

CM0227, Desoxycholate Citrate Agar (HYNES)

Salmonella 및 Shigella의 분리를 위한 선택배지

조성*	gram/liter
'Lab-Lemco' powder	5.0
Peptone	5.0
Lactose	10.0
Sodium citrate	8.5
Sodium thiosulphate	5.4
Ferric ammonium citrate	1.0
Sodium desoxycholate	5.0
Neutral red	0.02
Agar	12.0
pH 7.3 ± 0.2 @ 25°C	

* 성능 표준에 맞추기 위해 필요에 따라 조절됨.

조제방법

1리터의 정제수에 52g를 현탁하고 알콜램프위에서 끓여서 완전히 녹인다. 태우지 않도록 잘 저어준다. 약 50°C로 식힌 후 멸균 페트리 접시에 붓는다. 사용전에 한천표면을 건조시킨다.

* 이 배지는 열에 민감하다: 녹이는 동안 과도하거나 장기간의 가열을 피한다. 고압습열멸균을 하거나 다시 녹이지 않도록 한다.

설명

salmonellae 및 shigellae의 분리에 사용되는 Leifsons 배지의 Hynes 변형 버전이며 향상된 배지이다. 이러한 개량으로 인해 크고 더 많은 Shigella 종들의 집락이 형성되어 집락을 쉽게 떼어낼 수 있고 슬라이드 응집 시험을 위해 식염수에 잘 현탁된다.

Deoxycholate Citrate Agar (Hynes)는 Deoxycholate Citrate Agar CM0035보다 더 선택적이다. 특히, Deoxycholate Citrate Agar (Hynes)는 대장균군(coliforms)와 Proteus 종들을 더 잘 억제시킨다.

사용방법

분변 또는 직장 스왑을 배지에 많이 접종시키고 잘 분리된 집락이 형성될 수 있게 골고루 바른다. 35°C에서 18-24시간 동안 배양한다. 미생물이 늦게 자라거나 젖산 비발효균이 아닌 것으로 관찰되면 24시간동안 더 배양한다.

집락을 배지에서 취한 후 혈청학적 및 생화학적 시험을 실시한다. 일반적으로 자라지는 않지만 Escherichia coli가 이 배지에서 생존할 수 있다. 따라서 순수 집락을 얻기 위해서는 선택적이지만 덜 억제적인 배지, 예를 들면 MacConkey Agar CM0007에 계대배양을 실시하는 것이 좋다.

집락특성(35°C 배양 후)

이 배지는 투명하고 창백한 분홍색이다. 젖산 발효 생물은 분홍색 집락을 형성하고 산생성으로 인해 desoxycholic acid 침전 영역으로 둘러싸여 나타날 수 있다. 젖산 비발효균의 집락은 무색이며 염기성 반응으로 인해 투명한 오렌지-노란색 영역으로 둘러싸인다.

Escherichia coli : 대부분의 균주가 억제되지만 일부 균주는 직경 1-2mm의 분홍색 배꼽모양의 집락을 형성하며 어떤 침전 영역으로 둘러싸여 나타날 수도 있다.

Shigella sonnei : 18시간 배양 후 직경 1mm, 38시간 배양 후 2mm의 집락이 나타난다. 매끈하고 처음에는 무색이다가 더 배양하면 후기 젖산 발효로 인해서 창백한 분홍색이 된다.

Shigella flexneri : 집락은 무색이며 Shigella sonnei의 것과 유사하지만 종종 중심의 돛 주위에 좁고 평평한 주변부를 형성한다.

Salmonella paratyphi B : 18시간 배양 후 직경 1mm, 이들 배양 후 2-4mm를 형성하며, 약간 불투명하게 되었을 때는 중심부에 검정색 점을 가진 돛 모양을 형성한다.

Salmonella typhi : 18시간 후 직경 0.25-1mm의 창백한 분홍색, 1일 후 평평하고 꼬깔모양의 직경 2mm의 무색 및 약간 불투명한 집락을 형성하며 종종 중심에 회색 점이 나타난다.

다른 Salmonella 집락들 : Salmonella paratyphi B의 집락과 유사하다. 비병원성의 젖산 비발효균들, 예를 들면 Proteus

및 Pseudomonas 종들, 은 배지에 성장하며 salmonellae 또는 shigellae의 집락들과 아주 유사하다. Proteus 집락들은 종종 광택이 있고 (병원성균들의 것보다 더 반투명이다.), 중심에 큰 검정색 점이 있고 생선 냄새가 난다.

저장 방법 및 유효기간

분말배지: 10~30°C에서 보관, 라벨 표시 유효기간까지

조제배지: 조제된 기본 배지는 2~8°C에서 보관.

성상

분말배지: 담황색/분홍색, 유동성 분말

조제배지: 분홍색 겔

품질관리

양성 대조군	예상 결과
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC® 14028*	좋은 성장; 검정색 중심이 있는 담황색 집락
<i>Salmonella sonnei</i> ATCC® 25931*	좋은 성장; 담황색 집락
<i>Salmonella nottingham</i> NCTC 7832	좋은 성장; 검정색 중심이 있는 담황색 집락
음성 대조군	예상 결과
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212*	성장없음

* Culti-Loop® 제품으로 구입가능

주의사항

조제시 과열에 주의한다.

이 배지는 사용 전에 바로 조제하는 것이 좋다.

Shigella 종들의 보관 균주들은 DCA(Desoxycholate Citrate Agar) 배지없이 계대배양되면 대부분 (미생물 성장 곡선의)R-단계가 된다. 이러한 배양액은 대조군 실험 목적을 위해 사용하기 어렵다. 따라서 추가 계대배양을 위해서는 먼저 DCA 평판에 그 배양액을 많이 도말한 후 소수의 S-단계 집락들 (즉, 평판 표면의 거대 집락들)을 취한다.

DCA 평판 표면에서 취한 집락들에 대해 생화학적 시험을 할 때, 순수 계대배양을 실시해야 한다. 왜냐하면 그 집락이 미세집락 상태로 존재하는 Escherichia coli로 오염되어 있을 수 있기 때문이다.

참고문헌

1. Hynes M. (1942) J. Path. Bact. 54. 193-207.