

GC Agar Base

관련제품

| 제품번호 | 제품명 | 구성 |
|---------|--------------|----------|
| CM0367B | GC Agar Base | 500 gram |
| CM0367T | GC Agar Base | 5.0kg |

사용목적(Use)

*Neisseria spp.*의 분리를 위한 배지.

조성(Typical Formulation)

| 성분* | gm/litre |
|--------------------------------|----------|
| Special peptone | 15.0 |
| Corn starch | 1.0 |
| Sodium chloride | 5.0 |
| Dipotassium hydrogen phosphate | 4.0 |
| Potassium dihydrogen phosphate | 1.0 |
| Agar | 10.0 |
| pH 7.2 ± 0.2 @ 25°C | |
| *성능표준을 위해 조절될 수 있음 | |

설명(Description)

옥소이드사의 GC Agar Base는 육류 및 식물 효소 분해물의 혼합으로 이루어진 Special Peptone (LP0072)이 포함된 조성이다. 녹말이 첨가되어 *neisseria*에 의해 생성된 독성 대사산물이 흡수된다. 인산 완충성분이 포함되어 그 미생물의 생존에 영향을 주는 아민(amine) 생성으로 인한 pH 변화를 방지해준다.

Neisseria 분리 배지 및 사용법

1. 소개

임상 시료에서 병원성 *Neisserii*의 분리 및 동정에서 성공할 확률은 다음의 5 가지 요인과 관련있다:

- 1) 좋은 시료를 얻는 것, 실험실로 수송, 배지에 적절한 접종에서 취해진 정성
- 2) 표적 균주의 적은 접종량을 성장시킬 수 있는 배지의 제공
- 3) 최적의 배양 온도 및 기체 환경의 제공
- 4) 공생 미생물의 초과 성장을 막지만 원하는 종의 성장을 억제시키지 않는 선택제의 포함
- 5) 해당 종을 동정할 수 있는 확정 시험

2. 정확한 진단의 중요성

임질(gonorrhoea)의 진단은 현미경 시험과 감염 부위 시료의 배양으로 이루어 진다. 그러면 의심되는 임질 균은 유사한 모양과 염색 특성을 가지고 있는 *Neisseria* 균의 다른 미생물들과 구별된다.

3. 시료 채취 부위

진단은 여러 시료 채취 부위의 도말 표본과 배양물로 이루어진다. 여기에는 요도, 직장, 경부가 포함되며 때때로 바톨린 샘의 관도 포함된다. 구인두(oropharynx)가 필요할 때도 있다^{1,2}. 진단이 완료되기 전에 반복된 검사가 필요할 수도 있다. 사용되는 Calcium alginate 또는 면봉 스왑은 세균학적 목적으로 낮은 독성이어야 한다.

수막 균 감염에서 처럼, 임질은 발진, 열, 관절염을 동반한 패혈증을 보일 수도 있고 원인균은 혈액, 관절, (드물게는)뇌척수액에서 분리될

수 있다. 안구 감염이 신생아에서 일어날 수 있고 간혹 성인에게서도 일어난다.

4. 접종

배양 스왑으로 평판을 접종하거나 큰 'Z'패턴으로 접종이 선호될 수도 있다. 멸균 접종 루프로 스트리킹하여 미생물들을 적절히 퍼지도록 해준다.

5. 배지

임질 구균의 배양에 사용되는 배지는 신선한 말 혈액(용혈)이나 수용성 헤모글로빈 과 GC 성장 첨가제가 든 고함량의 펩톤 및 녹말로 구성된 한천배지이다. GC 성장 첨가제는 Yeast Autolysate Supplement(SR0105)와 Vitox (SR0090)이 있고 적은 접종량으로 성장을 촉진시키는 것으로 보고되었다. 그람-음성 및 그람-양성의 오염균들을 억제하기위해 배지에 첨가될 수 있는 선택적 항생제(VCNT, VCN, LCAT, VCAT)의 조합이 몇 가지 있다. 첨가제는 해당 미생물의 지역적 및 균주 차이는 물론 실험실에서의 선호도에 따라 선택된다.

| Medium | | Constituents | | |
|--|-------------------------------------|--|-------------------------------------|--|
| | | Soluble Haemoglobin or Blood | Growth Supplement | Selective Supplement |
| Thayer Martin Medium (non-selective) | Oxoid GC Agar Base CM0367 | Soluble Haemoglobin LP0053 | Vitox SR0090 | - |
| Thayer Martin Medium | Oxoid GC Agar Base CM0367 | Soluble Haemoglobin LP0053 | Vitox SR0090 | VCN Antibiotic Supplement SR0101 |
| Thayer Martin Medium(modified) with Vitox | Oxoid GC Agar Base CM0367 | Soluble Haemoglobin LP0053 | Vitox SR0090 | VCNT Antibiotic Supplement SR0091 |
| Thayer Martin Medium(modified) with Yeast Fractions | Oxoid GC Agar Base CM0367 | Soluble Haemoglobin LP0053 | GC Supplement SR56* | GC Supplement SR56* |
| 'Transgrow' Medium | Oxoid GC Agar Base CM0367 + 1% Agar | Soluble Haemoglobin LP0053 Supplement SR56* | Vitox SR0090 or GC Supplement SR56* | VCN SR0101 or VCNT SR0091 or GC Supplement SR56* |
| GC Medium derived from the New York City formulation | Oxoid GC Agar Base CM0367 | Lysed Defibrinated horse blood or Laked horse blood SR0048 | Yeast Autolysate Supplement SR0105 | LCAT Antibiotic Supp. SR0095 or VCAT Antibiotic Supp. SR0104 |

조제 (Directions)

Thayer Martin Medium with GC Supplement

- 235ml의 정제수에 18g의 GC Agar Base를 현탁하고 끓여서 완전히 녹인다. 121°C에서 15분간 오토클레이브로 멸균한다.
- 5g의 haemoglobin 분말(LP0053)에 250ml의 정제수를 첨가하여 2% 용액을 만든다. 물을 첨가하는 동안 용액을 계속 교반해준다. 121°C에서 15분간 오토클레이브로 멸균한다.
- 15ml 정제수에 1 바이알의 무균 GC Supplement SR56*을 녹인다.
- GC Supplement 용액 SR56*을 50°C로 식힌 235ml의 GC Agar Base에 무균적으로 첨가하고 잘 혼합한다. 50°C로 식힌 250ml의 haemoglobin 용액을 GC Agar Base + SR56* supplement에 첨가한다. 거품이 생기지 않게 잘 혼합하고 멸균 페트리 접시에 붓는다.

Thayer Martin Medium with Vitox and either VCN or VCNT Antibiotic Supplement

- 240ml의 정제수에 18g의 GC Agar Base를 현탁하고 끓여서 완전히 녹인다. 121°C에서 15분간 오토클레이브로 멸균한다.
- 5g의 haemoglobin 분말(LP0053)에 250ml의 정제수를 첨가하여 2% 용액을 만든다. 물을 첨가하는 동안 용액을 계속 교반해준다. 121°C에서 15분간 오토클레이브로 멸균한다.
- 제품설명서에 따라 1 바이알의 Vitox(SR0090)을 녹인다.
- 제품설명서에 따라 1 바이알의 VCN Antibiotic Supplement(SR0101) 또는 VCNT Antibiotic Supplement(SR0091)을 녹인다.
- Vitox 용액을 50°C로 식힌 240ml의 GC Agar Base에 무균적으로 첨가한다.
- 재구성한 VCN 또는 VCNT를 GC Agar Base + Vitox에 무균적으로 첨가한다.
- 50°C로 식힌 250ml의 Haemoglobin 용액을 GC Agar Base+Vitox+Antibiotic에 무균적으로 첨가한다. 공기 방울이 생기지 않게 잘 혼합한 후 멸균 페트리 접시에 붓는다.

'Transgrow' Medium

이 배지는 Thayer Martin Medium 변형 배지들에 기술된 방법으로 조제한다. 단, 한 가지 예외는 GC Agar Base 18g 당 5g의 Agar를 추가해야 한다. 조제된 배지는 유리병에 사면배지 형태로 준비된다. 필요한 여분의 glucose는 첨가제 형태로 제공된다.

GC Medium derived from the New York City Formulation with LCAT or VCAT antibiotic supplement

- 425ml의 정제수에 18g을 현탁하고 끓여서 완전히 녹인다. 121°C에서 15분간 오토클레이브로 멸균한다.
- 1 바이알의 Yeast Autolysate Supplement(SR0105)를 15ml 정제수에 녹인다.
- LCAT(SR0095) 또는 VCAT(SR0104)을 10ml의 정제수에 녹인다.
- 50°C로 식힌 GC Agar Base에 50ml의 laked horse blood (SR0048), 재구성한 Yeast Autolysate Supplement, 재구성한 Antibiotic Supplement (LCAT 또는 VCAT)를 무균적으로 첨가한다. 거품 또는 공기방울이 생기지 않게 잘 혼합한 후 멸균 페트리접시에 붓는다.

본 조성은 Young의 논문¹⁴에 기반한 NYC Medium^{11,12,13}의 변형이다. 여기에는 창안자가 권고한 더 높은 농도의 glucose는 당 발효 시험이 수행될 수 있을 정도로 감소되었다.

사용(Technique)

- 지시사항에 따라 배지를 조제하고 평판을 준비한다.
- 평판에 배양체 면봉을 발라서 접종한다. 또는 평판이 적절한 부위가 접촉되게 큰 "Z" 형태가 선호될 수 있다. 미생물의 적절한 퍼짐을 위해 멸균 루프로 평판을 스트리킹할 수도 있다.
- 적절한 장치를 사용하여 37°C, 최소 70% 습도, 5~10%이산화탄소 조건의 밀봉된 용기에서 배양한다.
- 배양 24시간 후에 평판을 관찰하고, 음성일 경우 추가로 24시간 더 배양한다.
- 임질 구균으로 의심되는 집락을 그람 염색, oxidase 시험, 당 발효 반응으로 동정한다.

결과 해석

그람 음성 구균, 긴축을 나란히 쌍으로 배열됨.

Oxidase 양성

Neisseria 균의 발효 반응 (+: 산생성, ±: 서로 다른 형태내에서 반응이 다양함)

| | Glucose | Maltose | Lactose | Sucrose |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|---------|
| <i>N. meningitidis</i> | + | + | - | - |
| <i>N. gonorrhoeae</i> | + | - | - | - |
| <i>Bran. catarrhalis</i> | - | - | - | - |
| <i>N. flava</i> and related types | + | ± | - | ± |

Neisseria 종들의 성장 및 동정을 위한 Oxoid 사 제품

| 품명 | 품번 |
|--------------------------|--------|
| GC Agar Base | CM0367 |
| VCN Selective Supplement | SR0101 |
| Agar No.2 | LP0012 |

| | |
|---|--------|
| VCNT Selective Supplement | SR0091 |
| Soluble Haemoglobin Powder | LP0053 |
| LCAT Selective Supplement | SR0095 |
| Sterile Yeast Autolysate Supplement | SR0105 |
| VCAT Selective Supplement | SR0104 |
| Vitox | SR0090 |
| GC Supplement (Yeast Fractions plus VCNT Antibiotics) | SR56* |
| Defibrinated Horse Blood | SR0050 |
| Laked Horse Blood | SR0048 |
| * SR56 은 현재 단종제품이며, SR0091 과 SR0105 의 조합으로 대체될 수 있다. | |

저장 조건 및 유효기간(Storage conditions and Shelf life)

분말배지 : 원래 용기에 완전히 밀봉하여 30°C 이하에서 보관. 라벨에 표시된 유효기한 전 까지 사용
조제배지 : 2-8°C 보관.

성상 (Appearance)

분말배지 : 밝은 짙색의 유동성 분말
조제배지(첨가제 첨가 전) : 짙색의 젤

품질관리(Quality Control)

| 양성대조군 | 예상 결과 |
|---|------------------|
| 항생제 포함 | |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC® 19424 * | 좋은 성장; 회색-갈색의 집락 |
| <i>Neisseria meningitidis</i> ATCC® 13090 * | 좋은 성장; 회색-갈색의 집락 |
| 음성대조군 | 예상 결과 |
| 항생제 포함 | |
| <i>Proteus hauseri</i> ATCC® 13315 * | 억제됨 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923 * | 억제됨 |
| 항생제 없음 | |
| 무접종 배지 | 변화 없음 |

주의사항 (Precautions)

- 검체 수집을 위해서 Dacron® 또는 calcium alginate swab 을 사용하고, 면봉은 피한다.
- *Neisseria* 가 포함된 것으로 의심되는 모든 시료는 수집 즉시 1 차 분리 배지에 접종해야 한다. 이것이 불가능하다면 *N. gonorrhoeae* 스왑을 3 시간 이하 동안 4°C 에서 보관하는 것이 최선이다. *N. meningitidis* swab 은 차갑게 하지 말아야 하며 미리 가온한 배지에 접종해야 한다.
- GC 배지에 접종할 때 항생제가 포함된 배지와 포함되지 않은 배지에 나란히 접종하는 것이 좋은 선택일 수 있다. 일부 *neisseriae* 균주들은 항생제, 특히 vancomycin 이 존재할 때 성장에 실패할 수 도 있기 때문이다¹⁶.
- 습도는 임질 구균을 성공적으로 분리하는데 필수적이다. 조제된 평판이 건조해 보이면 표면에 몇 방울의 멸균된 액체배지를 떨어 뜨려 한천에 잘 흡수시킨 후 접종한다. 과도하게 액체배지를 사용하지 마라. 배양에 앞서 CO₂ 용기에 젖은 거즈나 종이 타올을 놓아 둔다.
- Hosty 등¹⁷에 의하면 보통의 수송 배지는 *N. gonorrhoea*의 경우 완전히 신뢰할 수 없다. 병에 든 사면 배지의 표면 위에 검체를 접종하는 것이 선호된다. 배양기 온도는 35°C 로 설정되어야 한다. *N. gonorrhoea*의 많은 균주들은 37°C 에서 잘 자라지 않는다¹⁸.
- 한천은 *N. gonorrhoea*에 대한 독성면에서 아주 다양하며 고체 배지에서 임질 구균의 성장을 저해하는 주요 요인 인 것으로 보고되었다¹⁹.
- 그람 모양, 집락 특성, oxidase 시험이 *Neisseria* 속에 대한 추정적 동정을 구성한다. 모든 추정적 시험결과는 탄수화물 발효 시험

그리고 형광 항체 또는 기타 혈청학적 시험으로 확정되어야 한다²⁰.

- ONPG 시험으로 lactose 를 활용하는 neisseriae 균주, 예를 들면 *N. lactamica* 를 검출할 수 있다²¹.

참고문헌(Reference)

- 1 Willcox R. R. (1979) Euro Reports and Studies, 12, World Health Organization, Regional Office for Europe, Copenhagen.
- 2 'Neisseria gonorrhoeae and gonococcus infections' (1978) Report of a WHO Group, Technical Report Series 616, World Health Organization, Geneva.
- 3 Thayer J. D. and Martin J. E. (1966) Public Health Rep., 81. 6. 559-562.
- 4 Seth A. (1970) Brit. J. Vener. Dis. 46. 201-202.
- 5 Riddel R. H. and Buck A. C. (1970) J. Clin. Path. 23. 481-483.
- 6 Odegaard K. (1971) Acta Path. Microbiol. Scand., Sect. B. 79. 545-548.
- 7 Martin J. E. and Lester A. (1971) HSMHA Health Reports. 86. No.1 30-33.
- 8 Young H. (1978) Brit. J. Vener. Dis. 54. 36-40.
- 9 Reyn A. and Bentzon M. W. (1972) Brit. J. Vener. Dis. 48. 363-368.
- 10 Mirrett S., Reller L. B. and Knapp J. S. (1981) J. Clin. Microbiol. 14. 94-99.
- 11 Faur Y. C., Wiesburd M. H., Wilson M. E. and May P. S. (1973) Health Lab. Sci. 10. 44-54.
- 12 Faur Y. C., Weisburd M. H. and Wilson M. E. (1973) Health Lab. Sci. 10. 55-60.
- 13 Faur Y. C., Weisburd M. H. and Wilson M. E. (1977) Health Lab. Sci. 15. 22-27.
- 14 Young H. (1978) Brit. J. Ven. Diseases 54. 36-40.
- 15 Young H. (1978) J. Clin. Microbiol. 7. 247-250.
- 16 Faur Y. C., Weisburd M. H. and Wilson M. E. (1978) Health Lab. Sci. 15. 22-26.
- 17 Hosty T., Freear M., Baker C. and Holston J. (1974) Amer. J. Clin. Path. 62. 435-438.
- 18 Finegold S. M. and Martin W. J. (1982) Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology 6th Edn. C. V. Mosby & Co. St. Louis. p. 107.
- 19 Jones R. T. and Talley R. S. (1977) J. Clin. Microbiol. 5. 9-13.
- 20 CDC (1975) 'General information to aid in handling Neisseria gonorrhoea specimens in the laboratory' US DHEW Center for Disease Control. Atlanta. Ga.
- 21 Hollis D. G., Wiggins G. T. and Weaver R. E. (1969) Appl. Microbiol. 17. 71-77.