

식품에서 *Clostridium perfringens*의 계수를 위한 배지

조성 Typical Formula*

성분	gm/litre
Tryptone	15.0
Yeast extract	5.0
Soya peptone	5.0
Liver extract	7.0
Ferric ammonium citrate	1.0
Sodium metabisulphite	1.0
Tris buffer	1.5
Agar	10.0
pH 7.3 +/- 0.2 @ 25°C	
* 성능 표준에 적합하도록 조절됨	

첨가제

Perfringens (OPSP) Selective Supplement A (SR0076)		
성분	vial당	liter당
Sodium sulphadiazine	50.0mg	100.0mg
배지 500ml당 1개 vial을 사용		

Perfringens (OPSP) Selective Supplement B (SR0077)		
성분	vial당	liter당
Oleandomycin phosphate	0.25mg	0.5mg
Polymyxin B	5,000IU	10,000IU
배지 500ml당 1개 vial을 사용		

조제법 Directions

500ml의 정제수에 22.8g을 현탁하고, 서서히 끓여서 완전히 녹인다. 121°C, 15분간 고압증기멸균한다. 50°C로 식힌 후, 지시에 따라 무균적으로 재구성한 SR0076과 SR0077을 각각 1 vial씩 무균적으로 배지에 첨가한다. 잘 혼합한 후 멸균 페트리 디쉬에 붓는다.

설명 Description

Oxoid Perfringens Agar (OPSP)는 Handford¹가 개발한 조성에 기반한다. 이 배지는 sulphadiazine(100µg/ml), oleandomycin phosphate (0.5µg/ml), polymyxin B sulphate (10IU/ml)을 활용한다. 이 첨가제들은 동결 건조 형태로 제공되어 *Clostridium perfringens*에 대해 고도의 선택성과 특이성을 보여준다. Sodium metabisulphite 및 ammonium ferric citrate는 *Clostridium perfringens*에 의한 sulphite reduction의 지시약으로 작용하여 붓기 평판법을 이용할 경우 이 배지에서 검정색 집락이 형성된다. *Clostridium perfringens*의 확정 시험은 International Commission on Microbiological Specifications for Foods (I.C.M.S.F.)²가 시작한 연구에 기술되어 있다.

*Clostridium perfringens*의 sulphite 환원 세균들, 예를 들면, salmonellae, *Proteus* spp. 그리고 *Citrobacter freundii*, *staphylococci* 및 *Bacillus* 종들은 OPSP Agar에서 억제된다. 또한 이 배지는 *Clostridium bifermentans*와 *Clostridium butyricum*의 성장을 억제하는 장점이 있다. 이런 sulphite 환원 미생물들은 Shahidi-Ferguson Perfringens Agar (SFP)³ 과 Tryptone-Sulphite-Neomycin Agar (TSN)⁴에서 검정색 집락으로 잘 자라며, 배지 표면 전체에 걸쳐 퍼지거나 불투명하게 만드는 경향이 있다. 기회성 enterococci의 균주들은 흰색 집락으로 Perfringens Agar(OPSP)에서 자랄 수 있으며, *Clostridium perfringens*의 큰 검정색 집락과 쉽게 구별된다.

Lecithinase 활성을 검출하기 위해 egg yolk를 포함하는 *Clostridium perfringens* 계수용 배지는 만족스럽지 못한 것으로 증명되었다, 부분적인 이유로는 *Clostridium perfringens* 집락들이 종종 환 형성에 실패하고, 따

라서 위음성으로 나타나기 때문이고, 다른 부분적인 이유로는 이 균이 크게 퍼지는 집락을 형성하여 배지를 완전히 검정색화 하는 형태로 자라기 때문에 계수가 실질적으로 의미가 없기 때문이다.

사용 방법 Technique

1. 조제법에 따라 배지를 준비한다. 균질화한 시험 검체를 적절하게 연속 희석한 것을 1ml을 사용하고, 평판 당 25ml의 배지를 사용하여, 붓기 평판을 준비한다. 잘 혼합 후 응고시킨다.
2. 접종 평판을 한천으로 증착하지 않으면 평판 표면에 형성된 *Clostridium perfringens*의 집락은 검정색으로 되지 않을 가능성이 높다.
3. 혐기성 생성기(AN0025, AN0035)로 형성된 혐기성 조건에서 18~24시간 동안 35°C에서 평판을 배양한다.
4. *Clostridium perfringens*는 한천 속에서 큰 검정색 집락(2~4mm 직경)으로 보인다. Perfringens Agar(OPSP)에 작은 무색 집락으로 자랄 수 있는 기회성 *Enterococcus faecalis*는 *Clostridium perfringens*와 쉽게 구별된다.

보관 조건 및 유효 기간 Storage conditions and Shelf life

건조 분말 배지: 10~30°C 보관, 라벨에 표시된 유효기간까지 사용
조제 배지: 2~8°C에서 차광 보관

성상 Appearance

건조 분말 배지: 질색의 유동성 분말
조제 배지: 질색의 젤

품질 관리 Quality Control

양성 대조군	예상 결과
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC® 13124	좋은 성장; 검정색 집락
음성 대조군	예상 결과
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC® 19404*	성장 없음
* Culti-Loop®제품으로 구매가능	



Clostridium perfringens

주의사항 Precaution

- 이 배지에서 검정색 집락의 생성은 *Clostridium perfringens*의 추정적 동정이므로 추가 동정 시험이 실행되어야 한다.

참고 문헌 References

1. Handford P. M. (1974) J. Appl. Bact. 37. 559-570.
2. Hauschild A. H. W., Gilbert R. J., Harmon S. M., O'Keeffe M. F. and Vahlefeld R. (1977) ICMSF Methods Studies VIII, Can. J. Microbiol. 23. 884- 892.
3. Shahidi S. A. and Ferguson A. R. (1971) Appl. Microbiol. 21. 500-506.
4. Marshall R. S., Steenbergen J. F. and McClung L. S. (1965) Appl. Microbiol. 13. 559-562.
5. Hauschild A. H. W. and Hilsheimer R. (1974) Appl. Microbiol. 27. 78-82.

CM0543_IFUKor, Rev.0(2017.08.01.)