E.E. Broth (Buffered-Brilliant Bile Broth)

관련제품

제품번호	제품명	구성
CM0317B	E.E. Broth (Buffered-Brilliant Bile Broth)	500 gram

사용목적(Use)

식품의 세균학적 시험에서 장내세균군(Enterobacteriaceae)을 위한 증균 배지

조성(Typical Formulation)

성분*	gm/litre
Peptone	10.0
Glucose	5.0
Disodium hydrogen phosphate anhyd.	6.45
Potassium dihydrogen phosphate	2.0
Ox Bile purified	20.0
Brilliant green	0.0135
pH 7.2 ± 0.2 @ 25°C	
*성능표준을 위해 조절될 수 있음	

조제 (Directions)

1 리터의 정제수에 43.5g 을 첨가한다. 250ml 플라스크에 100ml 을 분주한 후 100°C 에서 30 분간 가열한다. 흐르는 물에 플라스크를 신속히 냉각시킨다. 이 배지는 열에 민감하며 오토클레이브를 금지한다.

설명(Description)

EE Broth (Buffered glucose – Brilliant Green Bile Broth)는 식품[1] 및 동물사료[2]의 세균학적 시험에서 대장균군을 위한 증균 배지로 권장된다. 이 배지는 brilliant green 과 bile salts 가 포함되어 있어 다른 비 선택적 배지, 예를 들면, Mannitol Broth[3] 또는 Lactose Broth[4] 보다 비 장내세균군에 대해서 더 억제적이다.

장내세균군의 계수는 식품 및 의약품의 위생 품질을 모니터링하는 데 아주 중요하지만 사용되는 방법의 신뢰도는 손상된 세포의 소생에 의존한다. 그러한 약화된 세포는 가수분해, 낮은 pH, 기타 불리한 조건에 대한 노출로 인해 발생할 수 있다[5].

EE Broth 에서 증균하기 전에 25°C 에서 공기가 잘 포함된 Tryptone Soya Broth (CM0129)에서 2 시간 배양한다. 이 과정은 건조 식품[6], 사료[7], 반보존 식품[8]에 대해서 권장된다. 때때로 특별한 건조 제품의 경우, 더 긴 배양 시간이 필요하지만 소생을 위해 8 시간 이상 배양하지 않도록 한다.

옥소이드 EE Broth 는 bile salt 변동으로 인해 작은 수의 장내세균군에 대한 억제 효과를 극복할 수 있게 조성되었다. 정제된 ox bile 을 포함시켜 이러한 문제를 해결하였고 선행 분석을 사용하여 배지 단위당 약 1 개의 생존 세포를 접종하여 성장을 체크할 수 있다[9,10].

가공된 식품의 세균학적 평가를 위해서 전체 장내세균군을 지표 미생물로 사용할 수 있다[10]. 이것은 lactose-음성, 혐기적 lactose 양성 또는 후기 lactose 발효 장내세균들이 존재하지만 표준 'coli-aerogenes' 검사로 놓칠 경우 발생될 수 있는 불일치를 극복하게 해줄것이다. 이런 문제를 해결하기 위해 lactose 배지는 glucose 를 포함하는 배지로 교체된다. Mossel 등[1]은 비록 대장균군에 대한 결과는 음성이지만 salmonellae 로 오염된 다양한 식품들을 언급하는 논문에서 몇 가지 예시를 인용하였다. Mossel[9] 이 인용한 다음 예시는 *Escherichia coli* serotype O124 로 오염된 프랑스 곰팡이 발효 소프트 치즈(French mould-fermented soft cheese)로 인한 설사의 발생이다. 이 미생물은 lactose 음성이며 따라서 coliform 검사에서 검출되지 않지만 이 미생물이 glucose 를 빠르게 발효하기 때문에 장내세균군에 대한 시험을 할 때 인식될 수 있다.

EE Broth 는 Violet Red Bile Glucose Agar (CM0485)와 병행하여 증균 배지로서 사용되어야 한다. 장내세균군이 아닌 특정 미생물이 요구된다면 lactose 음성 또는 지연된 미생물들의 검출을 위해 계대배양은 lactose differential media, 예를 들면 Desoxycholate Citrate Agar (CM0035), Brilliant Green Agar (CM0263), 또는 MacConkey Agar (CM0007)상에 이루어져야 한다. 찾으려는 미생물을 검출하기 위해 검체 크기는 10g 이상이어야 한다.

사용(Technique)

1. Tryptone Soya Broth (CM0129)에 식품 검체를 1:10 으로 희석하고 25°C 에서 2~8 시간동안 배양하여 쇠약해진 세포를 소생시킨다. 액체층이 1 센치미터 이상 깊게 되지 않게 한다. 30 초간 플라스크를 시계 방향 및 반시계 방향으로 변경해가며 흔들어서 내용물을 혼합해준다. 연속적으로 3 회 수행한다.
2. 소생된 현탁액에 10 배 부피의 EE Broth 를 첨가한다.
3. 위와 같이 흔들어서 내용물을 혼합한다. 검체의 부피가 큰 경우, 2 배 농도의 EE Broth 를 사용하여 검체 부피와 같은 양을 혼합해준다.
4. 찾으려는 장내세균군의 그룹에 따라서 호열성 세균의 경우 44°C 에서 18 시간, 중온성 세균의 경우 32°C 에서 24/48 시간, 호냉성 세균의 경우 4°C 에서 10 일간 배양한다.
5. 배지를 살펴보아 장내세균군의 추정적 증거인 노란색을 띠는 녹색으로 색상이 변화했는지와 함께 탁도를 관찰한다.
6. LF 또는 NLF 상태의 확정을 위해 Violet Red Bile Glucose Agar (CM0485) 또는 lactose 함유 배지상에 계대배양을 한다. 추가 시험은 분리된 균주의 동정을 확인하는 것이 이루어져야 한다.

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 에 보관

성상 (Appearance)

분말배지 : 창백한 녹색의 유동성 분말
조제배지 : 녹색 용액

품질관리(Quality Control)

양성대조군	예상 결과
Salmonella typhimurium ATCC® 14028 *	탁한 성장
Escherichia coli ATCC® 25922 *	탁한 성장
음성대조군	**예상 결과**
Staphylococcus aureus ATCC® 6538 *	성장 없음
Enterococcus faecalis ATCC® 29212*	성장 없음
* Culti-Loop®로 판매되고 있음	

주의사항 (Precautions)

배지의 과열은 피한다, 2 배 농도의 배지는 특히 주의한다.

참고문헌(Reference)

1. Mossel. D. A. A., Vissar M. and Cornellisen A. M. R. (1963) J. Appl. Bact. 26(3). 444-452.
2. Van Schothurst M., Mossel D. A. A., Kampelmacher E. H. and Drion E. F. (1966) Vet. Med. 13(3) 273-285.
3. Taylor W. I. (1961) Appl. Microbiol. 9. 487-490.
4. North W. R. (1961) Appl. Microbiol. 9. 188-195.
5. Mossel D. A. A. and Harrewijn G. A. (1972) Alimenta 11. 29-30.
6. Mossel D. A. A. and Ratto M. A. (1970) Appl. Microbiol. 20. 273-275.
7. Mossel D. A. A., Shennan Jean L. and Vega Clare (1973) J. Sci. Fd. Agric. 24. 499-508.
8. Mossel D. A. A. and Ratto M. A. (1973) J. Fd. Technol. 8. 97-103.
9. Mossel D. A. A., Harrewijn G. A. and Nesselrooy-van Zadelhoff C. F. M. (1974) Health Lab. Sci. 11. 260-267.
10. Richard N. (1982) in Quality Assurance and quality control of microbiological culture media. Ed. J.E.L. Corry. G.I.T. - Verlag Darmstadt. pp 51-57.
11. Mossel D. A. A. (1973) Food R. A. Technical Circular no 526, February 1973.