4.14 클로스트리디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*)

### 4.14.1 정성시험

#### 가. 증균배양

- 4.3 제조법에 따른 시험용액 1 mL를 Cooked Meat 배지(배지 33)의 아랫부분에 접종하여 35~37°C에서 18~24시간 동안 혐기배양한다.

#### 나. 분리배양

- 증균배양액을 다음 배지에 접종 및 배양하고 의심집락은 확인시험을 실시한다.

사용	배지	배양 조건	의심 집락
선택 1	200µg/mL 카나마이신 및 난황 첨가 TSC 한천배지 (배지41)	35~37°C, 18~24시간, 혐기성	불투명한 환을 가지는 황회색 집락
	200µg/mL 카나마이신 및 난황 첨가 Clostridium perfringens 한천배지 (배지27)		직경 2mm 정도의 약간 돌기된 유황색으로 주변에 불투명한 백색환이 있는 집락

#### 다. 확인시험

- 분리배양된 평판배지상의 집락을 보통한천배지(배지 8) 2장에 각각 접종한다.
- 1장은 35~37°C에서 18~24시간 혐기배양하고, 1장은 35~37°C에서 18~24시간 호기배양한다.
- 호기배양에서 균의 비발육을 확인하고, 혐기배양 집락을 그람염색을 실시한다: 그람양성 간균
- 그람양성간균으로 확인된 집락은 glucose, lactose, inositol, raffinose를 1% 가한 4종의 GAM 배지(배지 34)에 옮긴다.
- 35~37°C에서 1~2일간 배양하여 운동성의 유무를 관찰한다 : 운동성이 없다.
- 3일간 배양 후, BTB-MR지시약(시액 4)을 가한다: 붉은 색으로 변하는 것을 양성으로 판정한다.
- Glucose, lactose, inositol과 raffinose를 분해하며 운동성이 없는 것을 확인하면 Lecithinase 억제시험을 실시한다.  
난황이 포함된 TSC한천배지(배지 41)에 접종하여 35~37°C에서 24시간 혐기배양한 후 2~4 mm의 불투명한 환을 가지는 황회색 집락을 양성으로 판정한다.

### 4.14.2 정량시험

#### 가. 균수측정

- 검체 25 g 또는 25 mL를 취하여 225 mL의 희석액을 가한 후 1~2분간 저속으로 균질화 한 후 10배 단계 희석액을 만든다.
- 시험용액 및 단계별 희석액 1 mL씩을 2배 이상의 멸균 페트리접시에 무균적으로 분주하고, 43~45°C로 유지한 다음의 배지를 10~15 mL를 가하여 좌우로 돌리면서 잘 혼합한 후 응고시키고, 동일 배지 10ml로 중첩 및 응고시킨 후 배양한다.

배지	배양 조건	의심 집락
난황 무첨가 TSC 한천배지 (배지41)	35~37°C, 18~24시간, 혐기성	불투명한 환을 가지는 검은색 집락

- 150개 이하의 전형적인 집락이 확인된 평판을 선별하여 각 집락수를 계수한다.

#### 나. 확인시험

- 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 보통한천배지(배지 8) 2장에 각각 접종한다.
- 정성시험의 다.확인시험 ④~⑨를 실시하여 확인한다.

#### 다. 균수계산

- 확인 동정된 균수에 희석배수를 곱하여 계산한다.  
예로 10<sup>-4</sup>에서 85개의 전형적인 집락이 계수되었고, 이 중 5개의 집락을 확인한 결과 4개의 집락이 클로스트리디움 퍼프린젠스로 동정되었을 경우 85 × (4/5) × 10,000 = 680,000으로 계산한다.

## 제8.4.15 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*)

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

### 증균배양 배지

Listeria 증균배지(배지 35): CM0862B + SR0141E

UVM-modified Listeria 증균배지(배지 36): CM0863B + SR0142E

Fraser Listeria 배지(배지 37): CM0895B + SR0156E

### 분리배양 배지

Oxford 한천배지(배지 38): CM0856B + SR0140E

LPM 한천배지(배지 39): R453762 + R450551

PALCAM 한천배지(배지 65): CM0877B + SR0150E

ALOA 한천배지(배지 100): CM1084B+SR0226E+SR0244E

Tryptic Soy 한천배지(배지 40): CM0131B

Yeast Extract: Yeast Extract Powder, 500g (LP0021B)

### 그람염색시약

Gram Stain Kit, 4x250mL (R40080)

includes 1 each of crystal violet, decolorizer, iodine, safranin and a tray

QC-Slide Gram Stain Control, 10 slides(R40140), 45 slides(R40142)

heat fixed quality control slide for Gram stain procedures

### 라텍스 신속 응집 키트:

Oxoid Listeria Test Kit, 100T (DR1126A)

### 생화학적 동정 키트:

RapID CB Plus system (R8311008)

+ Inoculation Fluid, (R8325106)

+ Nitrate A Reagents (R8309003), Nitrate B Reagents (R8309004)

### β-용혈 검사

Blood Agar Base, 500g (CM0055B) + Horse Blood Defibrinated, 100ml (SR0050C)

### 운동성 검사

SIM Medium, 500g (CM0435B)

### 분자진단

제품명	제품번호	용량	노트
SureTect™ Listeria Species Assay	PT0200A	96 tests/kit	AOAC-RI Certified
SureTect™ Listeria monocytogenes Assay	PT0300A	96 tests/kit	AOAC-RI Certified
MicroSEQ Listeria monocytogenes Detection Kit	4403874	96 tests/kit	AOAC Certified
MicroSEQ Listeria monocytogenes Detection Starter Kit with PrepSEQ Rapid Spin Sample Preparation Kit	4415045	96 tests/kit	AOAC Certified
MicroSEQ Listeria monocytogenes Detection Starter Kit with PrepSEQ Nucleic Acid Extraction Kit	4412637	96 assays/kit	AFNOR Certified, AOAC Certified
MicroSEQ Listeria spp. Detection Starter Kit with PrepSEQ Rapid Spin Sample Preparation Kit	4445659	96 tests/kit	AOAC Certified
MicroSEQ Listeria spp. Detection Kit	4427410	96 tests/kit	AFNOR Certified, AOAC Certified
MicroSEQ Listeria spp. Detection Starter Kit with PrepSEQ Nucleic Acid Extraction Kit	4445658	96 tests/kit	AFNOR Certified, AOAC Certified
Dynabeads™ anti-Listeria	71006	5mL	For the selective enrichment of Listeria directly from pre-enrichment samples

## 제8.4.15 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*)

### 가. 증균배양

#### 가공식품 및 수산물

- ① 검체 25 g(mL)를 취하여 225 mL의 *Listeria* 증균배지(배지 35)를 가한다.
- ② 30°C에서 48시간 배양한다.

#### 유가공품, 식육가공품, 알가공품, 식육 및 가금류

- ① 검체 25g(mL)을 225mL의 *Listeria* 증균배지(배지 35) 또는 UVM-modified *Listeria* 증균배지(배지 36)에 접종하고 30°C에서 24±2시간 동안 증균 배양한다.
- ② 배양액 0.1 ml을 10ml의 Fraser broth(배지37)에 접종하고, 35~37°C에서 24~48시간 2차 증균을 실시한다.

### 나. 분리배양

- ③ 증균배양액을 다음 배지들 중 하나에 접종 및 배양한 후 의심집락을 확인한다.

사용	배지	배양조건	의심집락
선택 1	Oxford 한천배지(배지 38)	35~37°C, 24~48시간	검은색 환이 있는 갈색 집락
	LPM 한천배지(배지 39)		동근 유리모양의 회색/푸른색 집락
	PALCAM 한천배지(배지 65)		검은색 환이 있고 움푹 들어간 모양의 갈색/검은색 집락
	ALOA 한천배지(배지 100)		환이 있는 청록색 집락

- ④ 의심집락을 0.6% yeast extract가 포함된 Tryptic soy 한천배지(배지 40)에 접종한 후, 30°C에서 24~48시간 배양한다.

### 다. 확인시험

- ⑤ 그람염색 후 그람양성 간균이 확인되면
- ⑥ hemolysis, motility, catalase, CAMP test와 mannitol, rhamnose, xylose의 당 분해시험을 실시한다.

이 결과 β-hemolysis 양성, catalase 양성, motility 양성을 나타내며,

CAMP test결과 *Staphylococcus aureus*(ATCC 25923)에서 양성, *Rhodococcus equi*(ATCC 6939)에서 음성으로 나타나는 동시에

당분해시험 결과 mannitol 비분해, rhamnose 분해, xylose 비분해의 결과를 보일 경우 *Listeria monocytogenes* 양성으로 판정한다.

#### 생화학 동정 키트

RapID CB Plus

리스테리아 실험을 2일만에 끝내는 방법

--> 부록 "식품안전을 위한 ISO방법: ③-3 *Listeria* Precip method (ISO 16140 Validated alternative)"

## 제8.4.16 장출혈성 대장균(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*)

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

### 배지

mTSA 배지(배지 74): CM0989B + SR0181E  
 TC-SMAC 배지(배지 66): CM0813B + SR0172E  
 BCIG 한천배지(배지 73): <분말배지>CM0945B  
 보통한천배지(배지 8): CM0017B

### 그람염색시약

Gram Stain Kit, 4x250mL (R40080)  
 includes 1 each of crystal violet, decolorizer, iodine, safranin and a tray  
 QC-Slide Gram Stain Control, 10 slides(R40140), 45 slides(R40142)  
 heat fixed quality control slide for Gram stain procedures

### 생화학적 동정키트:

RapID ONE System, 20panels/kit (R8311006)  
 + RapID Inoculation Fluid, 2mlx20tubes (R8325106)  
 + RapID Spot Indole Reagent, 15mlx1vial (R8309002)

### 대장균 O157:H7 확인 라텍스 키트

RIM™ E.coli O157:H7 Latex Test, 50tests (R24250)

### 대장균 O157 확인 라텍스 키트

Oxoid *Escherichia coli* O157 Latex Test, 100tests (DR0620M)  
 Dryspot *E. coli* O157, 120tests (DR0120M)

### 분자 진단:

제품명	제품번호	용량	노트
SureTect™ <i>E. coli</i> O157:H7 PCR Assay	PT0400A	96 tests / kit	AOAC validated
SureTect™ <i>Escherichia coli</i> STEC Identification PCR Assay	A45330	96 tests / kit	
SureTect™ <i>Escherichia coli</i> O157:H7 and STEC Screening PCR Assay	A44254	96 tests / kit	
TaqMan™ Verotoxin-producing <i>Escherichia coli</i> VT1/VT2 Multiplex Assay Beads	4485074	96 reactions	HPA validated
TaqMan™ Verotoxin-producing <i>Escherichia coli</i> VT1/VT2 Multiplex Assay	4485018	100 reactions	HPA validated
Dynabeads anti- <i>E. coli</i> O157	71003 71004	1mL 5mL	Isolate and concentrate <i>E. coli</i> O157:H7 from samples in as little as 24 hours

## 제8.4.16 장출혈성 대장균(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*)

본 시험법은 대장균 O157:H7과 대장균 O157:H7이 아닌 시가독소(=베로독소) 생성 대장균(STEC, Shiga toxin producing *E. coli*)을 모두 검출하는 시험법이다. 장출혈성 대장균의 낮은 최소감염량을 고려하여 검출 민감도 증가와 신속 검사를 위한 스크리닝 목적으로 증균 배양 후 배양액(1~2 mL)에서 시가독소 유전자 확인시험을 우선 실시한다. 시가독소(stx1 그리고/또는 stx2) 유전자가 확인되지 않을 경우 불검출로 판정할 수 있다. 다만, 시가독소 유전자가 확인된 경우에는 반드시 순수 분리하여 분리된 균의 시가독소 유전자 보유 유무를 재확인한다. 시가독소가 확인된 집락에 대하여 생화학적 검사를 통하여 대장균으로 동정된 경우 장출혈성 대장균으로 판정한다.

### 가. 증균배양

- ① 검체 25g(25mL)을 취하여 다음 배지에서 증균배양한다.

배지	배지량	배양조건
mTSB (배지74)	225mL	35~37°C에서 24시간

### 나. 분리배양

- ② 장출혈성대장균의 분리를 위해 다음 배지에 각각 접종 및 배양하고 의심집락을 확인한다.

사용	배지	배양조건	의심집락
필수	TC-SMAC배지 (배지66)	35~37°C,	무색 집락
필수	BCIG 한천배지 (배지73)	18~24시간	청록색 집락

### 다. 확인시험

- ③ 의심집락 각 5개 이상을 취하여 보통한천배지(배지8)에 옮겨 35~37°C에서 18~24시간 배양한다.  
\* 전형적인 집락이 5개 이하일 경우 취할 수 있는 모든 집락에 대하여 확인시험을 실시한다.
- ④ 배양 후 집락에 대하여 "라."의 시가독소 유전자 PCR 확인 시험을 수행한 후
- ⑤ 시가독소 양성 집락을 대상으로 그람염색으로 그람음성간균임을 확인하고
- ⑥ 생화학시험 (RapID ONE system 등)을 실시하여 대장균으로 확인된 경우 장출혈성대장균으로 판정한다.

### 라. 베로독소유전자 확인 시험 : 식품공전 및 분자진단제품 참조

식품공전의 시험법 및 상업화된 분자진단 제품 참조

### 마. 대장균 O157:H7의 확정 필요할 경우,

확인시험에서 장출혈성대장균으로 판정된 균주에 대하여 O157과 H7 혈청형을 라텍스 응집 키트 등을 사용하여 결정한다.

- 최종적으로 1] 시가독소 유전자(stx1 또는/그리고 stx2) 양성,  
2] O157 및 H7 혈청 확인,  
3] 대장균으로 확인  
되었을 때 O157:H7으로 판정한다.

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

PSBB배지(배지 44)

0.5% KOH가 함유된 0.5% 식염수 : KOH + Saline Tablet(BR0053G)

ITC 배지 (배지 97)

MacConkey 한천배지(배지 30): CM0115B

CIN 한천배지(배지 45): CM0653B + SR0109E

TSI 한천배지(배지 32): CM0277B

Urea 시험

Urea Agar Base (Christensen Agar Base), 500g (CM0053B) + Urea 40% Solution, 10vials (SR0020K)

Citrate 시험

Simmons Citrate Agar, 500g (CM0155B)

Motility 시험

SIM Medium, 500g (CM0435B)

그람염색시약

Gram Stain Kit, 4x250mL (R40080)

includes 1 each of crystal violet, decolorizer, iodine, safranin and a tray

QC-Slide Gram Stain Control, 10 slides(R40140), 45 slides(R40142)

heat fixed quality control slide for Gram stain procedures

생화학 동정 키트

RapID ONE System (R8311006)

+ RapID Inoculation Fluid, 2mL (R8325106)

+ RapID Spot Indole Reagent, 15mL (R8309002)

## 시험 방법

### 가. 증균배양

- ① 검체 25 g 또는 25 mL를 취하여 225 mL의 PSBB 배지(배지 44)를 가하여 PSBB검액을 만든다.
- ② PSBB검액 10mL을 취해 ITC배지(배지 97) 90mL에 가하여 ITC검액을 만든다.
- ③ PSBB검액과 ITC검액을 25°C에서 48시간 증균배양한다.

### 나. 분리배양

- ④ 증균배양액 0.1 mL를 0.5% KOH가 함유된 0.5% 식염수 1 mL에 가하여 수초간 섞는다.
- ⑤ 이 용액을 다음에 각각 접종 및 배양하고 의심집락을 확인한다.

사용	배지	배양조건	의심집락
필수	MacConkey 한천배지(배지 30)	30°C, 24±2시간	유당을 비분해하는 집락 (담황색 집락)
필수	CIN 한천배지(배지 45)		중심부가 짙은 적색을 보이는 집락

### 다. 확인시험

- ⑥ 의심 집락을 골라 TSI 사면배지(배지 32)의 사면과 고층부에 접종하여, 35~37°C에서 18~24 시간 배양 후 다음의 의심 성상을 확인한다.
  - 고층부와 사면이 노란색 (acid생성), 가스 생성없음(균열없음), 황화수소가 발생하지 않음(검지않음)
- ⑦ 의심균주를 선택하여 다음의 시험을 한다.
  - SIM Medium에서 운동성 시험: 25°C에서 운동성 있음, 37°C에서는 운동성
  - Urea 시험: 양성
  - Citrate 시험: 음성
  - 그람염색 : 그람음성 간균

참고> 생화학 동정 키트 : RapID ONE System

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

멸균인산완충희석액 (시액 1) : R112520  
 멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G  
 Ringer Solution Tablets, 100tabs (BR0052G)  
 Phosphate Buffered Saline, Dulbecco A (BR0014G)

MYP 한천배지(배지 46): CM0929B + SR0099E + SR0047C  
 PEMBA한천배지(배지 98) : CM0617B + SR0099E + SR0047C  
 보통한천배지(배지 8): CM0017B

그램염색시약

Gram Stain Kit, 4x250mL (R40080)  
 includes 1 each of crystal violet, decolorizer, iodine, safranin and a tray  
 QC-Slide Gram Stain Control, 10 slides(R40140), 45 slides(R40142)  
 heat fixed quality control slide for Gram stain procedures

β-용혈 검사

Blood Agar Base, 500g (CM0055B) + Horse Blood Defibrinated, 100ml (SR0050C)

VP 시험

MRVP Medium, 500g (CM0043B)  
 Voges-Proskauer A reagent, 12ml (R21200) + Voges-Proskauer B reagent, 25ml (R21281)  
 또는 BactiDrop Voges-Proskauer A, 0.75mlx50ampules (R21560)  
 + BactiDrop Voges-Proskauer B, 0.75mlx50ampules (R21562)

Nitrate 시험

Nitrate Broth, 20x5ml (R061532) 또는 Buffered Nitrate Motility Medium, 24x10ml (BO1069E)  
 Nitrate A reagent, 25ml (R21239) + Nitrate B reagent, 25ml (R21242)  
 또는 BactiDrop Nitrate A, 0.75mlx50ampules (R21536) + BactiDrop Nitrate B, 0.75mlx50ampules (R21538)

크로모제닉 배지

Brilliance Bacillus Cereus Agar, 500g (CM1036B)  
 + Brilliance Bacillus Cereus Selective Supplement, 10vials (SR0230E)

## 4.18.1 정성시험

## 가. 분리배양

- ① 검체 25 g 또는 25 mL를 취하여 225 mL의 희석액을 가하여 균질화하여 검액을 준비한다.
- ② 검액을 다음의 배지 중 하나에 접종 및 배양하고 의심집락을 관찰한다.

사용	배지	배양조건	의심집락*
선택 1	MYP한천배지(배지46)	30°C, 24시간	혼탁한 환(lecithinase 생성)을 갖는 분홍색 집락
	PEMBA한천배지(배지 98)	37°C, 24시간	혼탁한 환을 갖는 청록색 집락

\* 명확하지 않을 경우 24시간 더 배양하여 관찰한다.

## 나. 확인시험

- ③ 각 배지에서 전형적인 집락을 선별하여 보통한천배지(배지 8)에 접종하고 30°C에서 24시간 배양한다.
- ④ 순수배양된 집락을 그람염색을 실시하여 포자를 갖는 그람양성 간균을 확인하고,
- ⑤ 확인된 균은 nitrate 환원능, VP,  $\beta$ -hemolysis, tyrosine 분해능, 혐기배양시의 포도당 이용 등의 생화학시험을 실시한다.  
Nitrate 환원 / VP 양성 / Blood Agar에서  $\beta$ -용혈 / Tyrosine 분해 / 혐기배양시 포도당 이용
- ⑥ 추가로 30°C, 24시간 그리고 상온, 2~3일 추가 배양하여 곤충독소단백질(Insecticidal crystal protein) 생성 확인시험\*도 실시한다.  
\* 이 시험법은 *Bacillus cereus*와 *Bacillus thuringiensis*를 구분하는 시험법으로, 보통한천배지에 30°C, 24시간 그리고 상온, 2~3일 추가 배양한 후 직접 또는 염색하여 현미경 관찰( $\times 1000$ 배)결과, 곤충독소단백질이 확인되면 *Bacillus thuringiensis*로 한다.

## 4.18.2 정량시험

## 가. 균수측정

- ① 검체 25 g 또는 25 mL를 취한 후, 225 mL의 희석액을 가하여 2분간 고속으로 균질화하여 시험용액을 준비한다. 시험용액을 10배 단계 희석액을 만든다.
- ② MYP 한천평판배지(배지 46)에 단계별 희석용액을 총 접종액이 1mL이 되도록 3~5장을 도달한다.
- ③ 30°C에서 24 $\pm$ 2시간 배양한 후 의심 집락을 관찰한다.  
집락 주변에 lecithinase를 생성하는 혼탁한 환이 있는 분홍색 집락을 계수한다.

## 나. 확인시험

- ④ 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 보통한천배지(배지 8)에 접종하고 30°C에서 24시간 배양한다.
- ⑤ 4.18.1.정성시험 나.확인시험 ④~⑥을 실시한다.

## 다. 균수계산

- ⑥ 확인 동정된 균수에 희석배수를 곱하여 계산한다.  
예로 10<sup>-1</sup> 희석용액을 0.2 mL씩 5장 도달 배양하여 5장의 집락을 합한 결과 100개의 전형적인 집락이 계수되었고 5개의 집락을 확인한 결과 3개의 집락이 바실러스 세레우스로 확인되었을 경우 100 $\times$ (3/5) $\times$ 10= 600으로 계산한다.

## 제8.4.19 캄필로박터 제주니/콜리 (*Campylobacter jejuni/coli*)

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

Hunt 배지(배지 47) : CM0067B + LP0021B + SR0048C + SR0232E

선택 첨가제(시험방법의 검체에 맞게 선택) : Supplement A, Supplement B

Bolton 배지(배지 68) : CM0983B + SR0183E(또는 SR0208E) + SR0048C

Preston 액체배지(배지 78) : CM0067B + SR0117E(또는 SR0204E) + SR0232E + SR0048C

BPW (시액7) 펩톤식염완충액 : CM0509B

Modified Campy Blood Free 한천배지 (배지 48) : CM0739B + LP0021B + SR0155E

Abeyta-Hunt 한천배지(배지 49) : CM1032B + LP0011B + LP0021B + SR0048C + Supplement

Preston 한천배지(배지 75) : CM0689B + SR0117E(또는 SR0204E) + SR0232E + SR0048C

CCA 한천배지(배지76) : Campy Cefex 한천배지 (CCA)(배지 76)): R452652 + SR0232E + SR0222C\* + Cefoperazone\*

\* SR0222C + Cefoperazone 대체 추천품 : SR0155E

BCA 한천배지(Blaser's Campylobacter Agar(BCA)(배지 77):

CM0271B + SR0048C + Camylobacter Supplement(A)\*\* (유제품의 경우 사용 가능)

\*\* Campylobacter Supplement(A) 대체 추천품: SR0155E

대비염색 : 10 mL 식염수에 2방울의 crystal violet을 혼합한 용액; Crystal Violet (R40052)

Oxidase 시험: Oxidase Strips, 50T (MB0266A) 또는 BactiDrop Oxidase 0.75mlx50 앰플 (R21540)

황화수소 시험: Triple Sugar Iron (TSI) Agar, 500g (CM0277B)

Nalidixic acid 항생제감수성검사: Nalidixic acid 30µg, 5x50Discs (CT0031B)

Cephalothin 항생제감수성검사: Cephalothin 30µg, 5x50Discs (CT0010B)

Hippurate 시험: Hippurate Disk, 25discks (R21085)

Ninhydrin Reagent, 25ml (R21238) (또는 BactiDrop Ninhydrin, 0.75mlx50 앰플 (R21534))

생화학 신속 키트: O.B.I.S. campy, 60T (ID0800M): Gram-lysis 및 L-ALA 테스트; *Campylobacter* spp.에 대한 민감도 100%, 특이도99.6%

라텍스 신속 응집 키트: DrySpot Campylobacter Test Kit, 50T (DR0150M) : *C. jejuni*, *C. lari*, *C. coli*, *C. upsaliensis* 를 검출.

미호기성(5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>) 배양 제품  
부록 "대기 형성 시스템(AGS)" 참조

분자 진단:

제품명	제품번호	용량	노트
SureTect® Campylobacter jejuni, C. coli and C. lari PCR Assay	A44251	96 reactions	<i>C. coli</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. lari</i> 검출
TaqMan® Campylobacter Multiplex Assay Beads	4485027	96 reactions	<i>C. coli</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. lari</i> 검출

가. 증균배양

식품 및 식육

- ① 검체 25 g(mL)를 다음 중 하나의 배지 100ml에 넣어 균질화한다.
  - Bolton 배지(배지 68)
  - Preston 배지(배지 78)
  - HUNT(CEB) (+Campylobacter supplement (A))(배지 47)
- ② 35~37°C에서 4~5시간 동안 미호기적으로 1차 증균한다.
- ③ HUNT(CEB) 배지 배양액에, Cefoperazone 용액 (0.8 g/100 mL) 0.4 mL를 첨가한다.
- ④ 각 1차 증균액을 42±1°C에서 24~48시간 미호기적으로 2차 증균한다.

유가공품

- ① 검체 25 g(mL)를 다음 중 하나의 배지 100ml에 넣어 균질화한다.
  - Bolton 배지(배지 68)
  - Preston 배지(배지 78)
  - HUNT(CEB) (+Campylobacter supplement (B))(배지 47)
- ② 35~37°C에서 4~5시간 동안 미호기적으로 1차 증균한다.
- ③ HUNT(CEB) 배지 배양액에, Rifampicin 용액(0.125 g/100 mL) 0.4 mL를 첨가한다.
- ④ 각 1차 증균액을 42±1°C에서 24~48시간 미호기적으로 2차 증균한다.

소, 돼지도체

- ① 제8.5.2.3. 세균학적 시험법 가. 시료채취 및 방법 1) 도체 가)소 및 나)돼지의 시료채취 방법에 따라 멸균가아제나 스폰지로 시료를 채취한 후 멸균백에 넣고 25 mL BPW(시액7)를 넣은 다음 균질화를 시킨 후,
  - ② 혈액을 첨가하지 않은 2XBolton 배지(2XBF-BEB) 25 mL를 넣고,
  - ③ 미호기적 조건으로 42±1°C에서 48±2시간 배양한다.
  - ④ -

닭, 오리도체

- ① 제8.5.2.3. 세균학적 시험법 가. 시료채취 및 방법 1) 도체 다)닭의 시료채취방법에 따라 채취한 시료 30 mL에 혈액을 첨가하지 않는 2XBolton 배지(2XBF-BEB) 30 mL를 넣고 균질화한 후,
  - ② 미호기적 조건에서 42±1°C 48±2시간 배양한다.
  - ③ -
  - ④ -

나. 분리배양

- ⑤ 증균배양액을 다음 중 하나의 배지에 접종 및 배양하고 의심집락을 확인한다.

사용	배지	배양조건	의심집락
선택 1	modified Campy blood free 한천배지(배지 48)	42°C, 24~48시간, 미호기적, 암소	원형 또는 불규칙한 형태로서 반투명한 흰색 또는 투명한 집락
	Abeyta-Hunt Blood 한천배지(배지 49)		무지개빛 광택 집락
	Preston 한천배지(배지 75)		부드러운 모서리를 가진 불규칙한 원모양을 형성하는 반투명의 흰색집락(일부 균주는 황갈색 또는 약한 핑크색 집락을 형성)
	CCA 한천배지(배지 76)		불규칙한 가장자리를 가지고 점액이 있으며 회색인 평평한 집락(24~48시간 배양 후 용혈은 나타나지 않으며 분홍색이나 노란-회색집락이 나타나기도 한다)
	BCA 한천배지(배지 77)		

다. 확인시험

- ⑥ 의심집락을 선별하여 혈액한천배지에 신속히 접종하여 42°C에서 24~48시간 배양한다.
- ⑦ 배양된 집락을 취하여, 암시야 또는 위상차현미경으로 검경하거나 또는 대비 염색하여 지그재그 모양을 관찰한다.
- ⑧ 현미경상으로 확인된 균에 대하여 catalase 및 oxidase 양성임을 확인한다.
- ⑨ 확인된 균에 대하여,
  - 캠필로박터 제주니는 hippurate 분해 양성, 황화수소 비생성, nalidixic acid 감수성, cephalothin 내성, 25°C에서 비생육, 42°C에서 생육 여부 등을 확인하며,
  - 캠필로박터 콜리는 hippurate 분해 음성, nalidixic acid 감수성, cephalothin 내성, 25°C에서 비생육, 42°C에서 생육 여부 등 생화학시험을 실시한다.

## 제8.4.20 클로스트리디움 보툴리눔 (*Clostridium botulinum*)

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

젤라틴 인산완충액(시액 5): LP0008B + Disodium phosphate

Cooked Meat 배지(배지 33): CM0081B

TPGY 배지(Trypticase Peptone Glucose Yeast Extract Broth) (배지 50)

혐기성 난황한천배지 (Anaerobic Egg Yolk Agar)(배지 52)

Liver-Veal 난황한천배지 (Liver-Veal Egg Yolk Agar) (배지51)

GAM 배지(Gifu Anareobic Medium) (배지 34)

그람염색시약

Gram Stain Kit, 4x250mL (R40080)

QC-Slide Gram Stain Control, 10 slides(R40140), 45 slides(R40142)

Nitrate 시험

Nitrate Broth, 20x5ml (R061532) 또는 Buffered Nitrate Motility Medium, 24x10ml (BO1069E)

Nitrate A reagent, 25ml (R21239) + Nitrate B reagent, 25ml (R21242)

또는 BactiDrop Nitrate A, 0.75mlx50ampules (R21536) + BactiDrop Nitrate B, 0.75mlx50ampules (R21538)

혐기성 배양 제품 : 부록 "대기 형성 시스템" 참조.

### 가. 증균배양

- 1 고형 또는 반고형물 검체는 동량의 젤라틴 인산완충액(시액 5)을 첨가하고 균질화하여 시험용액으로 하며, 액상 검체는 그대로 사용한다.
- 2 1~2 g 또는 1~2 mL의 검체를 15ml의 다음의 배지 중 하나에 접종하여 하고 해당 조건에서 배양한다. (접종 전 각 배지는 10~15분간 중탕하여 탈산소한 후 신속히 냉각하여 사용하며, 검체는 배지 아래부분에 천천히 접종하고 교반하지 않는다.)
  - 2개의 Cooked Meat 배지(배지 33) : 35~37°C에서 7일간 배양
  - 2개의 TPGY배지(배지 50) : 26°C에서 7일간 배양
- 3 배양 7일후 검경하여 전형적인 클로스트리디움을 관찰한다. 관찰되면 다음의 분리배양을 실시하고, 관찰되지 않는 경우에는 추가적으로 10일간 더 배양한다.

### 나. 분리배양

- 4 증균배양액 1~2 mL와 동량의 여과 제균한 알코올을 잘 혼합하여 실온에서 1시간 방치한 후 다음 배지 중 하나에 접종한다.
  - 혐기성 난황한천배지(배지 52)
  - Liver-Veal 난황한천배지(배지 51)
- 5 35~37°C에서 48±3시간 혐기적으로 배양한 후, 의심 집락을 확인한다. 배양 후 응기되거나 평평하며, 표면이 매끈하거나 거친 집락으로, 약간 퍼져 있거나 불규칙하다. 경우에 따라서는 집락 주위에 혼탁한 환이 생긴다.

### 다. 확인시험

의심되는 집락 10개 정도를 확인시험한다.

- 6 분리균에 대하여 Gram 양성의 간균과 균체 말단에 아포가 형성되는 것을 관찰하고,
- 7 호기조건으로 35~37°C에서 2~3일간 배양하였을 경우 균이 발육되지 않는 것을 확인한다.
- 8 0.1%의 glucose를 첨가한 GAM 배지(배지 34)에 접종하여 35~37°C에서 1~4일간 배양하여 운동성이 있는 것을 양성으로 판정하며,
- 9 질산염환원능이 없으므로 glucose 0.1%, KNO<sub>3</sub> 0.3%를 가한 GAM 배지(배지 34)에 접종하여 35~37°C에서 2일간 배양한 후 Nitrite 지시약(시액 6)을 가하였을 경우 색의 변화가 없어야 한다.
- 10 우유를 pH 6.8되도록 조정하여, FeSO<sub>4</sub> 0.05~0.1 g을 첨가한 배지에 균을 접종하여 35~37°C에서 배양한 후 우유를 분해하는 것을 양성으로 판정(각 독소 type에 따라 분해능이 다름)한다.

### 라. 독소확인시험

- 1) 동물실험
- 2) PCR 반응을 통한 독소유전자 시험

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

- EE 배지 (배지 59): CM0317B
- CESA 한천배지 (배지 60): CM1055B
- CCI한천배지 (배지 99): CM1122B
- VRBG 한천배지 (배지 61): CM0485B
- E. sakazakii* 한천배지 (배지 62)
- Tryptic Soy 한천배지 (배지 40): CM0131B

생화학 동정키트

- RapID ONE Panel, 20 panels (R8311006)
- + RapID Inoculation Fluid-2ml, 20tubes (R8325106)
- + RapID Spot Indole Reagent, 15ml x 1Btl (R8309002)

Oxidase 검사: Oxidase Strips, 50T (MB0266A) 또는 BactiDrop Oxidase 0.75mlx50 앰플 (R21540)

Lysine decarboxylase 시험: Lysine Decarboxylase Broth Tablets, 100tabs (CM0308S)

분자진단

제품명	제품번호	용량	노트
SureTech™ <i>Cronobacter</i> species PCR Assay	PT1060A	96 tests / kit	AFNOR certified
TaqMan™ <i>Cronobacter sakazakii</i> Detection Kit	4382492	100 tests / kit	
Custom TaqMan™ <i>Cronobacter sakazakii</i> Assay Beads	4485034	96 reactions	

가. 증균배양

- ① 검체 5관에서 검체 각 60 g을 무균적으로 채취하여 540 mL의 멸균증류수에 가한 후
- ② 35~37°C에서 18~24시간 증균배양한다.
- ③ 증균배양액 10 mL를 90 mL의 EE 배지(배지 59)에 첨가하여
- ④ 35~37°C에서 18~24시간 2차 증균 배양한다.

나. 분리배양

- ⑤ 증균배양액을 다음 배지 중 하나에 도말 및 배양한 후 의심집락을 관찰한다.

사용	배지	배양조건	의심집락
선택 1	CESA 한천배지(배지60)	35~37°C, 24±2시간	청록색
	CCI한천배지(배지99)	41.5±1°C, 24±2시간	청록색
	<i>E. sakazakii</i> 한천배지(배지62)	35~37°C, 24±2시간	장파장의 자외선(366nm) 조사하에 형광 집락

다. 확인시험

- ⑥ 5개의 전형적인 집락을 취하여 Tryptic soy 한천배지(배지 40)에 옮기고, 25°C에서 48~72시간 배양한 후,
- ⑦ 황색 집락을 선별하여 생화학적 시험을 실시한다.

생화학 동정 키트 RapID ONE System 사용

또는 생화학적 단일 시험

Oxidase(-), L-Lysine decarboxylase(-), L-Ornithine decarboxylase(+), L-Arginine dihydrolase(+), sucrose(+), dulcitol(-), adonitol(-), raffinose(+), D-sorbitol(-), x-methyl-D-glucoside(+), D-arabitol(-)일 경우 *Cronobacter* spp. 양성으로 판정한다.

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

멸균인산완충희석액 (시액 1) : R112520  
 멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G  
 Ringer Solution Tablets, 100tabs (BR0052G)  
 Phosphate Buffered Saline, Dulbecco A (BR0014G)

혈액한천배지(배지 79): CM0131B + SR0051B

#### 그람염색시약

Gram Stain Kit, 4x250mL (R40080)  
 includes 1 each of crystal violet, decolorizer, iodine, safranin and a tray  
 QC-Slide Gram Stain Control, 10 slides(R40140), 45 slides(R40142)  
 heat fixed quality control slide for Gram stain procedures

## 실험 방법

### 가. 배양 및 균분리

- ① 검체 25 g 또는 25 mL에 희석액 50 mL을 가하여 분쇄 혼합한 뒤,
- ② 62.5±0.5°C 항온수조에서 30~60분간 가열처리한다.
- ③ 배양된 유제를 10배 단계 희석하여
- ④ 각 희석액으로부터 100 µL를 취하여 혈액한천배지(배지 79)에 도말하여
- ⑤ 37°C에서 24시간 배양한 후, 의심집락을 확인한다.

탄저균은 그 균의 특이한 회백색의 축모상 혹은 곰보유리모양의 집락을 형성하며 혈액한천 배지에서는 용혈성이 거의 없고 액체배지에서는 침전하여 발육하며 상층부는 투명하고 균 막을 형성하지 않는다. 의심되는 집락을 도말하여 염색하면 그람양성의 대간균으로서 양단이 직각으로 갈라져 있고 낱시대 모양의 연쇄상을 나타낸다.

### 나. 동물시험

다른 방법으로도 탄저균을 분리해내지 못 하는 경우, 동물접종시험을 고려할 수 있다. 62.5°C 에서 15분간 가열한 후 다 자란 마우스의 피하에 0.05~0.1 mL 접종한다. Guinea pig의 양쪽 하퇴부 근육에 0.2 mL씩 총 0.4 mL 접종한다. 양성인 경우 48~72시간 내에 폐사한다. 이를 해부하여 병리학적 소견을 관찰하고 도말하여 협막염색을 실시하여 협막형성균을 검경으로 확인한 후 다시 균을 분리 동정한다. 폐사된 동물의 혈액으로부터 균을 분리배양 할 수 있다.

### 다. PCR 반응을 통한 병원성 시험

고시 참조.

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

멸균인산완충희석액 (시액 1) : R112520

멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G

Ringer Solution Tablets, 100tabs (BR0052G)

Phosphate Buffered Saline, Dulbecco A (BR0014G)

Lowenstein-Jensen 사면배지(배지 80): R453752 + glycerol + homogenized whole egg

Middlebrook 7H10 한천배지(배지 81): R453982 + R450603

<또는 생배지> Middlebrook 7H10 Agar, 20 slants (R08562)

피루베이트 고형배지(pyruvate-based solid medium) (배지 86)

Ziel-Neelsen 시험: TB Ziehl-Neelsen Carbofuchsin stain, 250ml/Bottle (R40102)

+ TB Decolorizer (R40106)

+ TB Methylene Blue(R40110) 또는 TB Brilliant Green(R40100)

Nitrate 시험

Nitrate Broth, 20x5ml (R061532) 또는 Buffered Nitrate Motility Medium, 24x10ml (BO1069E)

Nitrate A reagent, 25ml (R21239) + Nitrate B reagent, 25ml (R21242)

또는 BactiDrop Nitrate A, 0.75mlx50ampules (R21536) + BactiDrop Nitrate B, 0.75mlx50ampules (R21538)

Niacin 생성 시험: Niacin Reagent Strip, 25strips/vial (R21090)

## 실험 방법

### 가. 배양 전 확인법 및 균 배양 후 균 분리검사

- ① 우유와 같은 액상의 검체는 그대로 사용하고, 식육 및 식육가공품은 검체 25 g에 희석액 225 mL을 가한 후 유제액을 제조하여 사용한다.
- ② 액상 검체 또는 유제액 25 mL를 3,000 rpm에서 30분간 원심분리한다.
- ③ 상층부를 새로운 시험관에 취하고, 침전물에서 1 백금이를 취하여 도말표본을 만들고 Ziel-Neelsen법으로 항산성염색을 실시하여 항산성균을 검경으로 확인한다.
- ④ 상층부에는 동량의 8% NaOH액을, 침전물에는 그의 약 10배량의 4% NaOH액을 가하여 잘 혼합한 후
- ⑤ 각각 0.1 mL씩을 Lowenstein-Jensen 사면배지(배지 80) 또는 Middlebrook 7H10 한천배지(배지 81)에 접종한 후 37°C에서 8주간 배양한다. 배양기간 동안 배양유무를 육안으로 관찰한다.
- ⑥ 배양이 육안으로 관찰되면 slide glass에 균를 도말하여 Ziehl-Neelsen법으로 항산성염색을 실시하여 항산성균을 검경으로 확인한다.

\* 결핵균의 성장은 일반적으로 3~6주 배양동안 관찰된다. 특이적으로 느린 성장패턴과 균 모양으로 결핵균을 잠정적으로 진단할 수 있다.

### 나. 확인검사

#### 1) 생화학적 검사

모든 분리균주는 결핵균 동정을 위해 생화학적 검사(나이아신 생산과 나이트레이트 환원) 또는 특이유전자 동정에 의한 확인이 필요하다. 적절한 피루베이트 고형배지(배지 86, pyruvate-based solid medium)에서 결핵균의 균은 담황색이다. 결핵균은 37°C에서 느리게 성장하며, 22°C 또는 45°C에서는 성장하지 않는다.

#### 2) PCR 시험 방법

고시 참조

### 다. 동물실험

고시 참조

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제8.4.4 배지 및 시액 참조)

멸균인산완충희석액 (시액 1) : R112520  
 멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G  
 Ringer Solution Tablets, 100tabs (BR0052G)  
 Phosphate Buffered Saline, Dulbecco A (BR0014G)

Brucella 배지(배지 85): R452662 + defibrinated bovine serum  
 TSB 배지 (Tryptic Soy Broth)(배지 23): CM0129B  
 Serum Dextrose 배지(배지 82) : LP0047B + LP0029B + LP0005B + SR0035C + LP0071B

Serum Dextrose 한천배지 (배지 83)  
 Liver 한천배지 (Liver agar) (배지 26)  
 Brucella 한천배지(배지 84): R452652 + defibrinated bovine serum  
 MacConkey 한천배지(배지 30): CM0115B

그램염색시약

Gram Stain Kit, 4x250mL (R40080)  
 includes 1 each of crystal violet, decolorizer, iodine, safranin and a tray  
 QC-Slide Gram Stain Control, 10 slides(R40140), 45 slides(R40142)  
 heat fixed quality control slide for Gram stain procedures

혈액배지 배양: 혈액한천배지(배지 79): CM0055B + SR0051B

Oxidase 검사: Oxidase Strips, 50T (MB0266A) 또는 BactiDrop Oxidase 0.75mlx50 앰플 (R21540)

Nitrate 시험

Nitrate Broth, 20x5ml (R061532) 또는 Buffered Nitrate Motility Medium, 24x10ml (BO1069E)

Nitrate A reagent, 25ml (R21239) + Nitrate B reagent, 25ml (R21242)

또는 BactiDrop Nitrate A, 0.75mlx50ampules (R21536) + BactiDrop Nitrate B, 0.75mlx50ampules (R21538)

Urea 시험: Urea Agar Base (Christensen Agar Base), 500g (CM0053B)

+ Urea 40% Solution, 10x5mL (SR0020K)

## 가. 배양 및 균 분리

- ① 검체 25 g 또는 25 mL을 amphotericin B 1 µg/mL, vancomycin 20 µg/mL가 첨가된 225mL의 다음의 배지중 하나에 넣은 후 균질화 한다.
  - TSB 배지(배지 23)
  - Brucella 배지(배지 85)
  - Serum Dextrose 배지(배지 82)
- ② 5~10%의 CO<sub>2</sub> 가스 주입이 되는 37°C 배양기에서 6주 동안 배양하면서 주마다 배지에 도달하여 확인 한다.
  - \* 다만, 검체가 심하게 오염되었거나 브루셀라균이 매우 낮은 농도로 오염되었을 가능성이 클 경우에 동물실험을 할 수 있다.

## 나. 동물실험

우유의 경우는 25 mL를 3,000 rpm으로 30분간 원심분리 하여 유지부와 침전물을 직접도말 배양하고 두 마리 이상의 guinea pig(250~300 g 체중)에 3~5 mL씩을 피하 또는 찰과상을 입은 피부에, 세 마리 이상의 마우스(12~15 g)의 정맥 또는 복강 내에 0.25~0.5 mL씩을 주사한다.

고체시료는 시료 25 g에 희석액 225 mL를 가한 후 유제액을 조제하여 직접도말 배양하고 또한 유제액을 멸균가아제로 여과한 후 그 여액 또는 1,000 rpm에서 5분간 원심분리 하여 얻은 상층액을 실험동물에 접종한다. 실험동물 접종 3주 후에 채취한 혈청에 대해 브루셀라 항체가 형성되었는지 여부를 검사하고 비장에서 브루셀라균을 분리배양 한다.

## 다. 확인검사

## 1) 생화학적 검사

- ③ 다음 중 하나의 브루셀라균의 분리용 배지에 접종한다.
  - Brucella 한천배지(배지 84)
  - Liver 한천배지 (배지 26)
  - Serum Dextrose 한천배지(배지 83)
- ④ 5~10% 탄산가스 조건하에 37°C에서 3~5일간 배양하고 집락을 관찰한다.  
형성된 집락은 소원형으로서 다소 융기되어 있고 투명한 빛깔이 있으며 착색되어 있지 않으나 시일이 경과된 집락은 약간 불투명하고 갈색을 띤 회백색을 보인다.
- ⑤ 염색하여 검경하면 그람음성의 단간균으로 구균처럼 보인다.
- ⑥ 액체배지에서 37°C로 24시간 배양하면 균일 혼탁하게 발육하고 10일 이상 경과하면 더욱 혼탁하여지면서 적조한 균덩어리(clamp)가 균막과 같이 표면으로부터 관벽에 엉긴다.
- ⑦ 이 균은 운동성이 없으며 당류도 거의 분해하지 않고 혈액배지에서 용혈성이 없다.
- ⑧ MacConkey 한천배지(배지 30)에서 성장하지 않으며, urease 양성, oxidase 양성, catalase 양성, 질산염환원 양성 등 생화학적 시험 결과로 최종 판정한다.

## 2) PCR 시험방법

고시 참조

# 미생물 배양 배지 사용법과 주의사항

## 배지에 대한 일반적인 주의사항

분말배지는 습기, 열, 빛에 민감합니다. 용기에 기재된 유효기한은 개봉 전 사용가능기간이며, 개봉 후에는 온도, 습도 등 여러가지 조건에 의해 배지가 변성될 수 있으니 유의해야 합니다. 병에 적혀 있는 보관 조건을 확인하고 반드시 지켜주십시오.

- 실험실에 입고된 날짜를 적어둡니다.
- 라벨에 적힌 대로 보관합니다. 보통 직사광선과 고압증기멸균기, 건조오븐 등 열이 발생하는 기구에서 떨어진 건조한 곳에서 25°C 정도의 조건으로 보관합니다. 2-8°C라고 적혀있는 제품은 냉장 보관합니다.
- 라벨에 적힌 유효기간을 확인합니다. 흡습성이 강한 일부 품목은 다른 제품에 비해 유효기간이 훨씬 짧습니다.
- 유효기한 순으로 사용합니다. 사용중인 배지를 다 사용하기 전에 새 병을 개봉하지 마십시오. 개봉일자를 병에 적어둡니다. 사용한 후에는 반드시 뚜껑을 단단히 닫았는지 확인하고 지정된 보관장소에 보관합니다.
- 평소 사용하는 양에 알맞은 규격의 제품을 주문합니다. 병을 자주 개봉할수록 보관 중에 배지가 변질될 수 있습니다. 건조 분말 상태가 아니거나, 색깔이 변했거나, 어떤 식으로든 정상이 아닌 것으로 보이는 배지는 사용하지 마십시오.

## 개봉 후 분말배지의 유효기간은?

- OXOID 분말배지의 라벨에 적혀있는 유효기간은 제품을 개봉하지 않은 상태일 때의 기간입니다. 보통 총 유효기간은 3~5년입니다.
- 일단 개봉하면 제품의 총 유효기간은 자동적으로 감소합니다. 유효기간은 얼마나 자주 병을 개봉하고 보관 조건이 어떤지에 따라 달라집니다. 특히 흡습성이 강한 제품은 개봉 후 6개월 이내에 변질될 수도 있습니다.
- 분말배지는 개봉 후 물리적인 상태가 유지되는지 확인하기 위해 일정 기간 마다 면밀히 확인해야 하며 여전히 건조 분말상태일 때만 사용해야 합니다.
- 선택배지 및 유효기간이 짧은 배지는 개봉 후 표준 균주를 사용해 성능확인시험을 실시해야 합니다.
- 분말배지의 보관기간을 최대화하기 위해서는 반드시 습기가 많은 곳을 피해 보관해야 합니다.

## 분말배지를 녹이는 방법

배지를 제조하는 방법은 각 병의 라벨 및 제품 매뉴얼에 적혀있습니다. 일반적으로 일주일 분량씩 만들어서 쓰는 것이 좋습니다.

- 증류, 탈이온, 역삼투 등으로 만든 물을 사용합니다. 반드시 구리 등의 유독한 금속 이온이 없어야 합니다. 물의 pH를 확인해 보고, 5.5 이하이면 끓여서 CO<sub>2</sub>를 제거한 후 다시 확인합니다. 물의 전도율이 15µS 이하여야 합니다. 사용하기 전에 유리제품을 잘 행궈서 사용합니다.
- 배지 제조량의 두 배 정도의 크기의 용기에서 배지를 만듭니다. 바람과 습기가 없는 곳에서 배지를 개봉합니다. 분말을 흡입하거나 피부에 장시간 접촉하지 않도록 주의합니다.
- “분말 구름”이 생기지 않도록 주의하며 빠르고 정확하게 분말의 무게를 측정합니다. 되도록 빨리 배지를 다시 밀봉합니다. (클린 벤치 또는 적절한 배기시설이 있는 벤치에서 무게를 재는 것이 좋습니다.)
- 필요한 물의 반만 넣고 몇 분간 흔들어 섞은 후 나머지 물로 벽에 붙은 배지 가루를 씻어내며 넣습니다. 물이 든 높이보다 위쪽에 붙어있는 분말은 고압증기 멸균되지 않아 오염을 유발할 수 있으므로 이 과정은 매우 중요합니다.

- Agar가 없는 배지는 보통 살살 흔들어 섞어주면 녹습니다.
- Agar가 들어있는 배지는 고압증기멸균하기 전에 끓여 agar를 녹여주어야 합니다. 배지를 끓을 때까지 가열하되, 태우거나 과열하면 안됩니다. 고압증기멸균하면 안 되는 배지는 이 정도의 열을 가한 후 페트리디쉬나 기타 용기에 분주하면 됩니다. 대부분의 배지는 121°C에서 15분간 고압증기멸균하여 최종 멸균해야 합니다.
- 분말배지의 pH는 이미 조정되어 있으므로 생배지의 최종 pH는 25°C로 식혔을 때 라벨에 적혀 있는 수치를 따르게 됩니다. pH조정이 필요할 경우, 멸균하기 전이 아닌 멸균 후에 합니다.

## 고압증기멸균 전에 배지를 꼭 끓여야 하나요?

- OXOID에서는 고압증기멸균 전에 배지를 끓일 것을 권장합니다. 모든 분말에 완전히 용해된 것을 확인해야 하기 때문입니다.
- 분말이 완전히 녹아 한천이 배지에 골고루 분포되어 있음을 확인해야 하며, 만약 분말이 물보다 높은 곳에 남아있을 때 발생할 수 있는 멸균 후 오염을 최소화하기 위해서입니다.
- 멸균 전에 모든 분말이 완전히 녹았다는 것이 확인된다면 멸균 전 가열 과정은 생략할 수 있습니다.

## OXOID 배지에 대한 고압증기멸균(Autoclave)

121°C에서 15분이라는 표준척도에 따라 고압증기멸균하는 배지를 멸균할 때는 다음과 같은 사항을 고려해야 합니다.

- 최적의 성능을 보장하기 위해서 반드시 배지제조사의 설명서를 주의하여 확인해야 합니다. OXOID 배양 배지의 멸균방법에 대한 시간과 온도 조건은 1리터를 기준으로 존재하는 열에 내성이 있는 세균에 대한 시험을 통해 얻은 결과에 근거하여 설정되었습니다.
- 멸균하는 동안 가해지는 열의 양은 존재 가능한 대부분의 미생물을 없애기에 필요한 양보다 훨씬 큼니다. 119~123°C를 벗어난 온도에서 행해진 멸균은 멸균상태와 성능이 적합한지 적절한 품질 관리시험을 통해 확인합니다.
- 당 함유량이 높거나, sodium desoxycholate, bile salts 등의 억제제가 들어있는 배지는 열에 더 민감합니다. 과열할 경우 최종 배지의 pH가 떨어집니다.
- 1리터 이상을 제조할 때는 고압증기멸균하기 전에 미리 가열하여 agar가 녹도록 해야 합니다. 배지가 젤라틴을 포함하고 있거나 고압증기멸균하기 전에 최종용기에 배지를 분주해야 하는 것이 아니면, 이 보다 적은 양의 배지는 보통 가열할 필요가 없습니다.
- 고압증기멸균에 적당한 용기는 바닥이 넓은 플라스크입니다. 벽이 얇은 병은 피해야 합니다. 배지 손실을 최소화하기 위해 용기는 적당한 공간이 필요합니다.
- Autoclave에 표시되는 멸균온도가 배지의 온도를 나타내는 것은 아닙니다. Autoclave의 온도 변화 시간은 최대한 짧아야만 합니다. 멸균 사이클은 적절한 열 침투 시간을 고려해야만 합니다. 예를 들어 배지 1리터는 121°C에 도달한 autoclave 챔버에서 15분 안에 121°C에 도달해야 합니다.
- Autoclave의 부하량과 agar를 포함한 배지의 상대적으론 낮은 열전도율이 고려되어야 합니다.
- Autoclave의 온도 탐침은 밸브나 배수구 쪽에 위치하는 것이 가장 좋습니다. 이 부분이 챔버의 가장 시원한 부분이기 때문에 가열 과정의 변화를 가장 잘 나타냅니다.
- Autoclave를 벨리데이션 할 때는 해당 제조사와 상담해야 합니다.

# 미생물 배양 배지 사용법과 주의사항

## 배지를 만들 때 전자레인지를 사용해도 되나요?

OXOID 는 다음과 같은 이유로 배지를 멸균하거나 다시 녹일 때 전자레인지를 사용하는 것을 권장하지 않습니다.

- 고르게 가열되지 않을 수 있습니다.
- 배지의 세로면을 따라 뜨거운 부분이 생길 수 있고 그 부분이 심하게 가열되어 용기가 폭발할 수 있습니다.
- 전자레인지 멸균은 오직 수분이 있을 때만 가능합니다. 용기 내부의 윗부분이 사전에 멸균되지 않았다면 사후 오염의 원인이 될 수 있습니다.

## 녹인 첨가제를 보관해도 되나요?

- 일단 녹인 첨가제는 모두 사용하는 것을 권장합니다.
- 첨가제를 금방 녹여서 사용한 후 남았을 경우에는 일정량(1리터 분량 등)으로 나누어 -20°C에 냉동 보관합니다. 이렇게 보관한 경우 용액은 세 달 정도까지 안정성을 유지합니다.
- 얼렸던 용액은 딱 한번 해동해서 즉시 사용해야 합니다.
- 실험실마다 냉동속도와 용액의 양 등이 달라 변수가 많기 때문에 이러한 방법에 대해 시험한 구체화된 데이터는 없습니다. 또한 일부 첨가제는 이러한 방법을 사용하는 것이 적합하지 않습니다.
- 이런 방법을 자주 사용한다면 각 사용자마다 얼렸던 용액과 금 녹인 첨가제에 대해 성능에 대한 평가가 필요합니다.

## 고체 배지를 다시 녹이는 방법

- 고압증기멸균이 가능한 대부분의 배지는 고압증기멸균법으로 다시 녹일 수 있습니다. 과열을 줄이기 위해서는 증기로 찌는 것이 가장 좋습니다. 과열되면 pH 가 떨어질 수 있고 최종 배지의 겔 강도가 감소할 수 있습니다.
- 배지를 100ml 기준으로 20-25 분간 증기로 가열하면 완전히 녹습니다. 증기가열이 불가능하면 121°C에서 5-15 분간 고압증기멸균할 수도 있습니다.
- 선택배지는 재용해하면 안됩니다. 다수의 선택제제가 열에 민감하므로 배지를 추가로 가열하면 배지의 선택성이 감소할 수 있습니다. 항생제 첨가물은 기초배지를 다시 녹인 후 첨가할 수 있습니다.
- 재용해한 배지는 성능시험하는 것을 권장합니다.

## 생배지 보관방법

- 생배지의 성능은 제조 후 저하될 수 있으며, 그 속도는 배지 구성물질의 안정성에 따라 다릅니다.
- 최적의 유효기간은 제조 후 보관 기간 동안 미생물학적 시험을 하여 결정해야 합니다. 보관조건이 다르므로 이러한 시험은 각각의 실험실에서 진행해야 할 필요가 있을 것입니다.
- 페트리디쉬에 분주한 배지는 파라필름 등으로 감거나 밀봉된 용기에 넣어 뒤집은 상태로 어두운 곳에서 2-8°C 냉장 보관합니다 (배지가 얼지 않도록 주의합니다).
- 위와 같은 조건에서 일반적인 유효기간은 다음과 같습니다.
  - 혈액이 없는 영양배지: 2~4 주
  - 혈액배지: 7 일
  - 불안정한 첨가물이 든 혈액배지: 2~5 일
  - 대부분의 선택배지: 5~7 일
- Baird Parker Agar 같은 일부 배지는 불과 몇 일이라도 보관함에 따라 일부 staphylococci 에 대한 선택성이 증가함을 보입니다. 이와 비슷하게 Bismuth Sulphite Agar 도 제조 후 48 시간 이내에 선택성이 증가합니다.
- 병에 분주한 단순한 비선택 액체배지, 희석액, 고체배지는 일

단 제조하여 멸균하면 시원하고 어두운 곳에서 6 개월까지 보관할 수 있습니다. 그러나 Buffered Peptone Water 를 장기 보관하면, 사용한 물이 순수하지 않을 경우 침전물이 생길 수 있습니다.

- 선택배지는 2-8°C에서 3 주 이상 보관하면 안됩니다. 일부 선택 액체배지 (예를 들어 Selenite Broth)는 약간 더 안정하여 어두운 곳에서 2-3 달까지 보관이 가능하기도 합니다. 선택 고체배지는 다시 녹이면 안되기 때문에 병 타입으로 보관할 수 없습니다.

## 생배지의 폐기 방법

- 접종한 배지는 잠재된 위험성을 가진 미생물을 포함하고 있을 가능성이 큼니다. 그러므로 공인된 방법에 따라 안전하게 폐기해야 합니다.
- 오염된 검체나 접종한 배지는 훈련된 직원들만 취급해야 합니다.
- 오염되었거나 사용한 모든 기구는 안전하게 폐기 또는 멸균해야 합니다. 121°C에서 60 분간 고압증기멸균해야 합니다.
- 고압증기멸균 후 배지는 일반적인 폐기물처리 또는 소각과정을 통해 폐기합니다. Selenite 를 포함한 배지는 특별 폐기물로 처리해야 합니다. 만약 특정한 배지에 대한 처리방법에 대해 궁금하다면 각 지역의 폐기물 처리 기관과 상담합니다.

## 배지의 pH 시험방법

- 배지 제조에는 증류수 또는 탈이온수를 사용해야 합니다. 또한 전도율이 15µS를 넘지 않고, pH가 5.5 이하이거나 7.7 이상이어서는 안됩니다. 탈이온 과정이 부적절할 경우 공정 중 사용된 산 잔여물이 배지의 최종 pH 를 떨어뜨릴 수 있습니다.
- 생배지의 pH 는 실온 (25°C)에서 최종 형태의 상태일 때 시험해야 합니다. 그러므로 한천 배지는 고체상태이므로 측정을 용이하게 하기 위해 pH 탐침이 편평한 것을 사용하는 것이 좋습니다. 온도 보정은 권장하지 않습니다. OXOID 실험실에서는 BDH double-junction flat-tipped combination electrode 같은 전극을 추천합니다.
- pH는 제품 라벨에 적힌 범위 내에 있어야 합니다. 배지에 첨가제, 혈액, 혈청, 난황액 등이 첨가될 때 pH 범위는 모든 첨가제가 첨가된 완전한 배지에 적용합니다.
- 명시된 pH 를 벗어난 경우 다음을 고려해야 합니다.
  - 물의 pH 가 너무 낮거나 높은지 확인한다: 필요하다면 알칼리(NaOH)나 산(HCl)으로 물의 pH를 보정한다. 대기에서 CO<sub>2</sub>를 흡수하지 않도록 방지하기 위해 사용한 물은 되도록 신선해야 한다. 순수의 pH 를 확인하기 위해 소량의 KCl 을 넣어 이온을 제공해 pH 를 읽을 수 있도록 할 수 있다.
  - 사용한 유리용기가 배지제조에 적당하고 적절한 품질을 가지고 있는지 확인한다: 소다 유리를 피하고 유리기구를 잘 헹구어 산성 세제를 중화시킨다.
  - 배지의 pH를 고압증기멸균 전에 보정하지 않는다: 가열하는 시간과 온도가 과하지 않도록 주의한다. 과열은 제품의 최종 pH 에 영향을 미칠 수 있다.
- 명시된 pH 를 살짝 벗어난 경우 배지가 올바르게 작용하는지 증명하기 위한 벨리데이션은 승인 요구조건에 적합하기에 충분해야 한다. 그와 더불어 각 실험실은 해당 제조사에 이러한 점에 대해 적절한 조언을 구한다.

## 생배지의 품질관리시험

배지의 성능 특성이 기준에 적합인지 확인하고 배지제조법이 성

# 미생물 배양 배지 사용법과 주의사항

공적인지 판단하기 위해 각 사용자들은 품질관리시험을 실행해야 합니다. 각 제조분별로 성능이 적합하고 전형적인 세균 성능이 나오는지 적어도 최소한의 시험 프로그램을 적용합니다.

1. pH 시험: 25°C에서 최종제품으로 시험하여 제품 라벨에 주어진 범위에 있는지 확인한다. 범위를 벗어나는 제품은 폐기한다.
2. 멸균시험: 각 배치(batch)의 대표 시료를 35-37°C에서 2-5일간 배양한다. 일반적으로 100 플레이트 정도거나 그 이하는 3-5%의 제품을 시험하고 그 이상이라면 10 개를 무작위로 취해 시험한다. 배양 후 어떠한 미생물 배양의 증거도 없어야 한다. 시험이 끝난 후 모든 멸균시험시료는 폐기한다.
3. 성능시험: 보관 균주와/또는 신선균주로 표준 접종 과정에 따라 정량 및 정성 시험을 하여 제품의 성능을 시험한다. 지난 배치(batch)와 함께 시험하여 두 배치(batch)의 성능을 서로 비교한다.
4. 안정성: 배지를 보관하면서 주기적으로 위의 시험을 시행하여 최적의 결과를 보이는지 시험한다.

- 배지에 과도한 열이 가해졌다. (멸균시간이 길거나, 재용해했거나, 분주하기 전 50°C에서 너무 오래 방치하였다.)
- 낮은 pH 를 가진 배지를 과열했다.
- 무게를 잘못 측정했거나, 사용량보다 더 많은 물 또는 첨가물로 희석했다

만약 제조사의 권장사항을 모두 지켰는데도 배지가 예상 결과를 보이지 않으면 다음의 순서를 따릅니다.

1. 문제점의 성질 및 배지 제조 방법을 검토한다.
2. 제품을 받은 날짜와 제조번호를 기록한다.
3. 제조사에 문의한다.

## 배지의 성상이나 성능이 기준과 다를 때 고려사항들

pH 값이 다르다.

- pH 시험을 25°C 이상에서 시행했다.
- 배지에 과도한 열이 가해졌다. (멸균시간이 길거나, 재용해했거나, 분주하기 전 50°C에서 너무 오래 방치하였다.)
- 배지가 완전히 녹지 않았다.
- 물의 품질이 나쁘거나 용기의 선택이 잘못되었다.
- 분말배지의 보관조건이 잘못되었거나 유효기간이 지났다

배지가 뿌영거나 침전이 있다.

- 물의 품질이 나쁘거나 용기의 선택이 잘못되었다.
- 배지에 과도한 열이 가해졌다. (멸균시간이 길거나, 재용해했거나, 분주하기 전 50°C에서 너무 오래 방치하였다.)
- pH 값이 허용 기준과 다르다.
- 배지가 완전히 녹지 않았다

배지색이 진하다.

- 배지에 과도한 열이 가해졌다. (멸균시간이 길거나, 재용해했거나, 분주하기 전 50°C에서 너무 오래 방치하였다.)
- pH 값이 허용 기준과 다르다.
- 배지가 완전히 녹지 않았다

겔 강도가 약하다

- 용액에 Agar가 부족한 배지이다.
- 혼합이 잘 안되었다.
- 배지에 과도한 열이 가해졌다. (멸균시간이 길거나, 재용해했거나, 분주하기 전 50°C에서 너무 오래 방치하였다.)
- 낮은 pH를 가진 배지를 과열했다.
- 무게를 잘못 측정했거나, 사용량보다 더 많은 물 또는 첨가물로 희석했다

균성장이 나쁘다

- 용액에 Agar가 부족한 배지이다.
- 혼합이 잘 안되었다.

# 식품안전을 위한 ISO 방법

## 소개

국제표준기구(ISO, international Standards Organization)는 식품 검사의 여러 관점을 다루는 국제 표준을 19,000개 이상을 발표하였다. 많은 회사에서 식품, 사료, 환경검체를 검사하기 위해 ISO에 따른 방법을 선택한다. 인증 기관 및 규제 당국이 정한 표준에 부합하는 방법을 적용하여 감염성 생물의 수준을 통제하여 공중 보건을 보호함으로써, 회사는 증가하는 고객의 요구를 충족시키고 고객이 소비하기에 안전한 제품을 공급한다는 명성을 유지할 수 있다.

본 안내는 식품, 사료, 환경 검체들에 대해 상위 16개의 가장 일반적으로 사용되는 ISO 표준 방법의 구성에 부합하는 제품들을 소개한다:

- ① ISO 6888 Horizontal methods for the enumeration of **coagulase-positive Staphylococci** (*Staphylococcus aureus* and other species)
- ② ISO 6579:2002 A1:2007 Horizontal method for the detection of **Salmonella species**
- ③ ISO 11290 Horizontal methods for the detection and enumeration of **Listeria monocytogenes**
- ④ ISO 16649 Horizontal methods for the enumeration of **β-glucuronidase-positive Escherichia coli**
- ⑤ ISO 7251:2005 Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive **Escherichia coli** - MPN techniques
- ⑥ ISO 16654:2001 Horizontal method for the detection of **Escherichia coli O157**
- ⑦ ISO 21528 Horizontal methods for the detection and enumeration of **Enterobacteriaceae**
- ⑧ ISO 4831:2006 Horizontal method for the detection and enumeration of **Coliforms** - MPN technique
- ⑨ ISO 4832:2006 with 2009 corrigendum Horizontal method for the enumeration of **Coliforms** - colony-count technique
- ⑩ ISO 7937:2004 Horizontal method for the enumeration of **Clostridium perfringens** - colony-count technique
- ⑪ ISO 10272 Horizontal methods for the detection and enumeration of **Campylobacter** species
- ⑫ ISO 21871:2006 Horizontal method for the determination of low numbers of presumptive **Bacillus cereus** - MPN technique and detection methods
- ⑬ ISO 7932:2004 Horizontal method for the enumeration of presumptive **Bacillus cereus** - colony-count technique at 30°C
- ⑭ ISO 15214:1998 Horizontal method for the enumeration of **mesophilic lactic acid bacteria** - colony-count technique at 30°C
- ⑮ ISO 21567:2004 Horizontal method for detection of **Shigella species**
- ⑯ ISO 21527 Horizontal methods for the enumeration of **Yeast and moulds**

\* 본 내용의 흐름도는 관련 제품의 쉬운 이해를 위해 간략화 되어 있으므로, 완전한 흐름도에 대한 설명은 지정된 ISO 표준 문서를 참고해야 합니다.

## ① ISO 6888 Horizontal methods for the enumeration of **coagulase-positive Staphylococci** (*Staphylococcus aureus* and other species)

*Staphylococcus aureus*는 위생 관리에서 중요하며, 장독소를 생성하므로 식중독의 주요 원인균이다. 치즈, 우유, 그리고 손으로 만든 식품에서 흔히 발견되며, 사람의 코 및 피부에서 상존하는 세균이기 때문에 분포가 폭넓고 식품 제조사에 특히 중요하다.

### ①-1 Baird-Parker 배지를 사용하는 방법 (ISO 6888-1:1999 + A1:2003)

#### 검체 준비

ISO 6887, ISO8261, 또는 기타 적절한 표준에 따라, Buffered Peptone Water(CM1049)등의 적절한 희석액에 검체를 희석한다.

#### 분리

시험 검체 또는 그 희석액 0.1ml을 Baird Parker 배지(CM1127+SR0054)에 도말한다.

(1.0ml을 1개의 140mm plate 또는 3개의 90mm plate에 도말해도 된다)

24±2 시간동안 35°C 또는 37°C에서 배양한다.

#### 집락 확인

전형적인 집락이 없는 경우, 24±2 시간동안 더 배양한다.

#### 확인 시험

전형적인 집락을 취하여 Brain Heart Infusion Broth (CM1135)에 배양하고, Coagulase Plasma(R21050)로 coagulase 생성 시험으로 확인한다.

# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ①-2 토끼 혈장 피브리노겐(RPF) 배지를 사용하는 방법 (ISO 6888-2:1999 + A1:2003)

### 검체 준비

적절한 표준에 따라, 검체를 준비한다.

### 분리

1ml의 검체 또는 검체 희석액을 Baird Parker RPF 배지(CM0961+SR0122)에 주입평판법으로 접종한다.

18~24 시간동안 35°C 또는 37°C에서 배양한다.

필요시 24시간동안 추가로 배양한다.

### 결과 보고

전형적인 집락을 계수한다.

## ①-3 소수 균체의 검출 및 MPN 방법 (ISO 6888-3:2003)

### 정성 시험

#### 증균

Xg 검체를 9 Xml의 1배농도 Giolitti and Cantoni Broth(CM0523)에 첨가한다.

또는 10g 검체를 10ml의 2배농도 Giolitti and Cantoni Broth(CM0523)에 첨가한다.

Agar 또는 paraffin으로 시험관을 밀봉한다.

24±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.

음성 시험관의 경우 48±2시간 동안 추가배양한다.

#### 분리

Baird Parker Agar (CM1127+SR0054)에 도말한다.

또는 Baird Parker RPF Agar (CM0961+SR0122)에 도말한다.

24±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.

#### 집락 확인

전형적인 집락의 위치를 확인한다.

#### 확인 시험

전형적인 집락을 취하여 Brain Heart Infusion Broth (CM1135)에 배양하고, Coagulase Plasma(R21050)로 coagulase 생성 시험으로 확인한다.

### 정량 시험

#### 증균

정성시험과 같으나 사용되는 배지는 potassium tellurite가 첨가된 Giolitti and Cantoni Broth(CM0523+SR0030)이다.

Agar 또는 paraffin으로 시험관을 밀봉한다.

24±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.

음성 시험관의 경우 48±2시간 동안 추가배양한다.

#### 분리

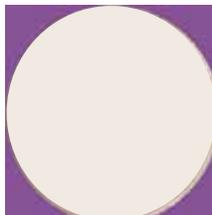
#### 결과 보고

전형적인 집락을 계수한다.

## ①-4 Brilliance™ Staph 24 Agar (ISO 16140 Validated alternative)

24시간만에 계수 / ISO16140 밸리데이션 완료

0일



1일



검체를 적절한 희석액에 희석하고,

희석검액 0.1ml을 2회 취하여, 각 각 2개의 **Brilliance Staph 24** Agar 평판(PO1186A)에 도말한다.

24±2시간동안 37±1°C에서 배양한다. 전형적인 집락(암청색)을 관찰 및 계수한다.

잘 분리된 집락 5개를 취하여 **Coagulase** 응집 시험(R21050)을 한다.

# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ② ISO 6579:2002 A1:2007 Horizontal method for the detection of **Salmonella species**

Salmonella 속은 장내세균과에 속한다. 살모넬라균은 그람-음성, 포자 무생성 간균이다. 체세포 및 플라젤라 항원에 따라 분류되어 약 2,500개의 혈청형이 존재한다. 살모넬라는 가장 빈번한 식중독 원인균 중 하나이며 전세계적으로 공중 보건을 위협하고 있다. 식품이 소비되기 전에 살모넬라를 검출하는 것은 공공 보건에 중요하며 식품 산업의 재정 건전성과 평판을 유지하는데 중요하다.

### ②-1 Salmonella species 검출(ISO 6579:2002 A1:2007)

#### 전-증균 (Pre-enrichment)

검체를 Buffered Peptone Water (ISO) (CM1049)에 1:10 희석하여 준비한다.  
18±2 시간 동안 37±1°C에서 배양한다.

#### 선택적 증균 (Selective enrichment)

배양액 0.1ml을 10ml의 RVS broth(CM0866)에 첨가한다.  
24±3 시간 동안 41.5±1°C에서 배양한다.

배양액 1ml을 10ml의 MKTTn broth (CM1048+SR0181)에 첨가한다.  
24±3 시간 동안 37±1°C에서 배양한다.

#### 분리 (Isolation)

XLD Agar (CM0469) 와 다음의 배지 중 하나에 계대배양한다.  
• Brilliance Salmonella Agar (CM1092+SR0194)  
• Brilliant Green Agar (mod) (CM0329)  
24±2 시간 동안 37±1°C에서 배양한다.

#### 순수 배양 (Purity Plate)

전형적인 집락을 Nutrient Agar에 도말한다.  
24±3 시간 동안 37±1°C에서 배양한다.

#### 생화학 확인시험 (Biochemical confirmation)

TSI사면배지 : TSI Agar (CM0277)  
Urea 시험 : Urea Agar (CM0053+SR0020)  
Lysine decarboxylase 시험 : Lysine Decarboxylase Broth Tablets (CM0308)  
VP시험 : MRVP (CM0043)  
Indole시험: Tryptone water (CM0087)+Kovac's indole reagent(MB0209A)

#### 혈청형 확인시험 (Serological confirmation)

O-항원 (R30858201)  
Vi-항원 (R30957401)  
H-항원 (R30858501)

# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ②-2 Salmonella PreciS™ Method(ISO 16140 Validated alternative)

2일만에 완료하는 *Salmonella* spp. 신속확인법



**0일**

검체 25g(mL)을 225ml의 **ONE Broth-Salmonella**에 넣어 균질화 한다.

↓ 16-20hr, 42°C 배양한다.



**1일**

10μl를 **Brilliance Salmonella plate**에 접종한다.

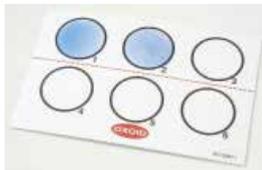
↓ 22-26hr, 37°C 배양한다.



**2일**

의심 집락을 확인한다:  
보라색 집락

↓ 의심집락을 취해서 확인한다.  
**Oxoid Salmonella Test Kit**  
(또는 기타 ISO 표준방법)



필요한 배지 및 시약

종균배양	용량	제품번호
ONE Broth-Salmonella (병, 생배지)	10x225ml	BO1096S
ONE Broth-Salmonella Base	500g	CM1091B
+ ONE Broth-Listeria Supplement	10 vials	SR0242E
평판배양		
Brilliance Salmonella (90mm, 생배지)	10 plates	PO5098A
Brilliance Salmonella Agar Base	500g	CM1092B
+ Brilliance Listeria Selective Suppl.	10 vials	SR0194E
확인시험		
Oxoid Salmonella Test Kit	100 tests	DR1108A
RapID ONE Panel	20 panels	R8311006
O.B.I.S. Salmonella	60Test	ID0570M
Gram Stain Kit	250ml x 4	R40080
Triple Sugar Iron Agar	500g	CM0277B
Urea Agar Base	500g	CM0053B
+Urea 40% Sol. (for 100mL medium)	10x5mL	SR0020K
Lysine Decarboxylation Broth Tablets	100 tablets (each make 5ml)	CM0308S
Spot Indole Reagent (DMACA)	25mL	R21245
Salmonella O and H Agglutinating Sera	Various	Various
QC Organisms - Culti-Loops		
Salmonella Typhimurium ATCC® 14028™	5 loops	R4606000
Staphylococcus aureus ATCC® 25923™	5 loops	R4607010
Klebsiella pneumoniae ATCC® 13883™	5 loops	R4607037
Enterococcus faecalis ATCC® 29212™	5 loops	R4607030
Escherichia coli ATCC® 25922™	5 loops	R4607050

- ISO 16140 표준으로 AFNOR에 의해 검증됨
- 간단하고 쉬운 방법 - 특별한 장비 필요 없음
- 1회의 18시간 증균 배양
- 1회의 검체 이동
- 1회의 24시간 평판 배양
- 빠르고 편리한 확인시험: Oxoid Salmonella Latex Test (또는 기타 ISO 6579:2002 표준 시험법)
- 결과 도출까지 시간 절약: 최대 5일이 필요한 표준 배양법에 비해 2일만에 결과 도출

# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ③ ISO 11290 Horizontal methods for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*

리스테리아는 그람-양성, 카탈라제-양성, 포자 무생성, 플라겔라를 가진 간균이다. *Listeria monocytogenes* 및 *Listeria ivanovii*가 토양, 초목, 물에서 기인하는 사람의 질병과 지속적으로 관련되어 있다. 성장 온도가 0~45°C 이므로 차가운, 냉장의 즉석 섭취 음식에서 중요한 식품유래 병원균이다.

### ③-1 정성시험(ISO 11290-1:1996 A1:2004)

#### 1차 증균 (Primary enrichment)

Xg 또는 XmL의 검체 또는 검체 희석액을 9 X mL의 Half Fraser Broth (CM0895+SR0166)에 첨가한다.  
24±2 시간 동안 30°C에서 배양한다.

#### 2차 증균 (Secondary enrichment)

0.1ml의 1차 증균 배양액을 10ml의 Fraser Broth (CM0895+SR0156)에 넣는다. -  
48±2 시간 동안 35°C 또는 37°C에서 배양한다. 24±2 시간 동안 30°C에서 배양한다.

#### 선택적 분리 (Selective Isolation)

ALOA 배지(CM1084+SR0226+SR0244)와 다음 배지 중 하나에 도달한다  
• PALCAM (CM0877+SR0150)  
• Oxford (CM0856+SR0140 or SR0206)  
24±3시간 동안 37°C에서 배양한다.  
필요시 추가로 24±3시간 동안 배양한다.

#### 순수 배양 (Purity Plate)

전형적인 집락을 위해서 Tryptone Soya Yeast Extract Agar (CM0862 + 9~12g Agar(LP0012))에 계대배양한다  
18~24시간 동안 35~37°C에서 배양한다.

#### *Listeria* spp. 확인 시험

Catalase 시험  
Gram 염색 : Gram Stain Set (R40080)  
운동성 시험: Tryptone Soya Yeast Extract Broth (CM0862)

#### *Listeria monocytogenes* 확인 시험

용혈 시험: Sheep Blood Agar (CM0055+SR0051 또는 BO0965)  
Carbohydrate Utilization  
CAMP 시험

### ③-2 정량 시험 (ISO 11290-2:1998 A1:2004)

#### 1차 증균 (Primary enrichment)

Xg 또는 XmL의 검체를 9 X mL의 Buffered Peptone Water (ISO) (CM1049) 또는 Half Fraser Broth (CM0895+SR0166)에 첨가한다.  
1시간±5분 동안 20±2°C에서 현탁액을 방치한다.

#### 선택적 분리 (Selective Isolation)

ALOA 배지(CM1084+SR0226+SR0244)에 도달한다  
24±3시간 동안 37°C에서 배양한다.

#### 순수 배양 (Purity Plate)

전형적인 집락을 위해서 Tryptone Soya Yeast Extract Agar (CM0862 + 9~18g Agar(LP0012))에 계대배양한다  
18~24시간 동안 37°C에서 배양한다.

#### *Listeria* spp. 확인 시험

Catalase 시험  
Gram 염색 : Gram Stain Set (R40080)  
운동성 시험: Tryptone Soya Yeast Extract Broth (CM0862)

#### *Listeria monocytogenes* 확인 시험

용혈 시험: Sheep Blood Agar (CM0055+SR0051 또는 BO0965)  
Carbohydrate Utilization  
CAMP 시험

# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ③-3 Listeria Precip method (ISO 16140 Validated alternative)

2일만에 완료하는 *Listeria monocytogenes* 신속확인법

필요한 배지 및 시약

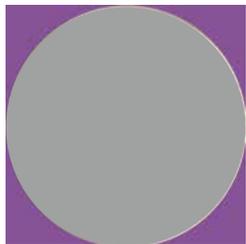
종류	용량	제품번호
증균배양		
ONE Broth-Listeria (병, 생배지)	10x225ml	BO1066S
ONE Broth-Listeria Base	500g	CM1066B
+ ONE Broth-Listeria Supplement	10 vials	SR0234E
Buffered Peptone Water	500g	CM0509B
평판배양		
Brilliance Listeria (90mm, 생배지)	10 plates	PO5165A
Brilliance Listeria Agar Base	500g	CM1080B
+ Brilliance Listeria Selective Suppl.	10 vials	SR0227E
+ Brilliance Listeria Differential Suppl.	10 vials	SR0228E
확인시험		
O.B.I.S. mono Kit	60 tests	ID0600M
RapID CB Plus Panel	20 panels	R8311008
Gram Stain Kit	250ml x 4	R40080
Oxidase Strip	50 tests	MB0266A
Tryptone Soya Broth	500g	CM0129B
+ Yeast Extract Powder	500g	LP0021B
+ Agar Bacteriological	500g	LP0012B
Blood Agar Base No. 2	500g	CM0271B
+ Defibrinated Sheep Blood	25ml	SR0051B
Microorganisms for CAMP Test		
Staphylococcus aureus ATCC 25923™	5 loops	R4607010
Rhodococcus equis ATCC 6939™	5 loops	R4605400
QC Organisms - Culti-Loops™		
Listeria monocytogenes ATCC®7644™	5 loops	R4603970
Listeria innocua ATCC®33090™	5 loops	R4609005
Escherichia coli ATCC®25922™	5 loops	R4607050
Enterococcus faecalis ATCC®29212™	5 loops	R4607030



0일

검체 25g(mL)을 225ml의 ONE Broth-Listeria에 넣어 균질화 한다.

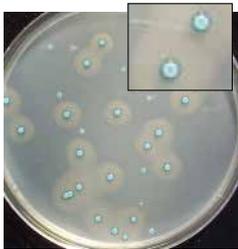
↓ 22-26hr, 30°C 배양한다.



1일

10μl를 Brilliance Listeria plate에 접종한다.

↓ 22-26hr, 37°C 배양한다.



2일

의심 집락을 확인한다: 환이 있는 청색/녹색 집락

\* 식육의 경우, 전형적인 집락이 없으면, 22-26시간 더 배양한다.

↓ 의심집락을 취해서 확인한다.

**O.B.I.S. mono kit**

(또는 기타 ISO 표준방법)



- ISO 16140 표준으로 AFNOR에 의해 검증됨
- 간단하고 쉬운 방법 - 특별한 장비 필요 없음
- 1회의 24시간 증균배양
- 1회의 검체이동
- 1회의 24시간 평판 배양
- 빠르고 편리한 확인시험: O.B.I.S. mono test (또는 기타 ISO 11290 표준 방법들)
- 결과 도출시간 감소: 최대 7일이 소요되는 표준 배양 및 확인 시험법에 비해 2일 소요

정량시험의 경우, 25g(mL) 검체를 225mL Buffered Peptone Water에 넣고, 20°C, 1hr 배양한다. 100ul 배양액을 Brilliance Listeria plate에 접종후, 37°C, 45-51hr 배양한다. 의심집락을 계수한 후 집락을 취하여 O.B.I.S. mono 키트 (또는 기타 ISO 표준방법)로 확인한다. 검체의 CFU/g(mL)을 계산한다.

! 확인시험에 사용할 집락의 양이 부족하거나 다른 Listeria 종과 겹친 경우, 해당 집락을 추가로 Brilliance Listeria plate에 순수배양 후, 확인시험을 실시한다.

# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ④ ISO 16649 Horizontal methods for the enumeration of $\beta$ -glucuronidase-positive *Escherichia coli*

대장균은 장내세균과(Enterobacteriaceae)에 속하며 많은 하위 그룹으로 나누어진다. 분변 대장균군의 존재 여부에 대한 수질 검사에서 지표 생물로 사용된다. 조리되지 않은 식품에서 설사 질환의 지속적인 원인이며 질병의 심각성에 기반한 가장 중요한 그룹은 *E.coli* EHEC이며 여기에는 O157:H7 균주도 포함된다.

### ④-1 membrane 및 5-bromo-4-chloro-3-indoly- $\beta$ -D-glucuronide를 이용한 44°C 배양 집락 계수 방법 (ISO 16649-1:2001)

#### 균체 회복 (Resuscitation)

1mL의 검체 또는 검체 희석액을 Mineral Modified Glutamate Agar(CM0607)상의 멤브레인에 접종한다.

4±1시간 동안 37°C에서 배양한다.

#### 분리 (Isolation)

멤브레인을 TBX Agar(CM0945)으로 옮긴다.

18~24시간 동안 44°C에서 배양한다. 4층이하 높이

#### 결과 보고

전형적인 집락을 계수한다.

### ④-2 5-bromo-4-chloro-3-indoly- $\beta$ -D-glucuronide를 이용한 44°C 배양 집락 계수 방법(ISO 16649-2:2001)

#### 분리 (Isolation)

이중시험으로 1mL의 검체 또는 검체 희석액을 TBX Agar(CM0945)에 주입평판법으로 접종한다.

18~24시간 동안 44°C에서 배양한다.

만일 균체가 스트레스를 받아왔을 것으로 의심된다면, 4시간동안 37°C에서 배양을 한 후 18~24시간 동안 44°C에서 배양한다.

#### 결과 보고

전형적인 집락을 계수한다.

### ④-3 5-bromo-4-chloro-3-indoly- $\beta$ -D-glucuronide를 이용한 MPN 방법(ISO 16649-3:2005)

#### MPN

10mL의 액체 검체 또는 초기 현탁액을 10mL의 2배 농도 Minerals Modified Glutamate Broth (CM0607)가 든 시험관 3 또는 5개에 각각 첨가한다.

24±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.

1mL의 액체 검체 또는 초기 현탁액을 10mL의 Minerals Modified Glutamate Broth (CM0607)가 든 시험관 3 또는 5개에 각각 접종한다.

같은 방법으로 추가 희석을 진행한다.

24±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.

#### 확인 시험 (Confirmation)

산 생성을 보이는 시험관을 TBX agar (CM0945)에 접종한다.

22±2시간 동안 44°C에서 배양한다. 3단 이하 높이로 쌓는다.

#### MPN 계산

전형적인 집락을 확인한다.

# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ⑤ ISO 7251:2005 Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* - MPN techniques

대장균은 장내세균과(Enterobacteriaceae)에 속하며 많은 하위 그룹으로 나누어진다. 분변 대장균군의 존재 여부에 대한 수질 검사에서 지표 생물로 사용된다. 조리되지 않은 식품에서 설사 질환의 지속적인 원인이며 질병의 심각성에 기반한 가장 중요한 그룹은 *E.coli* EHEC이며 여기에는 O157:H7 균주도 포함된다.

### 선택적 증균(Selective Enrichment)

1mL의 초기 현탁액을 9mL의 Lauryl Sulphate Broth (CM0451)에 접종한다.  
또는 10mL의 현탁액을 10mL의 2배농도 Lauryl Sulphate Broth (CM0451)에 접종한다.  
\* 샘플 크기에 따라 변경이 가능하다.  
24±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.  
음성 시험관의 경우, 48±2 시간 동안 배양한다.

### 전-증균(Pre-enrichment)

검체를 1배 농도 및 2배 농도의 의 Lauryl Sulphate Broth (CM0451)에 희석하여 준비한다.  
24±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.  
음성 시험관의 경우, 48±2 시간 동안 배양한다.

### 양성 배양체의 선택적 증균

배양액 1 루프양을 EC Broth (CM0853)에 접종한다.  
24±2 시간 동안 44°C에서 배양한다.  
음성 시험관의 경우, 48±2 시간 동안 배양한다.

배양액 1 루프양을 EC Broth (CM0853)에 접종한다.  
24±2 시간 동안 44°C에서 배양한다.  
음성 시험관의 경우, 48±2 시간 동안 배양한다.

### 양성 배양체의 확인 시험

EC Broth 배양액 1루프양을 Tryptone Water (CM0087)에 접종한다.  
48±2 시간 동안 44°C에서 배양한다.

EC Broth 배양액 1루프양을 Tryptone Water (CM0087)에 접종한다.  
48±2 시간 동안 44°C에서 배양한다.

### 인돌 생성 확인 시험

Indole Reagent (MB0209A)를 첨가하고, 적색 여부를 관찰한다.

Indole Reagent (MB0209A)를 첨가하고, 적색 여부를 관찰한다.

### MPN을 계산한다.

## ⑥ ISO 16654:2001 Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157

대장균은 장내세균군(Enterobacteriaceae)과에 속하며 많은 하위 그룹으로 나누어진다. 분변 대장균군의 존재 여부에 대한 수질 검사에서 지표 생물로 사용된다. 조리되지 않은 식품에서 설사 질환의 지속적인 원인이며 질병의 심각성에 기반한 가장 중요한 그룹은 *E.coli* EHEC이며 여기에는 O157:H7 균주도 포함된다.

### 선택적 증균

Xg 또는 XmL의 검체 또는 검체 희석액을 9 XmL의 mTSB+Novobiocin (CM0989+SR0181)에 첨가한다.  
6시간 동안 41.5°C에서 배양하고, 추가로 12~18시간 동안 배양한다.

### 면역학적 포획

면역자기 분리법(immunomagnetic separation)을 이용한다.

### 선택적 분리

CT-SMAC (CM0813+SR0172) 및 다음의 배지 중 하나에 접종한다.  
• CR-SMAC (CM1005+SR0191)  
• Brilliance *E.coli*/coliform Agar (CM0956)  
18~24시간 동안 37°C에서 배양한다.

### 순수 배양

보통배지(Nutrient Agar)에 순수 배양한다.  
18~24시간 동안 37°C에서 배양한다.

### 확인 시험

인돌 생성 확인 시험 : Tryptone water(CM0087) + Indole reagent (MB0209A)  
혈청형시험 : *E.coli* O157 anti-sera 또는 *E.coli* O157 Latex kit (DR0620M)

# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ⑦ ISO 21528 Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae

그람 음성 세균의 장내세균과(Enterobacteriaceae family)에는 *Salmonella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*가 있다. 이 과들은 많은 구성원들이 사람이나 동물의 장내에 일반적으로 서식하고 있기 때문에 식품 제조업체에서는 중요성이 높다. 장내세균군은 또한 물과 토양에서도 발견되며 보다 독성이고 병원성인 세균의 존재 여부를 결정하는데 중요한 지표 생물이고 제조업체의 위생불량(제조공정의 오류 또는 오염된 환경)의 지표 생물로도 사용된다.

### ⑦-1 전-증균 과정이 있는 검출 및 MPN법 계수(ISO 21528-1:2004)

검출 방법	MPN 방법
<b>전-증균(Pre-enrichment)</b>	
Xg 또는 XmL의 검체를 9 XmL의 Buffered Peptone Water(ISO) (CM1049)에 첨가한다. 18±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.	Buffered Peptone Water (ISO)(CM1049)에 검체를 희석하여 준비한다. 18±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.
<b>선택적 증균</b>	
배양액 1mL을 10mL의 EE Broth (CM0317)에 접종한다. 24±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.	배양액 1mL을 10mL의 EE Broth (CM0317)에 접종한다. 24±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.
<b>분리</b>	
VRBGA(ISO)(CM1082)에 도말하여 접종한다. 24±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.	VRBGA(ISO)(CM1082)에 도말하여 접종한다. 24±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.
<b>순수 배양</b>	
전형적인 집락을 Nutrient Agar에 계대 배양한다. 24±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.	전형적인 집락을 Nutrient Agar에 계대 배양한다. 24±2 시간 동안 37°C에서 배양한다.
<b>확인 시험</b>	
Oxidase 시험 : BactiDrop Oxidase (R21540) Glucose 발효 시험	Oxidase 시험 : BactiDrop Oxidase (R21540) Glucose 발효 시험

### ⑦-2 집락 계수법(ISO 21528-2:2004)

#### 분리

이중 시험으로, 1ml의 시험 검체 또는 검체 희석액을 VRBGA(ISO)(CM1082)에 주입평판법으로 접종하고, 중첩을 가한다.  
24±2시간 동안 37°C에서 배양한다.

#### 계수

전형적인 집락을 계수한다.

#### 순수 배양

Nutrient Agar에 계대하여 순수 배양한다.  
18~24시간 동안 37°C에서 배양한다.

#### 순수 배양

보통배지(Nutrient Agar)에 순수 배양한다.  
24±2시간 동안 37°C에서 배양한다.

#### 생화학적 확인 시험

Oxidase 시험: BactiDrop Oxidase (R21540)  
Glucose 발효 시험

# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ⑧ ISO 4831:2006 Horizontal method for the detection and enumeration of **Coliforms** - MPN technique

대장균군의 세균은 식품 및 물에서 위생 품질의 지표로 일반적으로 사용된다. 그람-음성의 간균이며 35~37°C에 배양하면 lactose를 발효시켜 산과 기체를 생성한다. 대장균군은 온혈동물의 분변에서 발견될 수 있고 그 자체로는 심각한 질병을 초래하지 않으며 쉽게 배양할 수 있다. 이 균이 존재하면 분변 유래의 다른 병원성 미생물이 존재할 수 있으므로 지표로 이용된다.

### 증균

10mL의 액체 검체 또는 초기 현탁액을 10mL의 Lauryl Sulphate Tryptose Broth(CM0451)의 3개 시험관에 각각 첨가한다.

24±2 시간 동안 30 또는 37°C에서 배양한다.

각 시험관에서 1루프량을 10mL의 Brilliant Green Lactose Bile Broth(CM0031)에 접종한다.

24±2 시간 동안 30 또는 37°C에서 배양한다. 음성의 경우 추가로 24시간 배양한다.

### MPN

1mL의 액체 검체 또는 초기 현탁액을 10mL의 Lauryl Sulphate Tryptose Broth(CM0451)의 3개 시험관에 각각 첨가한다.

같은 방법으로 추가 희석을 진행한다.

24±2 시간 동안 30 또는 37°C에서 배양한다. 음성 시험관의 경우 추가 24시간 배양한다.

### 확인 시험

각 양성 시험관(gas and/or turbidity)에서 1루프량을 10mL의 Brilliant Green Lactose Bile Broth(CM0031)에 접종한다.

24±2 시간 동안 30 또는 37°C에서 배양한다. 음성의 경우 추가로 24시간 배양한다.

### 결과 보고

MPN을 계산한다.

## ⑨ ISO 4832:2006 with 2009 corrigendum Horizontal method for the enumeration of **Coliforms** - colony-count technique

대장균군의 세균은 식품 및 물에서 위생 품질의 지표로 일반적으로 사용된다. 그람-음성의 간균이며 35~37°C에 배양하면 lactose를 발효시켜 산과 기체를 생성한다. 대장균군은 온혈동물의 분변에서 발견될 수 있고 그 자체로는 심각한 질병을 초래하지 않으며 쉽게 배양할 수 있다. 이 균이 존재하면 분변 유래의 다른 병원성 미생물이 존재할 수 있으므로 지표로 이용된다.

### 분리

이중 시험으로, 1mL의 검체를 주입평판법으로 VRBLA(ISO) Agar(CM0968)에 접종하고 중첩한다. 24±2시간 동안 30~37°C에서 배양한다.

### 확인 시험

Brilliant Green Bile Broth (CM0031)의 durhams tube 시험관에 접종한다.

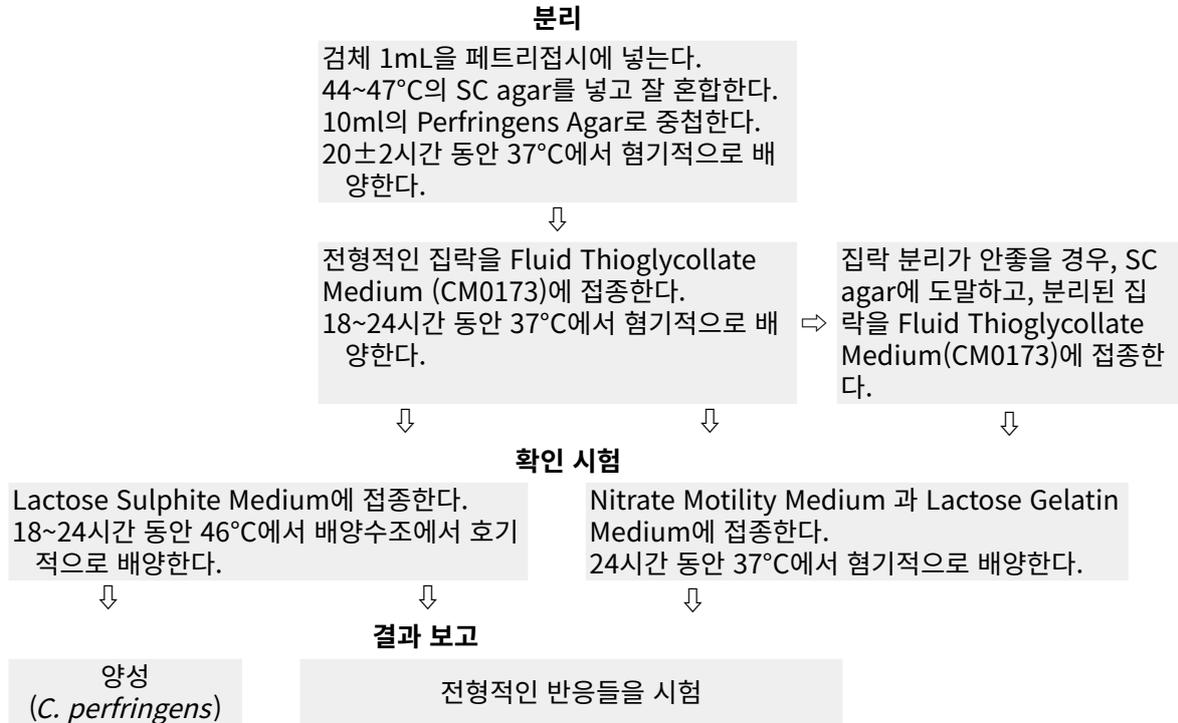
24시간 동안 30 또는 37°C에서 배양한다.

기체 생성에 대해서 관찰한다.

# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ⑩ ISO 7937:2004 Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* - colony-count technique

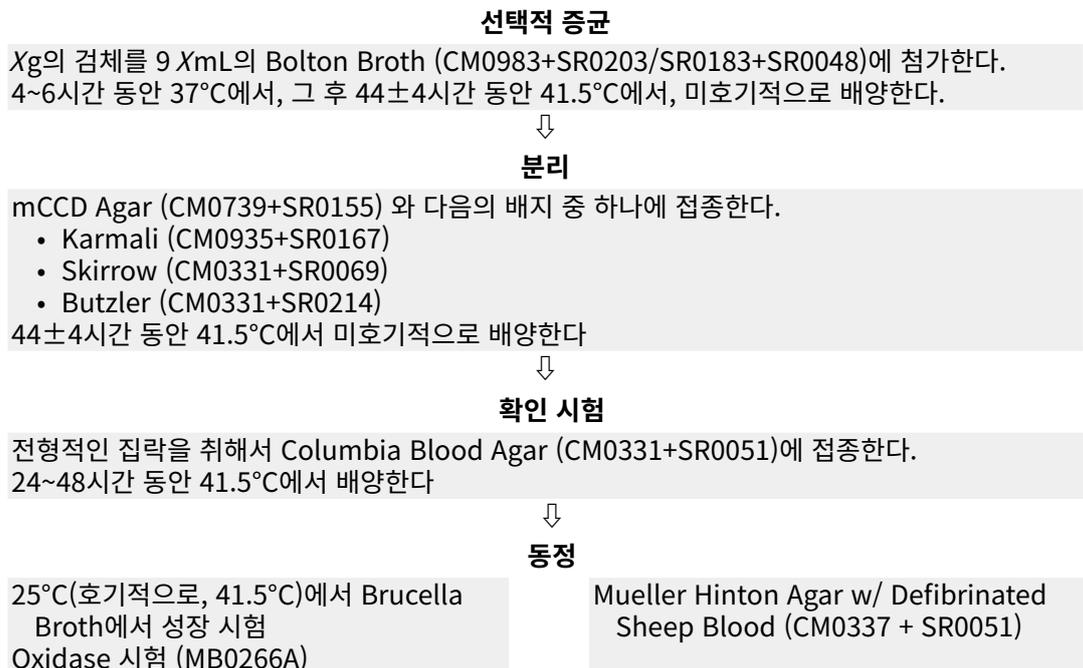
Clostridia과에서 *Clostridium perfringens*는 식품에서 가장 일반적으로 분리된다. 비운동성의 Clostridia중에서 특이한 그람-양성의 혐기성 포자형성 간균이다. 독소 생성에 따라 하위 분류로 나누어지며, 고기 요리의 주요 식중독 원인균이다.



## ⑪ ISO 10272 Horizontal methods for the detection and enumeration of *Campylobacter* species

Campylobacter 속은 Campylobacteraceae과에 속한다. 미호기성 생물이고, 그람-음성, oxidase 양성, 플라젤라를 가진 나선 모양의 간균이다. 이 속의 2개의 주요 종인 *C. jejuni* 및 *C. coli*는 둘 다 가금류에서 기인하는 설사 질환의 주요 원인균이다.

### ⑪-1 정성 시험(ISO 10272-1:2006)



# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ⑪-2 정량 시험(ISO 10272-2:2006)

### 분리

mCCDA (CM0739+SR0155)에 접종한다.  
44~48시간 동안 41.5°C에서, 미호기적으로 배양한다.



### 확인 시험

전형적인 집락을 취해서 Columbia Blood Agar (CM0331+SR0051)에 접종한다.  
24~48시간 동안 41.5°C에서 배양한다



### 동정

25°C(호기적으로, 41.5°C)에서 Brucella Broth에서 성장 시험  
Oxidase 시험 (MB0266A)

## ⑪-3 Brilliance™ CampyCount(ISO 16140 Validated alternative to mCCDA)

가금류 검체에서 *Campylobacter jejuni* 및 *C. coli*의 계수



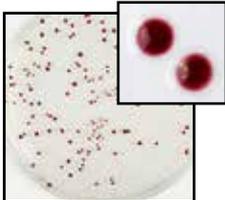
### 0일

적절한 희석액에 검체를 파쇄/  
희석.



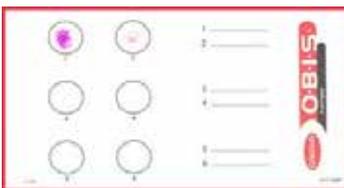
0.1ml씩을 2개의 **Brilliance  
CampyCount Agar**에 접종한다.

↓ 48+/-1h, 41.5°C에서 미  
호기성 배양한다.



### 2일

↓ 최소 5개의 잘 분리된  
흑적색 집락을 취하여,  
**O.B.I.S. Campy**(또는  
다른 ISO 표준방법들)  
를 사용하여 확인 시험



- 가금류 및 관련 검체
- 정확하고 정량적인 새로운 선택성
- 투명한 배지로 인해 플레이트 리더지에서 계수가 가능
- 집락간 군집을 감소시켜 개별 집락의 분리가 향상됨.
- MicroVal에 의해 ISO 16140 Validation됨.

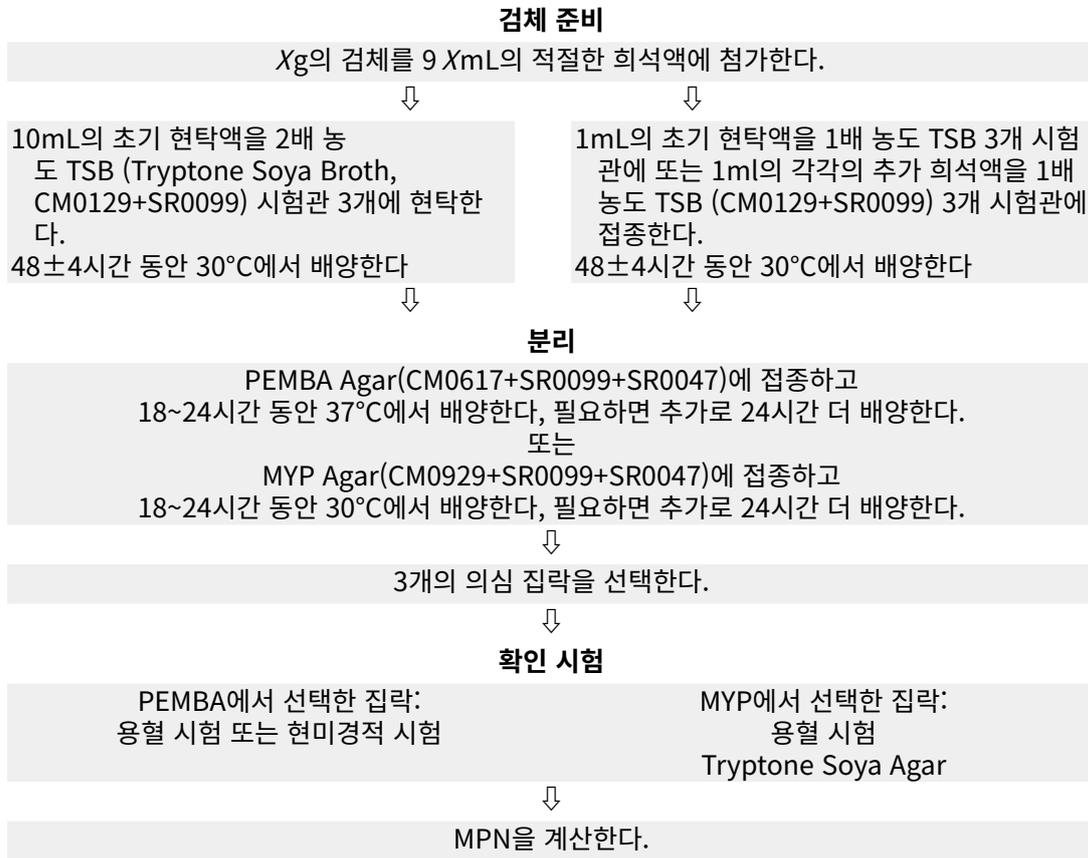
### 필요한 배지 및 시약

검체 희석	용량	제품번호
Buffered Peptone Water ISO	500g	CM1049B
Maximum Recovery Diluent (Peptone Saline Diluent)	500g	CM0733B
평판배양		
Brilliance CampyCount Agar (90mm, 생 배지)	10 plates	PO1185A
확인시험		
O.B.I.S. Campy	60 tests	ID0800M
DrySpot Campylobacter Test Kit	50 tests	DR0150M
미호기성 배양		
부록 "대기 형성 시스템(AGS)" 참조		
QC Organisms - Culti-Loops		
<i>Campylobacter coli</i> ATCC® 33559™	5 loops	R4609039
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC® 33291™	5 loops	R4601400
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	5 loops	R4607050
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923™	5 loops	R4737010
<i>Candida albicans</i> ATCC® 10231™	5 loops	R4601503

# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ⑫ ISO 21871:2006 Horizontal method for the determination of low numbers of presumptive **Bacillus cereus** - MPN technique and detection methods

호기적으로 성장하는 포자생성, 그람-양성의 미생물이다. 대부분 쌀, 시리얼, 파스타 등에서 발견된다. 식중독 원인 및 식품 부패능이 잘 알려져 있다. *Bacillus cereus*는 2개의 독소를 생산하여 비교적 짧은 배양 시간만에 구토, 설사를 유발하는 것으로 최근에 알려져 있어, 특정 식품에서 검출관련하여 엄격한 통제가 이루어지고있다.



## ⑬ ISO 7932:2004 Horizontal method for the enumeration of presumptive **Bacillus cereus** - colony-count technique at 30°C

호기적으로 성장하는 포자생성, 그람-양성의 미생물이다. 대부분 쌀, 시리얼, 파스타 등에 발견된다. 식중독 원인 및 식품 부패능이 잘 알려져 있다. *Bacillus cereus*는 2개의 독소를 생산하여 비교적 짧은 배양 시간만에 구토, 설사를 유발하는 것으로 최근에 알려져 있어, 특정 식품에서 검출관련하여 엄격한 통제가 이루어졌다.



# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ⑭ ISO 15214:1998 Horizontal method for the enumeration of **mesophilic lactic acid bacteria** - colony-count technique at 30°C

젖산 세균은 탄수화물 발효의 주요 대사 최종 산물로서 젖산을 일반적으로 생성하는 그람-음성, 산내성, 간균 또는 구균이다. 양조, 제빵, 식품 가공에서 *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*의 산업적 중요성은 잘 알려져 있다. 하지만 다른 식품에 이러한 균들이 존재하면 부패 등을 초래할 수 있고 어떤 경우에는 가벼운 식중독을 유발할 수도 있다.

### 검체 준비

검체를 희석액에 넣어 초기 현탁액을 준비한다.



### 분리

MYP(ISO) Agar (CM1153)에 접종한다.  
72±2시간 동안 35 또는 37°C에서 배양한다.  
전형적인 집락을 계수한다.

## ⑮ ISO 21567:2004 Horizontal method for detection of **Shigella species**

Shigella는 표현형적으로 *E. coli*와 관련이 있으며 유전적으로 같은 것으로 나타난다. Shigella의 모든 종은 사람에 병원균이며 이질(dysentery)을 초래한다. 식품 유래 병원균으로서 Shigella에 대한 관심 증가로 인해 검출법에서 많은 진보가 있었고 검출 관련된 규제도 증가되었다.

### 선택적 증균

Xg 또는 XmL을 Shigella Broth + 0.5ug novobiocin에 첨가한다.  
균질화하고 pH7.0±0.2로 맞춘다.  
16±4시간 동안 41.5°C에서 혐기적으로 배양한다.



### 분리

MacConkey Agar (CM0115), XLD Agar (CM0469), Hektoen Enteric Agar(CM0419)에 접종한다.  
20±4시간 동안 37±1°C에서 배양한다.



### 순수 배양

전형적인 집락을 Nutrient Agar에 계대배양 한다.  
20±4시간 동안 37±1°C에서 배양한다.



### 확인 시험

TSI 사면배지 : TSI Agar (CM0277)  
Urea 시험 : Urea Agar (CM0053)  
Lysine decarboxylase 시험 : Lysine Decarboxylase Broth Tablets (CM0308)

# 식품안전을 위한 ISO 방법

## ⑩ ISO 21527 Horizontal methods for the enumeration of **Yeast and moulds**

효모 및 사상균은 자연에 넓게 분포되어 있으며 유기 환경에서 특히 잘 자란다. 효모는 성장하면 단일의 독립된 난형 세포를 보이는 반면 사상균은 함께 모여서 길고 가지를 이루는 군사체가 된다. 일부 효모 및 사상균은 진균 독소(mycotoxin)라 불리는 독성 대사산물을 생성하기도 한다. 대부분의 진균 독소는 식품 가공 및 가열 과정에서 잘 파괴되지 않는다. 효모 및 사상균이 특히 감염되기 쉬운 식품에는 곡물, 견과, 콩, 과일 등이 있다.

### ⑩-1 물 활성도 0.95이상의 제품에서 집락 계수 방법 (ISO 21527-1:2008)

#### 검체 준비

검체를 희석하여 준비한다.



#### 분리

접종: DRBC Agar (CM1148+SR0078, 또는 CM1149)  
배양: 5일, 25±1°C  
방치: 1~2일간 햇빛을 쬐다.



#### 집락 확인

전형적인 집락을 계수 한다.

### ⑩-1 물 활성도 0.95이하의 제품에서 집락 계수 방법 (ISO 21527-2:2008)

#### 검체 준비

검체를 희석하여 준비한다.



#### 분리

접종: 0.1mL의 검체를 DG18 Agar (CM1148+SR0078, 또는 CM1149)에 도말,  
10배 희석액 0.1mL을 DG18 Agar (CM1150 + SR0078, 또는 CM1151)에 도말  
배양: 5~7일, 25±1°C  
방치: 1~2일간 햇빛을 쬐다.



#### 집락 확인

전형적인 집락을 계수 한다.

# 배지 및 시약 가이드

**CM0041 Sabouraud Dextrose Agar**

*Candida albicans* ATCC® 10231™  
5 days at 20–24°C

**CM0055+SR0051 혈액한천배지**

*Staphylococcus aureus* ATCC® 6538™  
18–24 hr. at 36 ± 1°C, aerobic  
황색포도상구균: 베타 용혈 양성

**CM0085+SR0047 난황첨가 Mannitol Salt Agar**

*St. aureus* ATCC® 6538™      *St. epidermidis* ATCC® 12228™  
24–48 hr. at 32 ± 1°C, aerobic  
coagulase 추정 양성인 staphylococci는 밝은 노란색 영역에 둘러싸인 집락을 보이는 반면, 비병원성 staphylococci는 적보라색 영역을 가지는 집락을 보여준다.

**CM0115 MacConkey한천배지**

*Salmonella typhimurium* ATCC® 14028™  
18–48 hr. at 32 ± 1°C, aerobic  
살모넬라: 담황색 집락

**CM0131 Tryptone Soya 한천배지**  
+ no supplement      + Defibrinated Sheep blood

*Staphylococcus aureus* ATCC® 33591™  
18–24 hr. at 36 ± 1°C, aerobic

**CM0201 Bismuth Sulphite 한천배지**

*Salmonella* spp: 금속성 광택이 있고 중앙이 검거나 혹은 검지 않은 녹색 집락

**CM0227 Desoxycholate Citrate 한천배지**

*Salmonella typhimurium* ATCC® 14028™  
18–24 hr. at 36 ± 1°C, aerobic  
살모넬라: 가운데가 검거나 혹은 검지 않은 담황색 집락

**CM0275+SR0054 Baird-Parker 한천배지**

*Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™  
24–48 hr. at 36 ± 1°C, aerobic  
황색포도상구균: 2-5mm의 투명한 환안에 3mm 정도의 흰색의 둥근 환이 있고, 직경 1-5mm의 검거나 회색의 둥근 집락

**CM0277 TSI 사면배지**

무집종 대조군      *Pseudomonas aeruginosa*  
*Escherichia coli*      *Salmonella typhimurium*  
*Shigella flexneri*

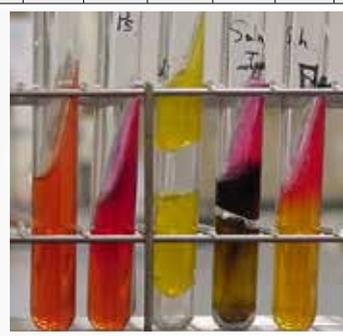
Glc	-	+	+	+	<b>Glucose 발효:</b> (+) 밑동 노란색, (-) 적색.
Lac/Suc	-	+	-	-	<b>Lactose and/or Sucrose 발효:</b> (+) 사면 노란색, (-) 적색.
H <sub>2</sub> S	-	-	+	-	<b>H<sub>2</sub>S 생성:</b> (+) 사면에 검정색 침전, (-) 없음
Gas	-	+	+	-	<b>가스(CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, 등) 생성:</b> (+) 배지가 바닥에서 들어올러지거나 끊어짐, (-) 없음

**CM0333 TCBS 한천배지**

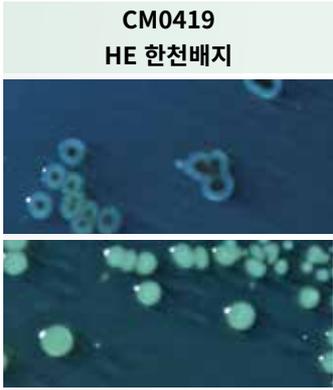
*Vibrio cholerae* NCTC 11348  
18–24 hr. at 35–39°C  
*V. parahaemolyticus*: 직경 3-5mm의 청록색 집락  
*V. cholera*: 직경 2-3mm의 노란색의 납작한 집락  
*V. vulnificus*: 직경 2-3mm의 청록색 집락

**CM0381 LIA 사면배지**

왼쪽부터  
*Shigella*, *E.coli*, *Salmonella*, *Arizona*



# 배지 및 시약 가이드



**CM0419**  
**HE 한천배지**

*Salmonella typhimurium* (위)  
*Shigella boydii* (아래)



**CM0469**  
**X.L.D. 한천배지**

*Salmonella typhimurium* ATCC® 14028™  
18-24 hr. at 36 ± 1°C, aerobic  
*Salmonella* spp.: 중앙이 검거나 혹은 검지 않은  
붉은 색 집락



**CM0485**  
**VRBG 한천배지**

*Chronobacter* spp.: 자주색 집락  
*Salmonella typhimurium*: 자주색 집락  
*E.coli*: 자주색 집락



**CM0587+SR0088+SR0047**  
**TSC 한천배지**

*Cl. perfringens*: 불투명한 환을 가진 검은색 집락



**CM0617+SR0099+SR0047**  
**Bacillus cereus 선택배지(PEMBA)**

*Bacillus cereus* ATCC® 10876™ *Bacillus subtilis* ATCC® 6633™  
incubated: 18-24 hr. at 32 ± 1°C, aerobic



**CM0653+SR0109**  
**CIN 한천배지**

*Yersinia enterocolitica* ATCC® 9610™  
18-24 hr. at 30 ± 1°C  
가운데가 붉은 색을 띠는 bull's eye 형태의 투명한  
집락



**CM0689+SR0117+SR0232+SR0048**  
**Preston 한천배지**

*Camp. jejuni*: 회갈색 집락



**CM0739+LP0021+SR0155**  
**Modified Campy blood free 한천배지**

*Campylobacter jejuni* ATCC® 33291™  
40-48 hr. at 42 ± 1°C, microaerophilic  
*Camp. jejuni*: 회색 집락



**CM0813+SR0172**  
**TC-SMAC 한천배지**

*Escherichia coli* NCTC 12900  
18-24 hr. at 35-39°C, aerobic  
*E.coli* O157: 무색 집락  
기타 *E.coli*: 분홍색 집락



**CM0856+SR0140**  
**Oxford 한천배지**

*Listeria monocytogenes*: 검은 환을 가진 갈색  
집락



**CM0877+SR0150**  
**PALCAM 한천배지**

*Listeria monocytogenes*: 검은 환  
을 가진 움푹 들어간 형태의 갈색/검은  
색 집락



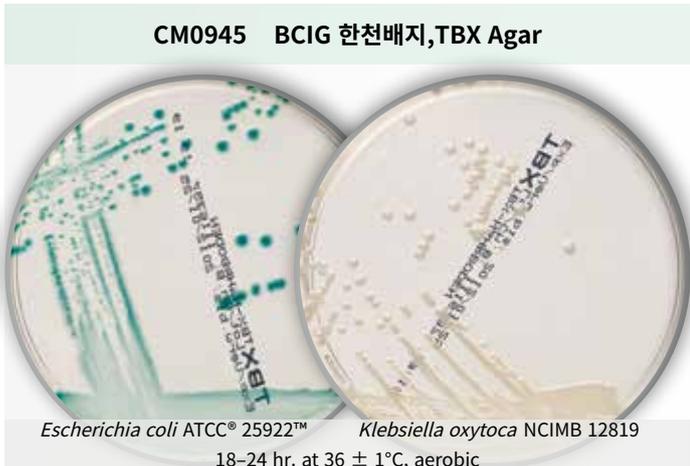
**CM0895+SR0156**  
**Fraser Listeria 배지**

*Listeria monocytogenes*: 검은색으로 변함



**CM0929+SR0099+SR0047**  
**MYP 한천배지**

*Bacillus cereus* ATCC® 10876™  
8-24 hr. at 30 ± 1°C, aerobic



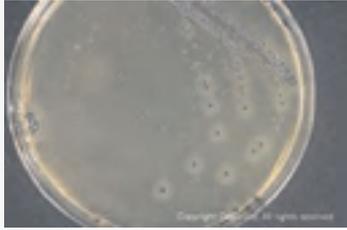
**CM0945 BCIG 한천배지, TBX Agar**

*Escherichia coli* ATCC® 25922™ *Klebsiella oxytoca* NCIMB 12819  
18-24 hr. at 36 ± 1°C, aerobic

# 배지 및 시약 가이드

CM0961+SR0122

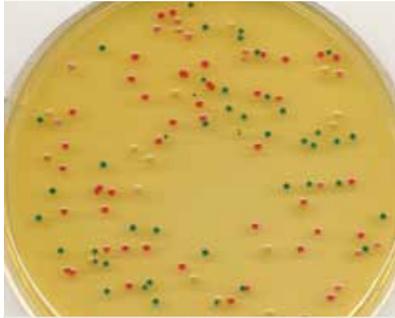
Baird-Parker RPF 한천배지



*Staphylococcus aureus*: Coagulase zone 으로 둘러싸인 검거나 회색인 집락

CM1055

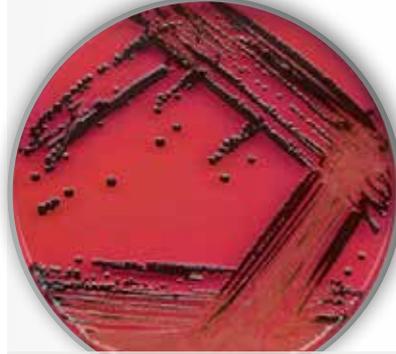
CESA 한천배지



*Cronobacter sakazakii*: 청록색 집락  
*Escherichia coli* ATCC®25922: 담황색 집락

CM1061+SR0237

XLT4 한천배지



*Salmonella* spp.: 중앙이 검고 붉거나 검은 집락

CM1121+SR0247

Cronobacter Screening Broth(CSB)



왼쪽: *Cronobacter* 음성  
오른쪽: *Cronobacter* 양성

## RNA UltraSense™ One-Step Quantitative RT-PCR System

전사물의 양이 매우 낮은 검체나 RNA 바이러스 증폭 및 실시간 정량을 위해 특별히 만들어졌습니다. 최적화된 이 고농축 시스템은 SuperScript® III RT와 Platinum® Taq DNA Polymerase를 결합해 우수한 priming 특이성과 산물 수율을 제공하고 폭넓은 동적 범위에서 검출이 가능합니다. 이 고농축 제형은 저농도/고용량 RNA 샘플에 높은 용통성을 제공하며 이차 구조가 많은 표적에서 성능을 개선시킵니다. 총 RNA 25 pg/μl 농도를 PCR 효율 97%로 검출 가능합니다.

### RNA UltraSense™ System의 특징:

- SuperScript® III RT- 높은 온도의 cDNA 합성(60°C), RNA 이차 구조 성공률 개선
- Platinum® Taq DNA Polymerase - hot-start 기술, 특이성 개선
- LUX™ Fluorogenic Primers 또는 dual-labeled fluorogenic probes로 성능 최적화
- 고유한 고농축 버퍼- 대용량 샘플 추가(최대 70%), RNA 이차 구조 작업
- 여러 실시간 플랫폼에서 검증된 성능
- 빠르고 편리한 1단계 형식, 반응간 변동성이 감소됨

### 어플리케이션: 다음과 같은 RNA 실시간 정량 증폭

- RNA 바이러스
- Low-abundance RNA transcripts
- 증폭이 어려운 RNA 표적
- 고가 RNA 검출 및 연구

제품번호	용량
11732927	100 reactions

## TaqMan® Environmental Master Mix 2.0

고농도의 억제 물질이 있는 환경에서 정확한 실시간 PCR 기반의 병원균 검출을 제공합니다. 이 마스터 믹스를 사용하여 환경, 식품 및 기타 까다로운 샘플을 분석하십시오.

- 정량적 실시간 PCR 실험에 적합
- 까다로운 실험, 낮은 카피 수의 타겟 검출 및 멀티플렉스 PCR을 위한 탁월한 감도
- 병원체 검출 및 바이러스/세균 부하 정량이 가능
- 풍부하고 제한적인 유전적 표적의 신뢰성 있는 정량을 위한 민감한 검출
- 많은 검체 처리에도 안정적
- 탁월한 성능을 위한 최적화된 조성

제품번호	용량
4396838	200 reactions
4398021	400 reactions
4398044	800 reactions

## PrepMan® Ultra Sample Preparation Reagent

PrepMan® Ultra reagent는 세균, 효모, 사상균 등 다양한 샘플과 한천배지 및 액체배지 배양물, 포유류 조직 도말, 인간 세포(구강 스왑), 포유류 전혈 등에서 바로 PCR 작업을 할 수 있는 템플릿을 준비하는데 사용됩니다. 이렇게 만든 템플릿은 증폭하여 allelic discrimination assays, 유전자변형생물체(GMO) 검출 및 정량, 식품 병원균 검출, 미생물 확인, 세균 균주 유형확인 등에 사용됩니다.

- 간단하고 빠른 프로토콜로 결과를 신속하게 얻을 수 있습니다.
- 고유 제형으로 PCR 억제인자를 불활성화시키고 일관적인 결과를 제공합니다.
- 다양한 유형의 샘플에서 PCR-ready 템플릿을 준비할 수 있습니다.
- 준비당 단가가 낮은 경제적인 방법입니다.
- 균일한 용액으로 샘플 처리 필요성이 최소화됩니다.
- Microcentrifuge tube 기반 형식으로 템플릿 준비에 추가 장비가 필요하지 않습니다.
- 지질 함량이 높은 그람 음성 식품병원균에도 최적

PrepMan® Ultra reagent는 새로운 조성으로 Chelex® 또는 다른 수지나 매트릭스를 함유하지 않은 균일한 용액입니다.

이 제품은 PrepMan® Sample Preparation Reagent를 개선한 대체품으로 기존 PrepMan® Reagent 사용자와 이를 사용하고자 하는 분들에게 추천됩니다.

제품번호	용량
4318930	200 preps

# 배지 및 시약 가이드

**ONPG Disc (DD0013)**



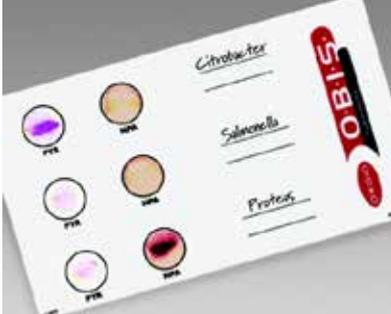
왼쪽: ONPG 음성  
오른쪽: ONPG 양성

**Oxidase Strip (MB0266A)**



왼쪽: Oxidase 양성  
오른쪽: Oxidase 음성

**O.B.I.S.**  
Oxid Biochemical Identification System



카드형 생화학적 검사 시약

**BactiCard**



카드형 생화학적 검사 시약

**Ninhydrin + Hippurate Disk (R21238, R21085)**



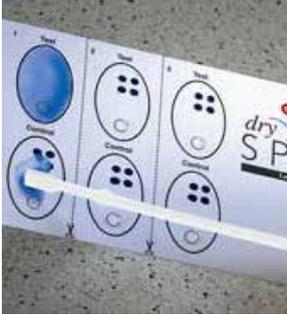
베타용혈 streptococci, *Gardnerella vaginalis*, *Campylobacter jejuni*에 의한 Hippurate 가수분해 시험 (왼쪽 양성)

**Latex Agglutination Test**



1: 응집됨. 양성  
2: 응집안됨. 음성

**Latex Agglutination Test (Dry-Spot Type)**



라텍스 시약이 슬라이드에 부착 건조되어 있어 편리성 및 장기간 보관성이 향상됨.

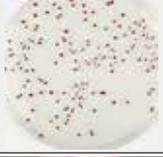
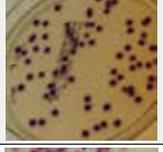
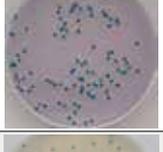
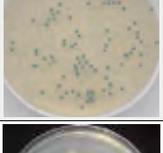
## IMViC 시험



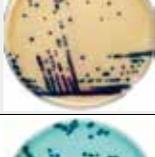
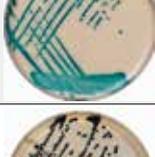
미생물	Indole	MR	VP	Citrate
<i>Escherichia coli</i>	+	-	+	-
<i>Shigella spp</i>	-	-	+	-
<i>Salmonella spp</i>	-	-	+	+
<i>Klebsiella spp</i>	-	+	-	+
<i>Proteus vulgaris</i>	+	-	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	+	+
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	+	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	+	-	+

	Indole 시험	Voges-Proskauer 시험	Methyl Red 시험	Citrate 이용 시험
양성 변화	Tryptophan 분해로 인돌이 생성되어 시약 투여시 배지 상층부에 적색	glucose분해에 의한 acetoin 생성으로 시약 투여시 상층부 적색	glucose발효산물 생성으로 시약 투여시 적색	Citrate가 사용되어 녹색의 배지가 파란색으로 변함.
필요 배지	SIM Medium, 500g (CM0435B)	MRVP Medium, 500g (CM0043B)		Simmons Citrate Agar, 500g (CM0155B)
필요 시약	Microbact Spot Indole (DMAC), 10ml (MB1448A) 또는 Indole Reagent, Kovac's, 25ml/bottle (R21227) 또는 BactiDrop Indole, Kovac's, 0.75mlx50ampules (R21522)	VP-A reagent, 12ml (R21200) + VP-B reagent, 25ml (R21281) 또는 BactiDrop VP A, 0.75ml x 50ampules (R21560) + BactiDrop VP B, 0.75ml x 50ampules (R21562)	Methyl Red Reagent, 25ml/bottle (R21236)	-

# Oxoid Chromogenic Media - *Brilliance*<sup>TM</sup>

대상 미생물	제품명	제품번호	성상 설명	성상 이미지
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> Bacillus cereus Agar	CM1036B (+SR0230E)	<i>Bacillus cereus</i> : 청록색 집락	
<i>Campylobacter jejuni</i> <i>Campylobacter coli</i>	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> CampyCount Agar	PO1185A*	<i>Campylobacter jejuni</i> : 짙은 붉은색 집락	
<i>E. coli</i> , Coliforms	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> E. coli/ coliform Agar	CM0956B	<i>E. coli</i> : 보라색 Coliform: 분홍색	
<i>E. coli</i> , Coliforms	Chromogenic Coliform Agar	PO5317A*	<i>E. coli</i> : 검청/자주색 <i>E. aerogenes</i> : 장미빛 적색 <i>P. aeruginosa</i> : 무색	
<i>E. coli</i> , Coliforms	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> E. coli/ coliform Selective Agar	CM1046B PO5176A*	<i>E. coli</i> : 보라색 Coliform: 분홍색	
<i>E. coli</i>	TBX((Tryptone Bile X-Glucuronide) Agar (=BCIG agar)	CM0945B PO5109A*	<i>E. coli</i> : 청/녹색 <i>K. pneumoniae</i> : 담황색	
<i>E. coli</i> O157	Sorbitol MacConkey Agar w/BCIG	CM0981B (+SR0172E)	<i>E. coli</i> O157: 무색 <i>E. coli</i> (glucuronidase +): 청/분홍색	
<i>Cronobacter sakazakii</i>	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> Enterobacter sakazakii Agar (DFI)	CM1055B	<i>Cronobacter(Enterobacter) sakazakii</i> : 청록색 집락	
<i>Cronobacter sakazakii</i>	Enterobacter sakazakii Isolation Agar	CM1134B	<i>Cronobacter sakazakii</i> : 청록색 집락	
<i>Cronobacter sakazakii</i>	Chromogenic Cronobacter Isolation (CCI) Agar	CM1122B	<i>Cronobacter(Enterobacter) sakazakii</i> : 청록색 집락	
<i>Listeria</i> spp.	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> Listeria Agar	CM1080B (+SR0227E +SR0228E) PO5165A*	<i>Listeria monocytogenes</i> : 불투명한 환을 가진 하늘색 집락 <i>Listeria innocua</i> : 환없는 하늘색 집락	
<i>Listeria</i> spp.	Chromogenic Listeria Agar (ISO)	CM1084B (+SR0226E +SR0244E)	<i>Listeria monocytogenes</i> : 불투명한 환을 가진 하늘색 집락 <i>Listeria innocua</i> : 환없는 하늘색 집락	

# Oxoid Chromogenic Media - *Brilliance*<sup>TM</sup>

대상 미생물	제품명	제품번호	성상 설명	성상 이미지
<i>Salmonella</i> spp.	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> Salmonella Agar	CM1092B (+SR0194E) PO5098A*	Salmonella : 보라색 집락	
<i>Salmonella</i> spp.	OSCM, Salmonella chromogenic agar base	CM1007B (+SR0194E)	Salmonella spp.에 따라, 심홍색, 심홍색/청색, 청색	
Coagulase-positive Staphylococci	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> Staph 24 Agar	PO1186A*	Coagulase positive Staphylococci: 청색 집락	
Group B Streptococci	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> GBS Agar	PO5320A*	<i>S. agalactiae</i> : 분홍색	
<i>Candida</i> spp.	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> Candida Agar	CM1002B (+SR0231E) PO5170A*	균주에 따라서, 검청색, 녹색, 불규칙적 분홍 빛 갈색, 베이지, 노란색, 갈색	
ESBLs (ESBL 항생제내성 대장균/대장균군)	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> ESBL Agar	PO5302A*	<i>K. pneumoniae</i> SHV-18: 녹색 <i>E. coli</i> TEM-3: 청색	
MRSA (메치실린 항생제내성 황색 포도상구균)	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> MRSA 2 Agar	PO1210A*	<i>S. aureus</i> : 청색 <i>B. licheniformis</i> : 분홍색	
VRE (반코마이신계 항생제내성장구균)	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> VRE Agar	PO1175A*	<i>E. faecalis</i> (VRE) 균주에 따라, 밝은 청색, 인디고/퍼플색	
CRE (카바페넴계 내성균)	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> CRE Agar	PO1226A*	<i>K. pneumoniae</i> NDM-1 : 청색 <i>E. coli</i> CRE : 창백한 분홍색 <i>A. baumannii</i> : 크림색	
UTI 원인균들	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> UTI Agar	CM0949B PO5120A*	Enterococci : 청색 <i>E. coli</i> : 분홍색 Proteus, Morganella, Providencia: 갈색 Pseudomonas : 형광 갈색 또는 녹색 Staphylococcus : 흰색	
UTI 원인균들	<i>Brilliance</i> <sup>TM</sup> UTI Clarity Agar	CM1106B PO5159A*	enterococci : 청색/청록색 <i>E. coli</i> : 분홍색 coliform: 검청/분홍색 Proteus, Providencia: 갈색한 ...	

\*는 조제된 배지(prepared media)

# RapID System Biochemical Full Identification Kits

원 스텝 접종—모든 반응홀을 동시에 접종하여 준비시간 및 오류의 최소화  
 간단해진 미생물 수동 식별—오일 필요 없음, 피펫팅 없음, 24시간 배양 없음, 큰 기포 없음  
 4시간 배양—더 빠른 반응으로 빨라진 결과 도출 시간 (RapID SS/u는 2시간)  
 공통 시험 절차—키트간 호환성 있는 보조시약을 소량 사용하므로 비용 절약  
 가시성 발색 반응—색상표가 포함되어 주관성 감소로 반복 시험 감소  
 더 나은 보고—판정용 무료 웹프로그램. 넓어진 범위와 고급 업데이트

## RapID ONE

장내세균과, 옥시다아제 음성, 그램 음성 바실리 70종 이상을 식별합니다.  
 R8311006 (20 panels/kit)  
 필수보조시약: R8325106, R8309002  
 선택보조시약: R20412

## RapID NH

Neisseria, Moraxella, Haemophilus 및 관련 미생물을 포함한 30가지가 넘는 분류군을 식별.  
 R8311001 (20 panels/kit)  
 필수보조시약: R8325102, R8309002, R8309003, R8309004  
 선택보조시약: R20413

## RapID STR

연쇄상구균 및 기타 유사 그람양성 세균 등 30종 이상을 식별.  
 R8311003 (20 panels/kit)  
 필수보조시약: R8325102  
 선택보조시약: R20411

## RapID NF PLUS

장내세균과에 속하지 않는 포도당 발효 및 비발효의 그람음성 세균, 옥시다아제 양성, 그램 음성 바실리 등 71종 이상을 식별합니다.  
 R8311005 (20 panels/kit)  
 필수보조시약: R8325102, R8309002, R8309003  
 선택보조시약: R20411, R20413

## RapID Staph PLUS

Staphylococcus 종 및 관련 미생물 40종 이상을 식별.  
 R8311009 (20 panels/kit)  
 필수보조시약: R8325106, R8309003, R8309004  
 선택보조시약: R20413

## RapID CB PLUS

Corynebacterium, Actinomyces, 및 기타 그람양성 coryneform bacilli를 비롯한 50종 이상을 식별.  
 R8311008 (20 panels/kit)  
 필수보조시약: R8325106, R8309003, R8309004  
 선택보조시약: R20414

## RapID ANA II

의학적으로 중요한 혐기성 미생물 90종 이상을 식별  
 R8311002 (20 panels/kit)  
 필수보조시약: R8325102, R8309002  
 선택보조시약: R20413

## RapID SS/u

인간 요로 감염 미생물 등 12종 이상을 2시간내에 식별.  
 R8311004 (20 panels/kit)  
 필수보조시약: R8325102, R8309002  
 선택보조시약: R20411

## RapID Yeast PLUS

효모 및 효모-유사 미생물 41종 이상을 식별.  
 R8311007 (20 panels/kit)  
 필수보조시약: R8325106  
 선택보조시약: -



### 보조 시약 (키트에 따라 선택적으로 사용됨)

제품명	제품번호	구성
<b>균 현탁 용액</b>		
RapID Inoculation Fluid 1mL	R8325102	20 tubes
RapID Inoculation Fluid 2mL	R8325106	20 tubes
<b>추가 시약</b>		
RapID Spot Indole Reagent	R8309002	15mL
RapID Nitrate A Reagent	R8309003	15mL
RapID Nitrate B Reagent	R8309004	15mL
<b>탁도 표준기</b>		
McFarland Turbidity Standard Set 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 with visual comparison card	R20421	5 tubes
McFarland Turbidity Standard 0.5	R20410	1 tube
McFarland Turbidity Standard 1.0	R20411	1 tube
McFarland Turbidity Standard 2.0	R20412	1 tube
McFarland Turbidity Standard 3.0	R20413	1 tube
McFarland Turbidity Standard 4.0	R20414	1 tube
McFarland Turbidity Standard 5.0	R20415	1 tube

### 품질관리용 미생물 균주 세트

제품명	제품번호	구성
RapID ANA II QC Set/3	R4653050	5 loops
RapID ONE QC Set/4	R4653056	5 loops
RapID CB Plus QC Set/4	R4653048	5 loops
RapID Staph Plus QC Set/4	R4653047	5 loops
RapID Yeast Plus QC Set/5	R4653060	5 loops
RapID NH QC Set/4	R4653051	5 loops
RapID SS/u QC Set/5	R4653053	5 loops
RapID NF Plus QC Set/4	R4653054	5 loops
RapID STR QC Set/5	R4653052	5 loops

## Quanti-Cult Plus™ 정량적 품질관리 미생물

- vial cap 교체에 의한 편리한 재수화
- 오염과 감염 위험의 감소
- ATCC® 라이선스 균주
- 고품질의 배지를 공급하는 업체에서 제조
- 향상된 생존성과 회수율
- 떼어내서 다른 곳에 부착가능한 라벨



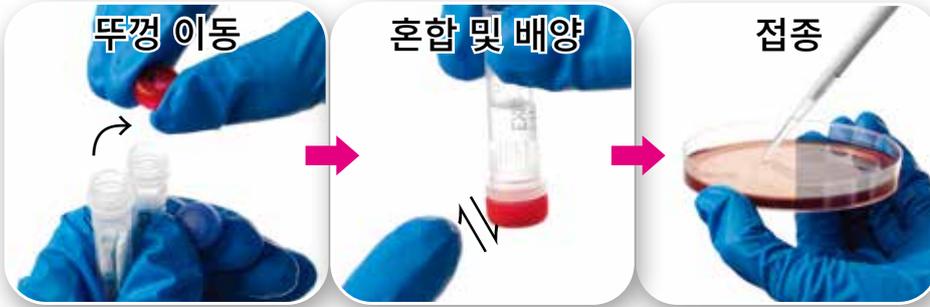
한글설명서



2-vial system:  
재수화용액 + 균주



방습제  
밀봉을 위한 검정색 O링  
미생물이 보존된 젤  
재수화 용액



- 개별 포장된 10개의 균주 파우치와 10개의 재수화 용액 제공\*
- 1바이알당 약 1ml의 재구성후 부피를 제공하여 0.1ml 접종부피를 10회 사용가능. 제품당 총100회 시험 용량을 제공
- 0.1ml당 <100 CFU의 접종량 제공
- 단일 미생물 제품, 세트 구성 제품, 수질관리 세트 제품등 다양한 제품을 제공

\* 세트제품 등 일부 제품의 경우 구성 수량이 다를 수 있습니다.

## Culti-Loops™ 정성적 품질관리 미생물

- 직접 도말 관련 시간과 비용 감소
- 오염과 감염 위험의 감소
- ATCC® 라이선스 균주
- 고품질의 배지를 공급하는 업체에서 제조
- 향상된 생존성과 회수율
- 떼어내서 다른 곳에 부착가능한 라벨



한글설명서



미생물이 보존된 젤



- 제품당 5개의 파우치\*
- 밀봉 파우치에 1개 루프가 포장됨
- 1개의 루프로 최소 5개 plate를 접종
- 500여가지 이상의 단일 미생물로 구성된 제품과 RapID, Sensititre, MicroScan, Vitek 등의 품질관리를 위한 세트 제품을 제공

\* 세트제품 등 일부 제품의 경우 구성 수량이 다를 수 있습니다.

# 대기 형성 시스템(Atmosphere Generation System)



## 혐기성 배양 (Anaerobic Incubation)

수용량 (90mm 평판 기준)	용기 (Container)	혐기성 공 기 형성기 (Generator)	상태 표시기 (Indicator)
최대 42개	R685070	AN0025A x 3개	BR0055B
최대 15개	AB0035A	AN0035A	
최대 12개	AG0025A	AN0025A	
	AB0025A		
최대 4개	AN0010C		
	AN0010W		
	AG0020C	AN0020D	
	AG0060C		

## 미호기성 배양 (Microaerophilic Incubation)

수용량 (90mm plate 기준)	용기 (Container)	미호기성 공 기 형성기 (Generator)	상태 표시기 (Indicator)
최대 42개	R685070	CN0025A x3개	-
최대 15개	AB0035A	CN0035A	
최대 12개	AG0025A	CN0025A	
	AB0025A		
최대 2개	AG0020C	CN0020C	
	AG0060C		

## 이산화탄소 강화 배양 (CO<sub>2</sub> Enriched Incubation)

수용량 (90mm plate 기준)	용기 (Container)	이산화탄 소 강화 공 기 형성기 (Generator)	상태 표시기 (Indicator)
최대 42개	R685070	CD0025A x3개	-
최대 12개	AG0025A	CD0025A	
	AB0025A		
최대 2개	AG0020C	CD0020C	
	AG0060C		

### 선택안내 및 사용

1. 대기조성 배양 조건 선택
2. Plate등 수량 결정
3. 용기 결정
4. 접종한 플레이트를 용기에 넣는다.
5. 조건에 맞는 일회용 공기 조성기를 찢고 꺼내서 용기에 넣는다.
6. 일회용 상태 표시기를 찢고 꺼내서 용기에 넣는다.
7. 필요한 온도 및 시간으로 배양한다.

## 배양 용기 (Container)

제품명	제품번호	용량
<b>Oxoid AnaeroJar 2.5L Jar</b>	<b>AG0025A</b>	<b>1 jar</b>
90mm plate를 12개까지 수용하는 2.5리터 용량; 플레이트 적재용 금속 캐리어 포함.		
<b>Rectangular AnaeroBox 2.5</b>	<b>AB0025A</b>	<b>1 box</b>
90mm plate 12개까지 또는 55mm plate 21개까지 수용하는 2.5리터 용량; 크기100x130x190mm		
<b>Rectangular AnaeroBox 3.5</b>	<b>AB0035A</b>	<b>1 box</b>
90mm plate를 18개까지 수용하는 3.5리터 용량; 크기 90x200x250mm		
<b>AnaeroPack Rectangular Jar 7.0L</b>	<b>R685070</b>	<b>1 box</b>
표준평판(12x85mm) 42개 또는 spacesaver 평판(10x100mm) 45개 또는 150mm 평판 6개를 수용하는 7.0리터 용량; 2.5L의 대기 조성 sachet 3개를 사용.		

제품명	제품번호	용량
<b>W-Zip Seal Pouches</b>	<b>AG0060C</b>	<b>20 pouches</b>
zipper 형태의 밀봉장치가 달린 비닐 용기		
<b>Plastic Pouches</b>	<b>AG0020C</b>	<b>20 pouches</b>
별도 밀봉 기구(AN0005C)가 필요한 비닐 용기		
<b>Sealing Clips for Pouches</b>	<b>AN0005C</b>	<b>5 clips</b>
Plastic Pouches(AG0020C)의 밀봉을 위한 기구		

## 대기 상태 표시기 (Indicator)

제품명	제품번호	용량
<b>Anaerobic Indicator</b>	<b>BR0055B</b>	<b>100 sachets</b>
resazurin 조성의 혐기성 표시기; 혐기성 조건에서 30분내에 분홍색에서 흰색으로 변색함.		



## 혐기성 대기 형성기

30분내에 혐기성미생물의 성장에 최적인 <1% 산소 및 ~10% 이산화탄소 조건을 형성하여 까다로운 혐기성 미생물의 회수율 향상과 집락 크기의 증가로 추정적 동정에 도움을 줍니다.

제품명	제품번호	용량
<b>AnaeroGen 2.5 liter</b>	<b>AN0025A</b>	<b>10 sachets</b>
2.5리터 용기에 사용		
<b>AnaeroGen 3.5 liter</b>	<b>AN0035A</b>	<b>10 sachets</b>
3.5리터 용기에 사용		
<b>AnaeroGen Compact</b>	<b>AN0010C</b>	<b>10 sachets + 10 pouches</b>
대기조성 소모품(sachet)과 비닐용기(pouche)가 모두 포함됨. 밀봉을 위해 Sealing Clips(AN0005C)이 필요		
<b>AnaeroGen W-Zip Compact</b>	<b>AN0010W</b>	<b>10 sachets + 10 w-zip pouches</b>
대기조성 소모품(sachet)과 지퍼가 달린 비닐용기(w-zip pouche)가 모두 포함됨.		

## 미호기성 대기 형성기

1시간내에 이상적인 미호기성 대기조건인 8~9% 산소 및 7~8%의 이산화탄소를 형성하여 *Campylobacter* spp. 및 기타 미호기성 미생물의 성장, 회복을 향상시켜 즉각적인 동정에 도움을줍니다.

제품명	제품번호	용량
<b>CampyGen 2.5 liter</b>	<b>CN0025A</b>	<b>10 sachets</b>
2.5리터 용기에 사용		
<b>CampyGen 3.5 liter</b>	<b>CN0035A</b>	<b>10 sachets</b>
3.5리터 용기에 사용		
<b>CampyGen Compact</b>	<b>CN0020C</b>	<b>20 sachets</b>
별도 판매되는 pouche(AG0060C 또는 AG0020C)와 함께 사용		

## 이산화탄소 강화 대기 형성기

30분내에 ~15%산소와 ~5% 이산화탄소의 CO<sub>2</sub>강화 호기성 조건을 형성하여 감소된 산소와 증가된 이산화탄소를 필요로 하는 CO<sub>2</sub> 의존적인 미생물의 성장, 회복, 동정을 도와주며, *Haemophilus* 및 *Neisseria* spp. 같은 까다로운 미생물의 성장을 향상시킵니다.

제품명	제품번호	용량
<b>CO<sub>2</sub>Gen 2.5 liter</b>	<b>CD0025A</b>	<b>10 sachets</b>
2.5리터 용기에 사용		
<b>CO<sub>2</sub>Gen Compact</b>	<b>CD0020C</b>	<b>20 sachets</b>
별도 판매되는 pouche(AG0060C 또는 AG0020C)와 함께 사용		



# RapidFinder Species ID in Meat and Feed Samples

- Real-time PCR에 기반한 meat species 검출 및 정량을 위한 다양한 제품군을 제공합니다.
- 공식적으로 요구되는 검출한계인 0.1%\*보다 낮은 고감도를 실현합니다.



GMO Extraction Kit	RapidFinder ID Kit	RapidFinder Quant Multi-Meat Set
<p>빠르고 쉬운 실리카 기반 DNA 추출법이 사용되어 원료 및 가공 식품 등 다양한 식품 검체에서 DNA를 획득합니다.</p> <p><b>특징:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 고감도를 위해 검체(균질화 검체) 20g까지 테스트 완료</li> <li>• 저해물질 제거 및 고순도의 DNA 분리</li> <li>• 최소의 조작 단계</li> <li>• 독성 시약 없음</li> </ul>	<p>식품 검체내 mitochondria DNA를 검출합니다. 각 키트에는 양성대조군으로 0.1%의 species DNA가 포함되어있고, 48회 반응에 필요한 시약이 제공됩니다.</p> <p><b>특징:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 실시간 PCR로 전기영동이 불필요</li> <li>• 내부양성 대조군으로 PCR 반응중 억제 물질을 배제 해줍니다.</li> <li>• 신선한 고기에서 0.01%(w/w)의 검출한계를 실현합니다.</li> </ul>	<p>식품 검체내 mitochondria DNA를 검출하며 정량**을 위한 표준물질(species 및 animal)을 포함합니다. 48회 반응에 필요한 시약이 제공됩니다.</p> <p><b>특징:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 실시간 PCR로 전기영동이 불필요</li> <li>• 내부양성 대조군으로 PCR 반응중 억제 물질을 배제 해줍니다.</li> <li>• 신선한 고기에서 0.05%(w/w)의 검출한계를 실현합니다.</li> </ul>

## Validation Data

### 1. Specificity

Chicken ID Kit의 Validation study 리포트 자료. 원료 및 가공육 DNA로 분석 실행

<b>Detected</b>	Chicken
<b>Not detected</b>	Horse, Mule, Donkey, Swine, Buffalo, Deer, Turkey, Duck, Ostrich, Goose, Human

### 2. Repeatability

Chicken ID kit의 Validation study 리포트 자료. 순수 고기 DNA로 분석 실행. 표준물질은 0.1% chicken/turkey, 0.01% chicken/turkey, 0.1% chicken/swine이 혼합된 것. 고기에서 추출한 상이한 3개의 DNA 검체를 7회 반복으로 분석.

사용된 표준	테크니션 1	테크니션 2
0.1% chicken/turkey	100% (7/7)	100% (7/7)
0.01% chicken/turkey	100% (7/7)	100% (7/7)
0.1% chicken/swine	100% (7/7)	100% (7/7)

보다 자세한 내용은 [thermofisher.com/meat-species](http://thermofisher.com/meat-species)를 방문하세요.

\* EU No 51/2013 of 16 Jan 2013, amending reg. EU No 152/2009

\*\* 정량 분석은 2가지 절대 정량에 기반한다: species DNA의 총량은 RapidFinder ID Kit 와 RapidFinder Quant Multi-Meat Set을 이용하며, 한 검체내에 존재하는 animal의 총량은 RapidFinder Quant Multi-Meat Set을 이용한다.

# GMO Screening and Quantification

- Applied Biosystems™의 TaqMan GMO Detection kit 및 Quantification kit은 GMO real-time PCR 시험을 위한 전체 작업흐름의 솔루션을 제공합니다.
- 핵산 추출, GMO 스크리닝 및 정량 솔루션으로 콩, 옥수수, 관련 가공 식품내에 존재하는 GMO 특이적 DNA를 검출할 수 있습니다.
- 유럽에서 승인된 모든 GMO와 기타 국가에서 승인된 대부분의 GMO를 검출하고 정량하는 범용적인 분석법을 제공합니다.

## GMO Extraction Kit

빠르고 쉬운 실리카 기반 DNA 추출법이 사용되어 원료 및 가공 식품 등 다양한 식품 검체에서 DNA를 획득합니다.

- 고감도를 위해 검체(균질화 검체)20g까지 테스트 완료
- 2시간의 처리시간은 더 빠른 보고가 가능
- 저해물질 제거 및 고순도의 DNA 분리
- 간단한 작업흐름을 위한 최소의 조작 단계
- 독성 시약 없음
- 저용량(수작업)/고용량(장비) 처리의 필요성에 맞게 프로토콜 선택 가능
- 50종 이상의 식품 원료 및 가공 식품에 대해서 테스트 완료 (DNA 순도 A260/A280 > 1.8)



## TaqMan™ GMO Screening Kit

국제 데이터베이스에 등재된 대부분의 GMO는 물론 EU에서 승인한 모든 GMO를 검출합니다.

3종의 GMO event master mix를 이용하여 P35S & CaMV, TNOS & *A. tumefaciens* 그리고 P34S & FMV의 region을 동시에 검출합니다. Endogenous Vegetal Control(EVC) 및 내부 양성 대조군(IPC)의 multiplex 증폭을 위한 master mix가 포함되어 있으며 3시간내에 결과가 도출됩니다.

- 실시간 PCR로 전기영동이 필요없음
- IPC에 의해 억제물질 존재하는 PCR 과정의 검증 가능
- CaMV, *A. tumefaciens* 및 FMV의 존재를 배제시키는 고유의 특이성
- 스크리닝의 경우, 3개의 DNA(0.01%에 해당), 정량의 경우, 20개 DNA까지 검출

## TaqMan™ Roundup Ready Soya Quantification Kit

식품 또는 동물 사료내에 전체 콩(Soya) 대비 Roundup Ready(RR) Soya의 비율을 정량합니다.

RR Soya event: MΦN-Φ4Φ32-6; GTS 40-3-2

- 작은 TaqMan Minor Groove Binder(MGB™) 프로브로 처리된 DNA도 사용가능
- 20개 DNA를 정량, 3개 DNA의 검출한계
- 0.01%에 해당하는 다양한 범위(200,000개~20개)의 플라스미드 기반 정량 표준물질로 인한 신뢰도

## TaqMan™ GMO Maize Quantification Kit

식품 또는 사료내 전체 옥수수 대비 P35S의 비율을 검출하고 정량합니다.

- 작은 TaqMan MGB 프로브로 처리된 DNA도 사용가능
- 20개 DNA를 정량, 3개 DNA의 검출한계
- 다양한 범위(200,000개~20개)의 플라스미드 기반 정량 표준물질로 인한 신뢰도



보다 자세한 내용은 [thermofisher.com/gmo-testing](http://thermofisher.com/gmo-testing)을 방문하세요.



# SureTect™ Real-Time PCR

**확실한 것이 훨씬 낫습니다**

**빠르고 정확한 병원균 검출을 위해 SureTect PCR System을 선택하세요.**

효율적으로 작업하고 신속히 제품을 출시하기 위한 신속한 식품 병원균 검출 작업으로 Thermo Scientific SureTect PCR 시스템을 사용하세요. 광범위한 식품 매트릭스에 대해 검증된 시스템으로 간단하고 신속한 병원체 검사를 통해 전체 식품 안전 작업흐름을 변환하여 식품 공급을 보호하세요. SureTect PCR 시스템을 사용하면 빠르고, 정확하고, 신뢰성 있는 결과를 제공하는 식품 병원체 검사 시스템으로 소비자, 브랜드 및 수익을 보호하고 있다는 것을 확신하실 수 있습니다.



## WORKFLOW



SureTect™ Food Safety Real-Time PCR System

SureTect PCR Assay 작업흐름은 AFNOR 및 AOAC에 따라 다양한 식품 매트릭스에 대해 검증되었습니다. 관련하여 우리의 혁신적이고 경험이 풍부한 기술팀이 지원합니다.

SureTect PCR Assay 전체 제품리스트와 함께 유제품, 육류 및 가공류, 해산물, 농산물, 유아용 조제 분유, 초콜릿 샘플 등 광범위한 식품, 재료 및 환경 샘플에 대해 빠르고 정확한 병원체 테스트 결과가 문서화되어 웹을 통해 제공되고 있습니다.



보다 자세한 내용은 [thermofisher.com/suretect](http://thermofisher.com/suretect)를 방문하세요.

# Bagged Media : Streamline media preparation

## FitBag™ / QuickBag™



FitBag에 펌프로 정제수 충전



정제수 충전된 상태 (= QuickBag)



사용 직전 눌러서 배지 재구성



펌프에 연결 후 검체에 분주

## Dry-Bags™



### Fast

Prepare high quality enrichment media in a matter of minutes

### Flexible

Work with confidence, knowing that your enrichment media will be ready to go when you are

### Hassle-free

Eliminate weighing, autoclaving and bottlenecks from your workflow



펌프로 정제수 투입과 동시에 재구성



펌프에 연결 후 검체에 분주

### FitBag Media

### QuickBag Media

### Dry-Bags Media

#### 준비 시간

< 10분

< 5분

< 30분

#### 판매 용량

2.7L, 4.5L, 9L

2.7L, 4.5L

20L

#### 특징

보관 공간 절약 (배지병 5개 공간이 50개 FitBag 배지 공간과 동일)

정제수가 이미 충전되어 제공되는 제품

수요가 큰 고속 시험 작업을 위한 대용량 제품

#### 제품

	30x2.7L	20x4.5L	10x9.0L	3x2.7L	2x4.5L	5x20L w/ filter	5x20L w/o filter	10x20L w/ filter	10x20L w/o filter
24 LEB	DF1107A	DF1107B	DF1107C	DQ1107A	DQ1107B		DB1107V		
BLEB	DF0897A	DF0897B	DF0897C	DQ0897A	DQ0897B		DB0897V		
BPW	DF0509A	DF0509B	DF0509C	DQ0509A	DQ0509B			DB0509M	DB0509W
BPW(ISO)	DF1049A	DF1049B	DF1049C	DQ1049A	DQ1049B			DB1049M	DB1049W
Half Fraser	DF0895A	DF0895B	DF0895C	DQ0895A	DQ0895B	DB0895L	DB0895V		
Lactose Broth									DB0137W
MRD								DB0733M	DB0773W
ONE Broth Salmonella								DB1091M	DB1091W
ONE Broth Listeria						DB1066L	DB1066V	DB1066M	
TSB	DF0129A	DF0129B	DF0129C	DQ0129A	DQ0129B			DB0129M	DB0129W
UVM I Broth	DF0863A	DF0863B	DF0863C	DQ0863A	DQ0863B		DB0863V		

# NGS 식품 진위 판별 (Food Authenticity)

식품 보호 응용분야를 위한 집중적이고 확장 가능한 차세대 시퀀싱

## The Ion GeneStudio S5 Food Protection Series Systems

식품 및 사료 시료에 존재하는 종의 확인은 식품 생산 라인에서 진위 여부 확인, 원산지 확인, 원료의 추적, 취급 및 세척 공정의 품질 관리를 위해 매우 중요한 단계입니다.

Thermo Scientific NGS 식품 진위 검사 워크플로우는 Ion Torrent™ 차세대 시퀀싱 기술을 사용하여 육류, 식물 또는 어류의 DNA 데이터베이스와 비교하여 식품 시료에 포함된 종을 식별할 수 있는 비표적 스크리닝 방식입니다.



각각의 SGS All Species ID 식품 DNA 분석기 키트는 각각 24개의 각기 다른 바코드로 구성된 두 개의 다른 형태로 제공되므로 한 번에 최대 48개의 시료를 라벨링할 수 있어 여러 개의 시료를 동시 분석할 수 있습니다.

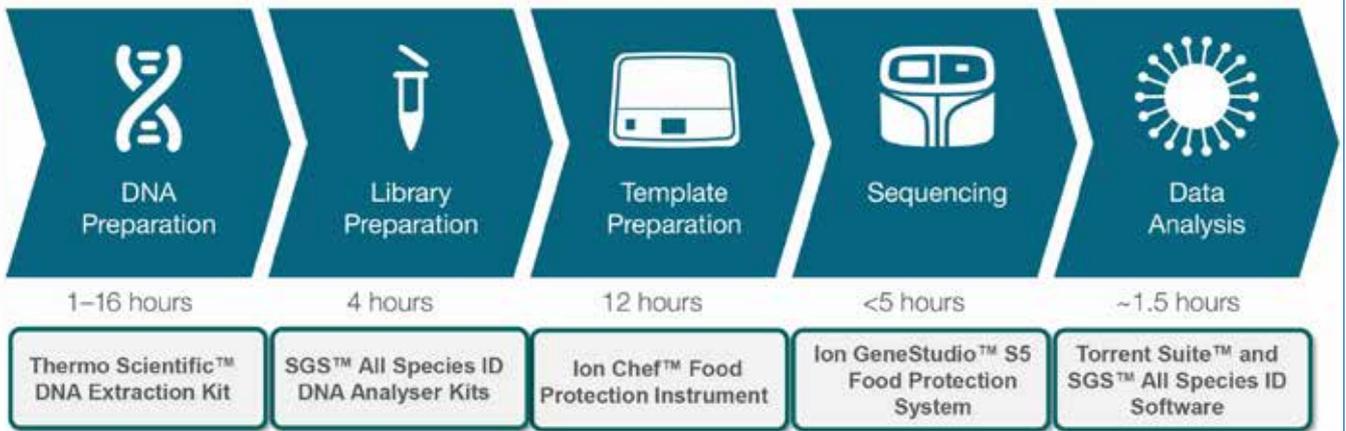
**간단** 즉시 사용 가능한 키트에는 DNA 라벨링 및 증폭에 필요한 모든 시약이 포함되어 있으며, 복잡하고 가공된 시료를 포함한 모든 시료 유형에 대해 결과를 제공합니다.

**신속** 4시간 이내에 추출된 DNA로부터 NGS 라이브러리를 준비할 수 있습니다.

**유연** 각 식품 시료의 DNA를 배타적인 바코드 DNA 시퀀스로 개별적으로 식별하는 고유한 라벨링 시스템을 사용하여 육류, 어류 또는 식물 종의 여러 시료를 함께 분석할 수 있습니다.

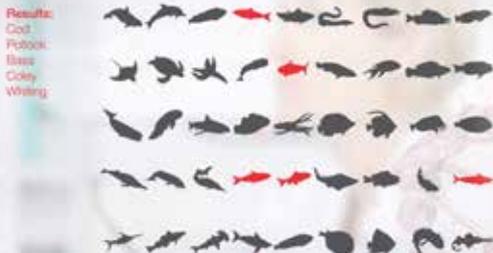
**지원** 당사의 숙련된 기술팀이 고객을 돕기 위해 대기하고 있습니다.

### WORKFLOW



식품 검체에서 추출된 DNA를 즉시 사용 가능한 SGS All Species ID 식품 DNA 분석기 키트가 PCR을 통해 육류, 어류 또는 식물 DNA의 고유 라벨링 및 증폭을 실시하고, Ion Torrent™ 차세대 시퀀싱 장비가 시퀀싱을 수행한 후, SGS All Species ID 소프트웨어로 염기서열 결과를 육류, 식물, 또는 어류의 DNA 데이터베이스와 자동 비교-분석할 수 있도록 합니다. 검사 결과는 시료에 존재하는 육류, 식물 또는 어류 종의 리스트를 제공합니다.

### NGS Food Authenticity System



### 식품 보호 검사 체계를 NGS 종 동정 시스템으로 변경하세요.

NGS 식품 동정 작업흐름의 비표적 접근법이 어떻게 식품 진위 검사를 변경할 수 있는지 발견하고 다음의 장점들을 취하세요:

- 더 나은 공급망 관리
- 향상된 제품 품질 보증
- 더 높은 수준의 신뢰성
- 감소된 리콜 및 공지의 위험
- 향상된 브랜드 보호 및 소비자 신뢰

thermo  
scientific

SGS

보다 자세한 내용은 [thermofisher.com/food-authenticity-ngs](http://thermofisher.com/food-authenticity-ngs)를 방문하세요.

# ThermoFisher

## SCIENTIFIC

### Microbiology

### The world leader in serving science

thermo scientific



remel

applied biosystems

As part of the ThermoFisher Scientific brand, these products are backed by technical and scientific expertise in serving the microbiology community. With powerful manual and automated technologies, and a comprehensive line of media and diagnostic products, we strive to be your trusted partner for every step of the microbiology workflow. For more information, please visit [www.thermofisher.com/microbiology](http://www.thermofisher.com/microbiology)

#### 미생물배지

건조분말배지/첨가제, 조제배지, 평판배지, Bag배지(Dry-Bag, FitBag, QuickBag), 병배지, Pre-weigh™, 딥슬라이드, Brilliance™ 발색배지, 혈액/혈청, 지시약, 완충용액, 수집-수송 제품, 배지원료/추출물, 식물성 펩톤, 펌프/분주기/분쇄기

#### 품질관리 미생물

ATCC® 균주, 정량적 제품 Quanti-Cult Plus®, 정성적 제품 Culti-Loops®, 여러 종류가 든 세트제품

#### 항미생물제 감수성 시험

Antibiotic Sensitivity Test(AST) Disc, AST M.I.C.E. (Minimum Inhibitory Concentration Evaluator) Strips, 감수성 시험용 배지, 디스크 디스펜서

#### 생화학적 검출/진단

단일 또는 다중 Spot Tests BactiCard™, O.B.I.S™, Touch Sticks, BactiDrop™, 진단 Discs/Strips, Microbact, RapID™ 생화학적 동정 시스템

#### 면역학적 검출/진단

항혈청, RPLA독소검출, 라텍스 응집 Wellcogen™/Wellcolex/DrySpot™/BactiStaph™/Staphaurex™/StaphyTECT™/PathoDx™/PathoDxtra/ Streptex™, 효소면역법 IDEIA™/ProSpecT™, 식품알러젠 ELISA, 면역형광법 IMAGEN™/PathoDx™, 면역크로마토그래피 Xpect™

#### 분자생물학적 검출/진단

검체준비 Pathatrix™/Dynabeads™ & BeadRetriever™/PrepSEQ™/MagMAX, Real-Time PCR ABI7500/QuantStudio™/MicroSEQ™/RapidFinder™/TaqMan® kits, RapidFinder™ Meat ID, TaqMan® GMO 시험, Custom서비스 Custom TaqMan®, 식품균검출 SureTect™, Hygiene BAX™, 미생물동정 RiboPrinter™, PathoProof™ 우유품질시험

#### 대기 조성 시스템

대기 형성 소모품(혐기성 AnaeroGen, 미호기성 CampyGen, CO<sub>2</sub>강화 CO<sub>2</sub>Gen), 배양용기(AnaeroJar & AnaeroBox), Indicator, Jar Accessories

#### 환경 모니터링

공기포집장치, 3중 포장 감마선 조사 배지(TWIP)/스왑, Contact Plate Applicator, 건조분말배지

#### 공정시물레이션

BioProcessContainer(BPC) 배지, 건조분말배지

수입 / 기술지원

## [주]메스디아

07532  
서울특별시 강서구 양천로 551-17  
비즈메트로 A-1101



Tel. 02-313-4541  
Fax.02-313-4539  
[www.mesdia.com](http://www.mesdia.com)  
[info@mesdia.com](mailto:info@mesdia.com) (일반문의)  
[techsupport@mesdia.com](mailto:techsupport@mesdia.com) (학술문의)