

Violet Red Bile Glucose Agar

관련제품

제품번호	제품명	구성
CM0485B	Violet Red Bile Glucose Agar	500 gram

사용목적(Use)

식품에서 장내세균군의 검출 및 계수를 위한 글루코스 함유 선택배지.

조성(Typical Formulation)

성분*	gm/litre
Yeast extract	3.0
Peptone	7.0
Sodium chloride	5.0
Bile Salts No.3	1.5
Glucose	10.0
Neutral red	0.03
Crystal violet	0.002
Agar	12.0
pH 7.4 ± 0.2 @ 25°C	
*성능표준을 위해 조절될 수 있음	

조제 (Directions)

1 리터의 정제수에 38.5g 을 현탁하고 끓인다. 끓은 후 2 분간 또는 완전히 녹는데 필요한 시간까지 끓인다. 완전히 녹인다. 녹지 않은 agar 의 작은 덩어리가 없도록 한다. 추가적인 멸균이 필요없다. 잘 혼합 후 시험관이나 페트리접시에 분주한다.

설명(Description)

분변 오염의 가능한 지표로서 대장균(*coli-aerogenes*)을 검출하기 위해 물에 적용하였던 시험의 결과는 날 식품(raw food)에 적용했을 때 중요성이 아주 덜하다. 식품 시험에서, 더 정의된 생물군이면서 glucose 를 발효시켜 산 그리고/또는 기체를 생성하는 Enterobacteriaceae 의 검출이 권장된다^{1,2}. 대장균군에 추가하여 이 그룹에는 lactose 를 발효하지 못하는 salmonellae 및 shigellae, 그리고 장독소생성 *Escherichia coli* 가 포함된다. 또한 Klebsiella 및 Citrobacter 도 포함되며 이들은 대장균군보다 더 열에 저항적이며 따라서 최소의 열을 사용하는 공정의 실패를 잘 나타내는 지표생물이다.

식품의 총 Enterobacteriaceae 함량을 측정하기 어려운 점이 Mossel 등³에 의해 연구되었다. 이 연구자들에 의하면 대장균군을 검출하는 기존의 배지에 glucose 를 첨가하면 성능이 향상된다는 것이 보고되었다. 그들은 Crystal violet neutral red bile lactose agar

(Violet Red Bile Agar, CM0107)에 리터당 10g 의 glucose 를 첨가하고 MacConkey Glucose Agar 의 변형 조성으로 이름 지었다.

Mossel 등^{4,5}에 의한 추가연구에서 lactose 가 생략되어 최종적으로 Violet Red Bile Glucose Agar 의 조성이 되었다. Lactose 를 계속 포함시키는 것이 더 정확한 동정을 이끄는 시험 결과를 제공하지 못했다. Lactose 를 배제하여 배지가 더 경제적으로 되어 리터당 사용되는 양도 감소되었다.

Bile salts 를 포함하는 배지는 Enterobacteriaceae 에, 스트레스 상황에서 있지 않은 세포에 대해서도, 고유 독성을 가지고 있다^{6,7,8,9,10,11}. Enterobacteriaceae 의 생산성 관점 및 대사 강도면에서¹², Violet Red Bile Agar 의 6 개 상용 제품들내에서^{4,5} 상당한 차이가 관찰되었다. 옥소이드와 함께 그 배지의 구성요소들이 시험되었고 Mossel 은 다음의 규격을 작성하였다:

1. 승인된 배지는 투명해야 하며 만족스런 크기의 집락이 나타나야 한다. Enterobacteriaceae 의 전형적인 집락의 수가 재현되어야 한다.
2. *Yersinia enterocolitica* (Serotype O3)의 균주를 민감성 지표생물로 사용하여 혐기성 대사 시험에 의한 고유 독성을 시험했을 때, 배지는 적절한 성장, 산 생성, 그리고 필요시 적절한 기체 생성을 촉진해야 한다.
3. 배지는 전형적인 집락의 확정율 (즉, Enterobacteriaceae 로 확정된 집락의 수를 시험 결과로 나온 집락의 수로 나눈 것)을 만족해야 한다.

Violet Red Bile Glucose Agar 는 이 모든 기준을 만족시키도록 개발되었다.

VRBGA (CM0485)은 ISO11133:2014 와 상응한다¹⁵.

사용(Technique)

일련의 검체 희석액을 준비하여 최소한 1 개가 1ml 분주액으로부터 100~200개 집락을 형성할 수 있도록 포함시켜야 한다. 각 희석액에서 1ml 을 취하여 희석당 2 개의 9cm 페트리접시에 넣는다. 47°C 로 식힌 15ml 의 배지를 첨가하고 시계방향으로 3 회 반시계방향으로 3 회 가볍게 돌린다. 배지가 응고되면 같은 배지 10ml 을 붓고 응고되게 한다(한천 오버레이). 페트리접시를 거꾸로 하여 회복시켜야 할 Enterobacteriaceae 그룹에 따라서 >42°C 에서 18 시간동안, 32°C 에서 24~48 시간 동안 또는 4°C 에서 10 일간 배양한다.

한천 오버레이는 비 발효성 그람 음성 세균의 성장을 억제하는 혐기성 조건을 만들어 주며, bile 침전의 보라색-분홍색 환에 의해 둘러싸인, 선명한 보라색 집락의 형성을 좋게 해주는 glucose 의 발효를 촉진시킨다.

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. 가능하면 신선하게 조제해서 사용.

성상 (Appearance)

분말배지 : 짙색-분홍색의 유동성 분말

조제배지 : 보라색 젤

집락 성상 (Characteristic appearance of colonies)

둥근, 보라색-분홍색의 직경 1-2mm 집락. 보라색 환을 둘러싸임.
집락 크기는 일반적으로 1-2mm 이지만 크기는 여러 요소에 영향을 받을 수 있다. 모든 보라색-분홍색 집락을 계수해야한다. 추가 시험을 통해 이런 집락들을 확정적으로 동정해야 한다.

품질관리(Quality Control)

양성대조균	예상 결과
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 * WDCM 00013	좋은 성장; 환이 있는 보라색/분홍색 집락
음성대조균	예상 결과
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	성장 없음
* Culti-Loop®로 판매되고 있음	

주의사항(Precautions)

본 배지는 Enterobacteriaceae 에 대해서 완전히 특이적인 것이 아니다, 다른 미생물들, 예를 들면 *Aeromonas* 도 자랄 수 있다. 이 배지의 선택적 활성은 24 시간 배양 후에 감소되고 이전에 억제되었던 미생물들이 성장할 수 도 있다. 붓기 평판법을 사용하는 배지는 신중하게 만들어서 47°C 까지 식힌 후 3 시간 이내로 사용한다.

참고문헌(Reference)

1. WHO Technical Report Series N.598 (1976) Geneva, p.51.
2. Mossel D. A. A. (1958) Zbl. Bakt. I. Ref. 166. 421-432.
3. Mossel D. A. A., Mengerink W. H. J. and Scholts H. H. (1962) J. Bacteriol. 84. 381.
4. Mossel D. A. A., Eelderink I., Koopmans M. and van Rossem F. (1978) Lab. Practice 27. No.12. 1049-1050.
5. Mossel D. A. A., Eelderink I., Koopmans M. and van Rossem F. (1979) J. Food Protect. 42. 470-475.
6. Mossel D. A. A. (1978) Food Technol. Austral. 30. 212-219.
7. Kroninger D. L. and Banwart G. J. (1978) J. Food Sci. 43. 1328-1329.
8. Bridson E. Y. (1978-79) in 'Van Monster tot Resultaat' Nederland Society for Microbiology. Wageningen, pp. 58-67.
9. Burman N. P. (1955) Proc. Soc. Water Treatm. Exam. 4. 10-20.
10. Mossel D. A. A. and Harrewijn G. A. (1972) Alimenta 11. 29-30.
11. Mossel D. A. A., Harrewijn G. A. and Nesselrooy-van Zadelhoff C. F. M. (1974) Health Labor. Sci. 11. 260-267.
12. Mossel D. A. A. (1971) Miscell. Papers Agricult. University Wageningen, The Netherlands 9. 29-39.
13. Mossel D. A. A., Eelderink I. and Sutherland J. P. (1977) Zbl. Bakt. I. Orig. A238. 66-79.
14. Mossel D. A. A., van der Zee H., Hardon A. P. and van Netten P. (1986) J. Appl. Bacteriol. 60. 289-295.
15. ISO 11133:2014 Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media