

CM0277, Triple Sugar Iron Agar

3개의 당 발효 및 황화수소 생성에 의한 장내세균 (Enterobacteriaceae)의 구별을 위한 종합배지.

조성*	gram/liter
'Lab-Lemco' powder	3.0
Yeast extract	3.0
Peptone	20.0
Sodium chloride	5.0
Lactose	10.0
Sucrose	10.0
Glucose	1.0
Ferric citrate	0.3
Sodium thiosulphate	0.3
Phenol red	0.024
Agar	12.0
pH 7.4 ± 0.2 @ 25°C	

* 성능 표준에 맞추기 위해 필요에 따라 조절됨.

조제방법

1리터 정제수에 65g을 넣고 잘 섞는다. 끓여서 완전히 녹인다. 잘 혼합한 후 분주한다. 121°C에서 15분간 가열습연멸균을 한다. 밑동(butt) 부분이 약 1인치(2.54cm)되게 사면을 만들어 균한다.

설명

lactose, sucrose, glucose를 발효시키는 능력 및 황화수소를 생성하는 능력에 기반하는 장내세균의 분별을 위한 종합 배지이다.

이 배지는 Kligler Iron Agar의 기능 대부분을 수행하는 것은 물론 sucrose를 함유하고 있어 sucrose-발효 종들을 인식하고 배제할 수 있게 해준다. 이 미생물들은 배양기간동안 lactose를 천천히 또는 전혀 발효시키지 않지만 sucrose는 쉽게 분해시킨다. 일부 Proteus 및 다른 종들은 salmonella 및 shigella와 유사한 반응을 보여주기 때문에 urea를 가수분해 시키는 능력에 따라 이들을 구별해야 할 필요가 있다. 이러한 이유로 Triple Sugar Iron Agar는 Urea Broth 또는 Urea Agar와 병행하여 사용되는 것이 좋다.

이 배지는 이전에는 황화수소 생성 장내세균의 검출을 위해 Kligler 배지와 상호 교환적으로 사용가능한 것으로 간주되었다. 현재는 Triple Sugar Iron Agar는 일부 Citrobacter 및 Proteus 종들 같은 sucrose-발효 미생물에 의한 황화수소 생성을 검출하는데 적합하지 않은 것으로 생각된다. 이 배지에서 sucrose 발효로 인해 황화수소 지시약이 차단되기 때문이다.^{†1}

Triple Sugar Iron Agar는 Shigella Agar(Modified)(CM0533), Bismuth Sulphite Agar(CM0201), Brilliant Green Agar(CM0263), MacConkey Agar No.3(CM0115), Desoxycholate Citrate Agar(Hynes)(CM0227)같은 평판 배지의 집락 또는 계대배양체의 추정동정에 권장된다.

사용법

미국식 방법은 어디에서나^{2,3} 찾아볼 수 있지만 다음의 간단한 방법을 제시한다:

1. 선택 평판 배지에서 단일 집락을 취하여 MacConkey Agar(CM0007) 평판에 도말한다. 37°C에서 18시간 배양하고 집락 하나를 취해 다음의 배지에 접종한다:
 - (i) Triple Sugar Iron Agar : 사면에 도말하고 밑동에 찌른다.
 - (ii) Urea 용액(SR0020)이 든 Urea Broth Base(CM0071)
2. 35°C에서 배양한다.
3. 5시간 후 Urea Broth를 확인하고 18시간 배양후에 다시 한 번 확인한다. 적색 또는 분홍색을 보이는 시험관들을 버린다. Proteus 또는 다른 미생물에 의한 요소 가수분해가 일어났기 때문이다.
4. 요소 가수분해가 없다면, 18시간 및 48시간후에 Triple Sugar Iron Agar의 시험관을 확인한다. 다음은 전형적인 반응이다:

미생물	밑동(Butt)	사면(Slope)	H ₂ S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	AG	A	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	AG	A	-
<i>Escherichia coli</i>	AG	A	-
<i>Proteus vulgaris</i>	AG	A	+
<i>Morganella morganii</i>	A or AG	NC or ALK	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	A	NC or ALK	-
<i>Shigella sonnei</i>	A	NC or ALK	-
<i>Salmonella typhi</i>	A	NC or ALK	+
<i>Salmonella paratyphi</i>	AG	NC or ALK	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	AG	NC or ALK	+
<i>Salmonella typhimurium</i>	AG	NC or ALK	+

AG = acid (yellow) and gas formation
 A = acid (yellow)
 NC = no change
 ALK = alkaline (red)
 + = hydrogen sulphide (black)[†]
 - = no hydrogen sulphide (no black)[†]
 † 본문 노트 참조

이렇게 얻어진 추정적 증거는 Triple Sugar Iron Agar 사면에서 Nutrient Broth No.2(CM0067)에 계대배양한 후 혈청학적으로 확정할 수 있다.

저장 방법 및 유효기간

분말배지: 10~30°C에서 보관, 라벨 표시 유효기간까지
 조제배지: 조제된 기본 배지는 2~8°C에서 보관.

품질관리

Triple Sugar Iron Agar에서의 전형적인 반응결과

미생물	밑동	사면	Gas	H ₂ S
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739*	A	A	+	-
<i>Proteus hauseri</i> ATCC® 13315*	A	A	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 9027*	ALK	ALK	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC® 13076*	ALK	ALK	+	+

* 이 미생물들은 Culti-Loop®로 구입가능

참고문헌

1. Bulmash J. M. and Fulton M. (1966) J. Bact. 88. 1813.
2. American Public Health Association (1976) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. APHA Inc. Washington DC.
3. Edwards P. R. and Ewing W. H. (1972) Identification of Enterobacteriaceae. 3rd Edn. Burgess Publishing Co. Minneapolis. USA.

TSI 사면배지 (배지 32)

무접종 대조군
P. aeruginosa
E. coli
Salmonella typhimurium
Shigella flexneri

Glc		-	+	+	+	Glucose 발효, (+) 밑동에 노란색, (-) 적색.
Lac/Suc		-	+	-	-	Lactose and/or Sucrose 발효, (+) 사면에 노란색, (-) 적색.
H ₂ S		-	-	+	-	H ₂ S 생성 (+) 사면에 검정색 침전, (-) 없음
Gas		-	+	+	-	가스(CO ₂ , H ₂ S, 등) 생성, (+) 배지가 바닥에서 들어올려지거나 끊어짐, (-) 없음

