

CM0401 Mycoplasma Agar Base

관련제품

제품번호	제품명	구성
CM0401B	Mycoplasma Agar Base	500 gram for 14.1L medium
SR0059C	Mycoplasma Supplement G	10 vials for 800ml medium
SR0060C	Mycoplasma Supplement P	10 vials for 100 overlays
	Bi-phasic <i>Mycoplasma pneumoniae</i> 배지 조제용	

사용목적(Use)

보조제를 첨가 후 *Mycoplasma* 종의 성장을 위한 기본 배지.

조성(Typical Formulation)*

성분	gm/litre
Bacteriological peptone	10.0
'Lab-Lemco' (beef extract) powder	10.0
Sodium chloride	5.0
Mineral supplement	0.5
Agar	10.0
pH 7.8 ± 0.2 @ 25°C	
* 성능표준을 위해 조절될 수 있음.	

조제 (Directions)

Mycoplasma Agar 조제

1 리터의 정제수에 35.5g의 비율로 첨가하고 끓여서 완전히 녹인다. 적당한 용기에 80ml 씩 분주하고 121°C, 15 분간 오토클레이브하여 멸균한다. 시험관을 약 50°C로 식힌 후, 설명서에 따라 재구성한 SR0059를 첨가한다. (SR0059C의 경우, 1 vial 첨가)

Mycoplasma pneumoniae Bi-phasic Medium 조제

1 리터의 정제수에 35.5g의 비율로 첨가하고 끓여서 완전히 녹인다. 적당한 용기에 1ml 씩 분주하고 121°C, 15 분간 오토클레이브하여 멸균한다. Agar가 굳으면, 설명서에 따라 재구성한 SR0060을 첨가한다. (1 vial의 SR0060C의 경우, 20ml로 재구성되며, 2ml을 첨가하여 10개를 조제할 수 있다.)

설명(Description)

본 배지는 mycoplasma(PPLO)의 성장에 필요한 모든 영양 성분을 만족하도록 조성된 기본 배지이다.

Edward¹는 기본배지에 mycoplasma에 대한 독성 성분이 없는 것이 중요함을 강조하였다. Lynn&Morton²은 한천에 존재할 수 있는 저해 성분에 특히 주의를 기울였다. Oxoid Mycoplasma Agar Base에는 그러한 저해 또는 독성 물질들이 없는 특별히 선별된 성분을 포함하고 있고 배지의 명확성을 방해하지 않고 mycoplasma의 성장 및 집락 특성을 향상시키기 위한 특수 무기질 성분들이 포함된다.

Hayflick³은 배지에 뿔모 추출물 25%w/v을 10% 포함하도록 제안하였고, Lemcke⁴는 Oxoid Yeast Extract(LP0021) 제품을 사용하였다. 대부분의 mycoplasma는 혈청이 포함된 배지를 필요로 하므로, 20%v/v의 말 혈청이 사용된다. 돼지 또는 사람 혈청으로 대체할 수는 있으나 혈청내 항체 또는 항생제 존재 가능성을 아주 잘 통제해야 한다(Fallon⁶). 소의 일반 생식기에 서식하는 균주들이나 기타 mycoplasma의 성장 촉진을 위해 배지에 DNA를 첨가할 것을 Edward⁷가 제안하였다. 20mg/ml의 sodium deoxyribonucleate를 첨가하는 것은 Lemcke⁴로부터 인용되었다.

항세균제는 느리게 성장하는 mycoplasma보다 기타 오염 미생물들이 더 많이 성장하는 것을 차단하기 위해 필요하다. Penicillin과 thallos acetate가 가장 일반적으로 사용되지만 T-strain mycoplasma(=Ureaplasma urealyticum)는 thallos acetate에 감수성을 가지고 있다. Hutchinson⁵과 Fallon⁶은 1mg/ml의 ampicillin으로 penicillin과 thallos acetate를 대체할 수 있음을 언급하였다.

Penicillin은 ml당 50~500units 농도를 사용할 수 있고, thallos acetate는 1/2000~1/8000 농도로 사용할 수 있다(Lemcke⁴). T-strain mycoplasma를 표적으로 한다면 thallos acetate를 생략하는 것이 선호된다.(Shepherd & Lanceford⁸)

G(SR0059)와 P(SR0060)의 2종의 supplement가 필요에 따라 사용된다. SR0059는 Hayflick³의 조성으로 조제하기 위한 일반적인 첨가물로서, Oxoid Mycoplasma Agar(CM0401) 또는 Broth(CM0403) Base에 첨가되면 전통적인 형태의 스테롤-요구성 mycoplasma 종들의 성장을 위한 완전한 선택배지가 된다.

SR0060은 Mycoplasma Reference Laboratory, CPHLS, Colindale이 권고하는 조성에 기반하는 액체 첨가제이다. Oxoid Mycoplasma Agar Base(CM0401)와 함께 사용하여 Mycoplasma pneumoniae의 분리 및 추정적 동정을 위한 2상 배지(bi-phasic medium)를 조제할 수 있다.

많은 mycoplasma 종들은 호기성 또는 통성혐기성 균이지만 일부는 이산화탄소가 추가된 미호기성 또는 절대혐기성균이다.

병원성 균주들은 35°C에서 잘 성장하지만 부생성균주들(saprophytic strains)은 22~30°C에서 종종 자라며, T-strain들은 최적온도가 36°C이다. Mycoplasma 종들은 pH 7.4~8.0에서 잘 자라지만 T-strains는 pH6.0~6.5를 선호한다.

사용방법(Technique)

Agar Plate

1. 검체를 CM0401 과 SR0059 로 조제된 agar plate(일반적으로 55mm)에 접종한다.
2. 평판을 습윤 챔버에서 호기적, 혐기적(10%CO₂-90%N₂ 대기)으로 배양한다.
3. 7 일 후, 60x 배율에서 간접투과광을 사용하여 해부현미경으로 표면을 관찰한다: 전형적인 집락은 집락 가운데가 주변보다 아래로 움푹 들어간 “fried-egg” 모양이다.
4. 전형적인 집락을 계대 배양하여 순수 배양체를 얻은 뒤 동정을 실시한다. 성장저해 시험은 특이적인 항혈청을 이용하여 수행한다(Clyde⁹).

Bi-Phasic Medium

1. 조제법에 따라 준비된 3ml(1ml Agar(고상) + 2ml supplement(액상))의 bi-phasic 배지에 객담 스왑 또는 객담 덩어리를 접종한다.
2. 35°C에서 3 개월까지 배양한다. 세균이나 곰팡이의 성장으로 인해 심한 혼탁도를 보이는 용기는 폐기한다.
3. *Mycoplasma pneumoniae*의 성장은 glucose 발효로 인한 산의 생성으로 methylene blue 의 환원을 초래하고, phenol red 지시약을 노란색으로 변화시킨다. 이러한 색변화를 보이는 용기는 추가 시험을 위해 agar plate(CM0401+SR0959)에 계대배양한다.

참고문헌(Reference)

1. Edward D. G. ff. (1971) J. Gen. Microbiol. 69. 205-210.
2. Lynn R. J. and Morton H. E. (1965) Appl. Microbiol. 4. 339-341.
3. Hayflick L. (1965) Texas Rep. Biol. & Med. 23. suppl. 1. 285-303.
4. Lemcke Ruth M. (1965) `Media for the Mycoplasmataceae', Lab. Pract. 14. 712.
5. Hutchinson D. (1969) J. Med. Lab. Technol. 26. 111-116.
6. Fallon R. J. (1969) S. A. B. Technical series 3. Academic Press. 41-50.
7. Edward D. G. ff. (1954) J. Gen. Microbiol. 10. 27-64.
8. Shepard M. C. and Lanceford C. D. (1970) Appl. Microbiol. 2. 539-543.
9. Clyde W. A. (1964) J. Immun. 92. 958-962.

한글 설명서 제개정 0 (2018.06.20.)

수입/기술 지원

(주)메스디아

전화 02-313-4541 /팩스 02-313-4539

웹 www.mesdia.com / 일반 info@mesdia.com /

학술 techsupport@mesdia.com

저장 조건 및 유효기간(Storage conditions and Shelf life)

분말배지 : 10-30°C 에서 보관. 라벨에 표시된 유효기한 전 까지 사용

조제배지 : 2-8°C 보관.

성상 (Appearance)

분말배지 : 짙색의 유동성 분말

조제배지 : 짙색의 젤

품질관리(Quality Control)

양성대조군	예상 결과
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> ATCC® 15531	현미경 시험 : “fried-egg” 집락
음성대조군	예상 결과
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 *	억제됨.
* Culti-Loop®로 판매되고 있음	

주의사항(Precautions)

1. Thallous acetate 는 독성성분이다. MSDS 의 HAZARDS 장의 주의사항을 참고하도록 한다.
2. *Ureaplasma urealyticum* 분리를 위해 Thallous acetate 가 첨가된 배지를 사용하지 않도록 한다.
3. *Mycoplasma* 로 의심되는 경우는 (1) 전형적인 모양 (2) 혈청이 없는 배지에서 성장하지 못함 (3) 집락이 한천 표면아래로 들어감 이다.