

# CM0587, Perfringens Agar Base (TSC and SFP)

*Clostridium perfringens*의 추정 동정 및 계수를 위해, 독립적으로 또는 선택적 첨가제를 사용하여 Tryptose Sulphite (TS) agar, Tryptose Sulphite Cycloserine (TSC), 또는 Shahidi Ferguson Perfringens(SFP) agar를 만드는데 사용하는 기본배지

하는 것을 쉽게 해준다.

많은 수의 계수는 pour-plate 방법으로 가능하다. 이러한 차이는 표면 평판 방법에서 높은 산소 장력에 *Clostridium perfringens* 세포들이 노출된 것이 원인인 것으로 여겨진다<sup>4</sup>.

## 분말배지

조성*	gram/liter
Tryptose	15.0
Soya peptone	5.0
Yeast extract	5.0
Sodium metabisulphite	1.0
Ferric ammonium citrate	1.0
Agar	19.0
pH 7.6±0.2 @25°C	
* 성능 표준에 맞추기 위해 필요에 따라 조절됨.	

Shahidi-Ferguson Perfringens Agar는 Shahidi 및 Ferguson에 의해 개발된 조성에 기반한다<sup>1</sup>. 이 배지는 선택적 첨가제 kanamycin sulphate(12mg/l) 및 polymixin B sulphate (30,000IU/l)를 사용하여 *Clostridium perfringens*에 대한 높은 선택성과 특이성을 제공한다. Tryptose Sulphite Cycloserine Agar는 SFP Agar<sup>2</sup>와 같은 기본 배지를 사용하지만 선택적 첨가제로서 400mg/l의 D-cycloserine이 포함되어 개발되었다. Sodium metabisulphite와 ferric ammonium citrate는 *Clostridium perfringens*에 의한 sulphite 환원의 지시자로서 사용되었다. 이러한 환원작용으로 두 배지에서 검정색 집락이 형성된다.

## Perfringens (SFP) Selective Supplement (SR0093)

바이알 내용물	SR0093E (1 vial / 500ml medium)	liter 당
Kanamycin sulphate	6.0mg	12.0mg
Polymixin B	15,000IU	30,000IU

Trials<sup>3</sup>의 보고에 의하면, SFP Agar에 사용되는 polymixin B 및 kanamycin sulphate는 Sulphite Polymixin Sulphadiazine Agar에 사용되는 polymixin B나 sulphadiazine, 또는 Tryptone Sulphite Neomycin Agar에 사용되는 neomycin 보다 *Clostridium perfringens*의 영양세포 및 포자의 회수율을 더 높게 만들어 준다. 하지만, 많은 수의 비특이적인 집락들이 SFP Agar에서 발견된다.

## Perfringens (TSC) Selective Supplement (SR0088)

바이알 내용물	SR0088E (1 vial / 500ml medium)	liter 당
D-cycloserine	200.0mg	400.0mg

다른 연구에서<sup>2</sup>, *Serratia marcescens* 및 *Streptococcus lactis*가 TSC Agar에서 자라는 유일한 통성혐기성균인 반면 SFP Agar는 *Enterococcus*, *Proteus*, *Enterobacter* 균주들의 성장 또한 허락한다. 그러나 이것은 TSC Agar 보다는 *Clostridium perfringens*의 회수율을 약간 더 높게 해준다. SFP Agar와 TSC Agar 모두 다른 sulphite-환원성 *Clostridium* 종들의 성장을 허락한다.

## 조제방법

### Agar Base 조제

정제수에 23g을 현탁하고 천천히 열을 가하여 agar를 완전히 녹인다. 121°C 10분간 가압멸균한다. 50°C까지 식힌다.

### Tryptose Sulphite Cycloserine Agar (TSC Agar) 조제

50°C까지 식힌 Agar base 500ml에 재구성한 1바이알의 TSC 첨가제(SR0088)와 25ml의 egg yolk emulsion(SR0047)을 첨가한다. 잘 혼합한 후 멸균 페트리접시에 붓는다.

### Egg Yolk 없는 TSC Agar 조제

50°C까지 식힌 Agar base 500ml에 재구성한 1바이알의 TSC 첨가제(SR0088)를 첨가한다. 잘 혼합한 후 멸균 페트리접시에 붓는다.

### Shahidi-Ferguson Perfringens Agar (SFP Agar) 조제

50°C까지 식힌 Agar base 500ml에 재구성한 1바이알의 SFP 첨가제(SR0093)와 25ml의 egg yolk emulsion(SR0047)을 첨가한다. 잘 혼합한 후 멸균 페트리접시에 붓는다.

### 겹층용(overlay) Agar 조제

겹층용으로 사용되는 TSC 또는 SFP agar에는 egg yolk emulsion(SR0047)이 생략된다. 첨가하게 되면 lecithinase 활성을 향상시키지 못하며 집락이 잘 보이지 않는다.

## 설명

Perfringens Agar Base (TSC and SFP)는 egg yolk emulsion (SR0047)과 적절한 항생제 첨가제가 첨가되는 영양배지로서, Shahidi-Ferguson Perfringens (SFP)<sup>1</sup> Agar 또는 Tryptose Sulphite Cycloserine (TSC)<sup>2</sup> Agar를 만드는데 사용된다. Egg yolk가 첨가되지 않은 TSC Agar<sup>4,5</sup>가 보고되었는데, 이것은 보다 작은 크기의 집락이 형성되는 장점이 있어 집락수가 많은 평판을 계수

*Cl. perfringens*의 일부 균주들은 lecithinase 활성으로 인해 집락주위에 불투명한 환을 생성할 수도 있으나 밤샘 배양후에 모든 *Clostridium perfringens*에 대해서 보편적인 것으로 생각되지 않는다<sup>4</sup>. 검정색의 lecithinase 양성 집락과 검정색의 lecithinase 음성 집락 모두 TSC Agar 또는 SFP Agar상에서 *Clostridium perfringens*로 추정되어야하고 확정시험을 수행해야한다. Lecithinase 양성의 통성혐기성균은 SFP Agar상에서 자랄 수 있으며 *Cl. perfringens*의 egg yolk 반응을 완전히 가려서 불투명한 평판을 생성시킨다.

## 사용방법

1. 조제방법에 따라 배지를 만들고 egg yolk를 함유하는 20ml의 TSC 또는 SFP 기본층으로된 평판을 준비한다.
2. 균질화한 시험 검체를 적절히 연속희석한 후 0.1ml 용액을 준비하고 멸균 스왑을 사용하여 기본층의 표면에 도말한다. egg yolk가 없는 TSC 또는 SFP Agar 10ml을 중첩시킨다. 중첩시키지 않은 평판은 검정색 집락으로 성장하지 않을 가능성이 높다.
3. 혐기성 환경의 35°C에서 18~24시간 동안 배양한다.
4. 또는 균질화한 시험 검체의 적절한 연속 희석액 1ml과 egg yolk가 든 TSC 또는 SFP Agar 25ml을 사용한 pour-plating 법을 이용한다. 한천이 굳기전에 잘 혼합한다. 이 방법을 사용하면 *Cl. perfringens* 집락의 lecithinase 활성을 보기가 어렵다. *Cl. perfringens* 집락들은 한천 속에 크고 검정색 (2-4mm 직경)인 집락으로 관찰된다.

Egg yolk가 없는 TSC Agar는 위에 기술한 방법으로 사용된다. *Cl. perfringens* 집락들은 검정색이지만 egg yolk가 없을때는 lecithinase 활성이 관찰되지 않는다.

확정 시험은 International Commission on Microbiological Specifications for Foods<sup>6</sup>에 의해 개시된 연구에 기술되어 있다. 여기에는 질산염 환원(nitrate reduction), 젖산 발효(lactose fermentation), 젤라틴 액상화(gelatin liquefaction), 이당성 없

음이 해당된다. TSC 또는 SFP Agar에 성장하는 모든 검정색 집락들이 시험되어야 한다.

### 저장 방법 및 유효기간

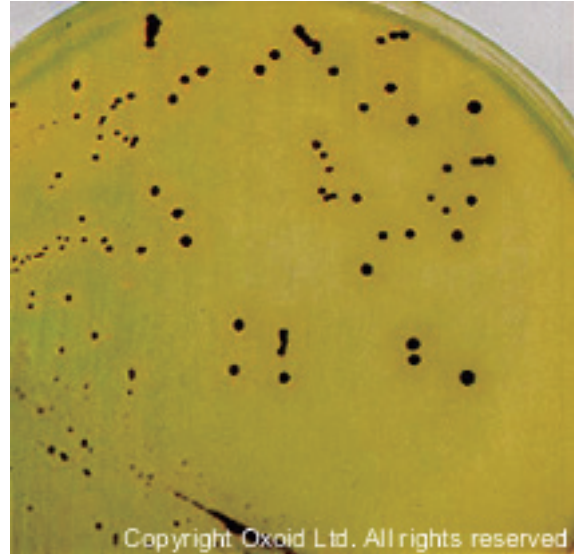
분말배지: 10~30°C, 라벨 표시 유효기간까지  
 조제배지: 조제된 배지는 2~8°C에서 보관한다.

### 성상

분말배지: 미색의 유동성 분말  
 조제배지: 미색/녹색의 젤

### 품질관리

양성 대조군	예상 결과
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC® 13124	좋은 성장; 투명한 환이 있는 검정색 집락
음성 대조군	예상 결과
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922*	억제됨
* Culti-Loop® 제품으로 구입가능	



### 주의사항

이 두 배지에 나타나는 검정색 집락들은 *Clostridium perfringens* 외의 다른 생물일 수도 있다.

### 참고문헌

1. Shahidi S. A. and Ferguson A. R. (1971) Appl. Microbiol. 21. 500-506.
2. Harmon S. M., Kauttar D. A. and Peeler J. T. (1971) Appl. Microbiol. 22. 688-692.
3. Harmon S. M., Kauttar D. A. and Peeler J. T. (1971) Appl. Microbiol. 21. 922-927.
4. Hauschild A. H. W. and Hilsheimer R. (1974) Appl. Microbiol. 27. 78-82.
5. Hauschild A. H. W. and Hilsheimer R. (1974) Appl. Microbiol. 27. 521-526.
6. Hauschild A. H. W., Gilbert R. J., Harmon S. M., O'Keefe M. F. and Vahlfeld R. (1977) Can. J. Microbiol. 23. 884-892.

### 혐기성 배양 제품

용기(container) 및 용량	혐기성 대기 생성기(generator)	혐기성 표시기(indicator)
• Anaerojar 2.5L (AG0025A) 12x 90mm-plates	AnaeroGen 2.5L (AN0025A) 10 sachets	Anaerobic indicator (BR0055B) 100Tests
• Rectangular AnaeroBox 2.5L (AB0025A) 12x 90mm-plates or 21x 55mm-plates		
• Anaerobic Jar 3.5L (HP0011A) 15x 90mm-plates	AnaeroGen 3.5L (AN0035A) 10 sachets	
• AnaeroGen W-Zip Compact (AN0010W)(10 pouches + 10 sachets) 4x 90mm-plates(파우치 당)	AnaeroGen Compact (AN0020D) 10 sachets	
• AnaeroGen Compact (AN0010C), 10 pouches + 10 sachets 4x 90mm-plates(파우치 당)		
• Sealing Clips (AN0005C)		
• W-Zip Seal Pouches (AG0060C), 20 pouches		
• Plastic pouches (AG0020C), 20 pouches		
• Sealing Clips (AN0005C)		