

Bismuth Sulphite Agar (Modified Wilson & Blair Medium)

관련제품

제품번호	제품명	구성
CM0201B	Bismuth Sulphite Agar	500 gram

사용목적(Use)

Salmonella typhi 및 기타 salmonellae 의 분리를 위한 Wilson and Blair Medium 의 변형. 유당 발효 salmonellae 의 분리에 유용함.

조성(Typical Formulation)

성분*	gm/litre
Peptone	5.0
'Lab-Lemco' powder	5.0
Glucose	5.0
Disodium phosphate	4.0
Ferrous sulphate	0.3
Bismuth sulphite indicator	8.0
Brilliant green	0.016
Agar	12.7
pH 7.6 ± 0.2 @ 25°C	
*성능표준을 위해 조절될 수 있음	

조제 (Directions)

1 리터의 플라스크에 든 500ml 의 정제수에 20.0g 을 현탁하고 자주 교반하면서 열을 가한다. 배지가 끓기 시작하면 30 초간 문근히 끓여서 한천을 완전히 녹인다. 50-55°C 로 식힌 후 잘 혼합하고 두꺼운 평판을 만든다 (평판 당 25ml 배지). 뚜껑을 닫지 않은 상태로 응고시킨다. 많은 주의를 기울이고 적절한 상층 공간(head space)이 확보되면 더 큰 부피로 평판을 만들 수도 있다.

사용 전에 평판을 건조하고 초과 건조는 피한다. 잘 조제된 배지는 부드럽고, 창백한 짙색으로 크림 같이 불투명하며, 지시약의 침전이 없어야 한다.

과열하지 말 것 - 오토클레이브 하지 말 것

설명(Description)

Bismuth Sulphite Agar 는 병원성 물질, 하수, 공급수, 식품, 그리고 오염이 의심되는 기타 생산물에서 *Salmonella typhi* 및 기타 salmonellae 의 분리 및 1 차 동정을 위한 Wilson 및 Blair¹ 의 선택 배지의 변형이다. 이 배지에서 새로이 침전된 bismuth sulphite 는 대장균의 성장을 억제하지만 salmonellae 의 성장을 허락하는 선택제인 brilliant green 과 함께 작용한다. 황화합물은 황화수소 생성을 위한 기질을 제공하며 금속 염(metallic salts)은 집락을 염색하고 주위의 배지를 황화수소 존재하에서 검정색 또는 갈색으로 염색시킨

다.

배지를 유기물질로 많이 접종하게되면 비 전형적인 집락이 나타날 수 있다. 그러한 상황은 멸균 생리식염수에 검체를 현탁하거나 접종에 상층액을 사용함으로써 방지할 수 있다.

신선하게 조제된 배지는 강력한 억제 작용을 가지며 ² 심하게 오염된 검체에 적당하다. 조제된 배지를 4°C 에서 3 일간 보관하면 배지의 색상이 녹색으로 바뀌고, 적은 수의 salmonellae 가 회수될 경우 선택성이 떨어진다 ³. 그러나 *Salmonella typhi* 회수의 경우, 후자의 방법은 권장되지 않는다 ⁴.

Salmonellae 의 수가 작을 것으로 기대되는 경우 증균 방법을 포함시킬 수도 있다. 이 배지는 여러 권위자로부터 추천된다 ^{5,6,7}.

사용(Technique)

이 배지는 직접평판법 이나 증균배지로부터 salmonellae 의 분리를 위한 다른 선택적 장내세균용 한천배지와 병행하여 사용될 수 있다 ⁸. 따라서 다음의 계획이 인용될 수 있다.

Bismuth Sulphite Agar 및 다음 중 하나 이상에 직접 접종한다:

Desoxycholate Citrate Agar (CM0227) 또는 DCLS Agar (CM0393)
XLD Agar (CM0469)

Brilliant Green Agar (CM0329)

MacConkey Agar No.3 (CM0115)

동시에 증균 액체 배지, 예를 들면 Selenite Broth Base(CM0395)+Sodium Biselenite LP0121, Mueller-Kauffmann Tetrathionate Broth (CM0343) 또는 Mueller-Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin Broth (MKTT-n) (CM1048), 에 접종한다. 12-18 시간 배양 후 Bismuth Sulphite Agar 및 기타 선택배지상에 계대 배양한다. 18 시간 배양 후 평판을 관찰하고 의심 집락을 동정 배지, 예를 들면 Kligler Iron Agar (CM0033)에 계대 배양한다.

모든 음성 평판은 48 시간 동안 배양해야 한다.

Organism	Appearance
<i>Salmonella typhi</i>	18 시간 배양 후 집락 주위에 검정색 영역과 금속성 광채가 있는 검정색의 토끼눈 집락. 48 시간 배양 후에는 균일하게 검정색
Other <i>Salmonella</i> species	18 시간 후 다양한 집락 성상으로 검정색, 녹색, 또는 투명하고 점성이 보인다. 48 시간 후에는 균일하게 검정색 집락이 관찰되고 종종 폭넓은 배지의 염색과 뚜렷한 금속성 광채를 가짐
Other organisms, e.g. coliform bacteria, <i>Serratia</i> , <i>Proteus</i> species	일반적으로 억제되지만 금속성 광채가 없거나 배경 배지의 염색이 있는 둔한 녹색 또는 갈색 집락을 종종 보인다.

저장 조건 및 유효기간(Storage conditions and Shelf life)

분말배지: 10-30°C 에서 보관. 라벨에 표시된 유효기간 전 까지 사용. 반응성이 있고 흡습성인 성분들이 포함되어 있어, 습기에 노출되면 제품이 빠르게 악화된다. 이것은 고체의 잘 부서지지 않는 덩어리로 응집되고 갈색으로 변색되는 것으로 알 수 있다. 그러한 분

분말로부터 조제된 배지는 갈색을 나타내고 저장 후에도 녹색으로 변하지 않으며 분별적 및 선택적 특성이 소실되는 것이 특징이다. 이러한 이유로 분말은 차고 건조한 곳에 보관해야 하며 개봉 후에 용기는 적절히 봉해야 한다.

조제배지: 2-8°C 에서 최대 2 일간 보관. 이 기간 이후에 brilliant green 은 산화되어 녹색 배지를 나타내고 일부 salmonellae 에 억제적일 수 있다.

성상 (Appearance)

분말배지 : 밝은 녹색의 유동성 분말

조제배지 : 창백한 녹색의 젤

품질관리(Quality Control)

<i>Salmonella typhi</i> 는 일반 시험실 또는 식품 실험실이 아닌 Class 3 실험실에서만 사용해야 한다.	
양성대조군	예상 결과
<i>Salmonella</i> Poona NCTC 4840*	좋은 성장; 금속성 광채가 있는 검정색 집락
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC® 14028*	좋은 성장; 금속성 광채가 있는 검정색 집락
음성대조군	예상 결과
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 6538*	성장 없음
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212*	성장 없음
* Quanti-Cult Plus®로 판매되고 있음	

주의사항(Precautions)

- 조제된 평판 배지는 2-8°C 에서 최대 2 일간 보관하고 이 기간 이후에 brilliant green 은 산화되어 녹색 배지를 나타내고 일부 salmonellae 에 억제적일 수 있다.
- Shigella 종들은 일반적으로 완전히 억제된다.
- Salmonella sendai*, *Salmonella cholera-suis*, *Salmonella berta*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella abortus-equi* 는 현저히 억제된다⁹.
- 스프레딩법이 잘 분리된 집락을 만들어 낸다. 만일 성장이 너무 많거나 합류적(confluent)이라면 전형적인 집락 특성이 나타나지 않을 것이다; *Salmonella typhi* 집락은 이러한 환경하에서 밝은 녹색을 보인다. 따라서 의심이 된다면 배지상의 거의 모든 성장 집락을 추가 시험에 포함시켜야 한다.

참고문헌(Reference)

- Wilson W. J. and Blair E. M. McV (1927) J. Hyg. Camb. 26. 374.
- Cook G. T. (1952) J. Path. Bact. 64. 559.
- McCoy J. M. and Spain G. E. (1969) in Isolation Methods for Microbiologists, p. 20. Ed. by Shapton D. A. and Gould G. W. Academic Press London.
- Hobbs B. C., King G. C. G. and Allison V. D. (1945) Monthly Bulletin of the Ministry of Health and Emergency Public Health Lab. Service 4. 40.
- Anon (1981) Int. Standard ISO 6579-1981. Geneva. Internat. Organization for Standardization.

- ICMSF (1978) Micro-organisms in Food 1. 2nd Edn. University of Toronto Press, Ontario.
- Speck M. L. (1984) Compendium of methods for the micro-biological examination of foods. 2nd Edn. American Public Health Association.
- Harvey R. W. S. and Price T. M. (1974) Public Health Laboratory Service Monograph Series No.8. Isolation of Salmonellas. HMSO London.
- Hajna A. A. (1951) Pub. Hlth. Rep. 9. 48-51.