

Minerals Modified Medium Base

관련제품

제품번호	제품명	구성
CM0607G	Minerals Modified Medium Base + Sodium Glutamate	500g + 300g

사용목적(Use)

식품 검체에서 *Campylobacter*의 선택적 전-증균(pre-enrichment)을 위한 배지

조성(Typical Formulation)

성분* (2 배농도)	gm/litre
Lactose	20.0
Sodium formate	0.5
L-cystine	0.04
L(-)aspartic acid	0.048
L(+)arginine	0.04
Thiamine	0.002
Nicotinic acid	0.002
Pantothenic acid	0.002
Magnesium sulphate 7H ₂ O	0.200
Ferric ammonium citrate	0.020
Calcium chloride 2H ₂ O	0.020
Dipotassium hydrogen phosphate	1.80
Bromocresol purple	0.020
pH 6.7 ± 0.1 @ 25°C	
*성능표준을 위해 조절될 수 있음	

조제 (Directions)

건조 배지의 안정성을 위해서 sodium glutamate는 별도 용기로 공급되며 사용시 첨가해준다.

2 배 강도 조제:

1 리터의 정제수에 5.0g의 ammonium chloride(별도 구매)를 녹인다. 여기에 22.7g의 Minerals Modified Medium Base와 12.7g의 Sodium glutamate를 첨가하고 혼합하여 완전히 녹인다. 116°C에서 10분간 오토클레이브하여 멸균한다; 또는 3일 연속으로 100°C에서 30분간 열을 가한다.

1 배 강도 조제:

1 리터의 정제수에 2.5g의 ammonium chloride(별도 구매)를 녹인다. 여기에 11.4g의 Minerals Modified Medium Base와 6.4g의 Sodium glutamate를 첨가하고 혼합하여 완전히 녹인다. 116°C에서 10분간 오토클레이브하여 멸균한다; 또는 3일 연속으로 100°C에서 30분간 열을 가한다.

최종 배지의 pH는 최적 성능을 위해서 중요하므로 멸균 후 사용전에 pH6.7인지 확인해야 한다.

가열 공정에서의 차이로 인해 최종 pH 값에서 차이가 초래된다. 필요하다면 가열 공정을 조절하여 멸균 후에 최종 pH가 6.7이 되도록 해야 한다¹.

설명(Description)

Glutamic acid에 기반하는 화학적으로 정의된 배지는 물에서 세균의 대장균군 그룹의 계수에 대해서 Folpmers²에 의해 처음으로 주창되었다. Public Health Laboratory Service (PHLS)³의 시험결과 glucose를 포함하는 glutamic acid 배지는 48시간만에 너무 많은 위양성을 나타내었다. Gray⁴는 lactose를 포함하는 glutamate 배지를 변형하였고 나중에는 향상된 Formate Lactose Glutamate Medium에 대한 조성을 발표하였다⁵.

후자의 배지는 PHLS 가 수행한 다른 대규모 시험에 포함되었다. 이 시험에서 glutamate 배지를 Teepol Broth (Jameson & Emberly) 및 MacConkey Broth 와 비교하였다. 시험결과 Gray 의 향상된 formate lactose glutamate 배지는 기타 glutamate 배지보다 더 우수한 것으로 나타났다.

그 보고서는 배지의 무기물 함량에 대한 비판을 제기했으며 무기물의 양을 변경함으로써 개선 될 수 있음이 고려되었다

Metropolitan Water Board Laboratories 와 Oxoid 간의 협동 조사에 의하면 Minerals Modified Glutamate Medium (CM0289)에 결론이 도달하였다.

옥소이드의 Minerals Modified Glutamate Medium 은 PHLS⁶의 추가 시험에 사용되었고 그 결과는 이전에 보고된 glutamate 배지의 우수한 성능을 확인시켜주었다.

MacConkey Broth 보다 우수한 Mineral Modified Glutamate Medium (MMGM)의 성능은 *Escherichia coli*의 검출이 향상된 것에 주로 기인한다. PHLS⁸로부터 인용한 표는 시험에서 얻어진 결과를 나타낸다.

염소처리한 물의 경우 glutamate medium 의 우수성을 증명하기 위해서 18 시간 이상의 배양시간이 필요하다.

배지 및 방법은 The Microbiology of Drinking Water 2002 에 기술되어 있다¹.

최근의 추가 시도에 의하면 MMGM 이 염소처리수, 특히 미생물의 수가 적은 것으로 생각되는 경우, 에서 *E. coli*를 검출하는데 선택될 수 있는 배지로 밝혀졌다.

비록 Lauryl Tryptose Lactose Broth(LTLB)가 더 빠른 결과를 나타내지만(MMGM 의 경우 48 시간이 소요되는 데 비해 이 배지는 18~24 시간만 소요), 기타 물에서 *E. coli*의 소량을 검출하는데 MMGM 이 LTLB 보다 더 좋은 것으로 알려졌다.

Papadakis¹⁰는 해수에서 *E. coli*의 분리를 연구하여 MMGM 이 MacConkey Broth 보다 더 좋다는 것을 발견하였다. 그러나 액체배지의 고 염 농도를 피하기 위해 10ml 의 1 배 강도 MMGM 에 1ml 의 해수만 사용할 것을 권장하였다. 더 많은 부피의 해수도 1/10 으로 MMGM 에 희석해야 한다.

사용(Technique)

다중 시험관 법, 희석법 또는 최확수법(MPN)을 사용한다. 막여과법과 다중 시험관법을 비교한 실험에 의하면 glutamate medium 은 물에서 대장균 미생물을 계수하는데 막을 사용하는 것이 만족스럽지 않았다¹¹.

좋은 수질의 물의 경우 배지는 1 개의 50ml 부피와 5 개의 10ml 부피로 접종되어야 한다. 조금 오염된 의심이 있는 물의 경우, 5 개의 1ml 부피가 50ml 및 10ml 부피에 추가되어 사용되어야 한다. 오염된 물의 경우 1ml 부피를 희석해야 하며 50ml 부피는 시험에 제외될 수 있다.

더 큰 부피의 물(10ml 및 50ml)은 동량의 2 배강도 배지를 사용하지만 1ml 부피 (또는 그 희석액)은 5ml 의 1 배강도 배지를 사용한다.

시험관을 35°C 에서 배양하고 18-24 시간 후에 평가한다. 산(노란색)과 Durham 튜브에서 기체를 보이는 모든 시험관을 추정 양성으로 간주해야 한다. 시험관을 탭핑하여 기체가 나타나는 것도 포함한다. 남은 시험관은 재배양하고 24 시간 후에 시험한다. 양성으로 간주되는 추가 배양 시험관은 추정 양성으로 간주한다.

각 추정 양성 시험관은 Brilliant Green Bile (2%) Broth (CM0031)에 계대배양하고 44°C 에서 24 시간동안 배양한다.

동시에 인돌생성 시험을 위해 1% Tryptone Water (CM0087) 시험관에 접종하여 44°C 에서 24 시간 배양한다.

44°C 에서 lactose 로부터 기체 생성과 44°C 에서 인돌 생성은 영국에서는 *E. coli*의 증거로 인정된다.

염소처리수 검체에서 추정 양성 시험관은 기체를 생성하는 호기성 또는 혐기성의 포자생성 생물로 인해 위양성 결과를 배제하기 위한 시험이 필요하다. Brilliant Green Bile (2%) Broth 에 계대배양을 실시하고 35°C 에서 48 시간동안 배양한다. 48 시간내 기체 생성은 대장균군이 존재한다는 충분한 증거로 사용될 수 있다. 이 시험관을 MacConkey Agar (CM0007)에 동시에 계대배양하면 집락 모양으로 추가 구분을 쉽게 할 수 있다.

다중 실험실 연구 결과 Lauryl Tryptose Mannitol Broth 가 *E. coli* 의 단일 시험관 확정 시험에서 효율적이라는 것이 증명되었다¹².

미생물의 최확수는 HMSO Report 71 의 부록 C 의 표로부터 계산될 수 있다¹.

Comparison of Minerals Modified Glutamate Medium and MacConkey Broth by Number of Positive Tubes									
	False positive reactions			Coliform organisms			<i>Escherichia coli</i>		
	18hr	24h	48h	18hr	24h	48h	18hr	24h	48h
<i>Unchlorinated samples</i> MacConkey Broth	17	37	100	625	806	1060	467	528	582
Minerals Modified Glutamate Medium	2	20	97	557	858	1175	503	707	764
<i>Chlorinated samples</i> MacConkey Broth	4	19	49	125	216	315	77	121	128

Minerals Modified Glutamate Medium	0	1	37	59	223	395	39	144	203
---------------------------------------	---	---	----	----	-----	-----	----	-----	-----

식품에서 *Escherichia coli*를 계수하기 위한 변형 직접 평판법

식품에서 *Escherichia coli*의 신속 계수를 위한 직접 평판법(DPM)이 보고되었다¹³. 이 방법은 Minerals Modified Glutamate Agar를 이용하는 회복 방법에 의해 변형되었다¹⁴. 이 변형법에서 리터당 15g의 한천이 Minerals Modified Glutamate Broth CM0607에 첨가된다. 이 회복방법을 이용하여 저자들은 냉동, 건조, 열처리, 또는 낮은 pH의 식품들에서 손상된 세포들을 회수할 수 있었다.

Abbiss 등¹⁵은 부드러운 치즈, 조리된 고기 및 머리에 존재하는 대장균군 미생물의 계수에서 Minerals Modified Glutamate Medium과 기타 3종의 증균 액체배지의 성능을 비교하였다. MMGM이 민감도 면에서 Lauryl Sulphate Tryptose Broth, MacConkey Broth, Brilliant Green Bile Broth보다 우수하였다.

저장 조건 및 유효기간(Storage conditions and Shelf life)

분말배지: 10-30°C에서 보관. 라벨에 표시된 유효기한 전까지 사용.

조제배지: 2-8°C에 보관

성상 (Appearance)

분말배지 : 연보라색의 유동성 분말

조제배지 : 보라색의 용액

품질관리(Quality Control)

양성대조군	예상 결과
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 *	탁한 성장; 산 및 기체 생성
음성대조군	예상 결과
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC® 14028 *	탁한 성장; 산 또는 기체 생성이 없음
* Culti-Loop®로 판매되고 있음	

주의사항(Precautions)

추정 양성 시험관은 Lauryl Tryptose Mannitol Broth CM0831에 계대하고 44°C에서 배양해서 이 온도에서 인돌생성이 검출된 후에 *Escherichia coli*의 동정이 완료될 수 있다.

참고문헌(Reference)

- The Environment Agency (2002) The Microbiology of Drinking Water 2002. Methods for the Examination of Waters and associated Materials.
- Folpmer T. (1948) Ant. v. Leeuwenhoek, J. Microbiol. Serol. 14. 58-64.
- PHLS Water Sub-Committee (1958) J. Hyg. Camb. 56. 377-388.
- Gray R. D. (1959) J. Hyg. Camb. 57. 249-265.
- Gray R. D. (1964) J. Hyg. Camb. 62. 495-508.
- PHLS Standing Committee on Bacteriological Examination of Water Supplies (1968) J. Hyg. Camb. 66. 67-82.
- Jameson J. E. and Emberly N. W. (1956) J. Gen. Microbiol. 15. 198-204.
- PHLS Standing Committee on the Bacteriological Examination of Water Supplies (1969) J. Hyg. Camb. 67. 367-374.
- Joint Committee of the PHLS and Standing Committee of Analysts (1980) J. Hyg. Camb. 85. 35-48.
- Papadakis J.A. (1982) 6th Workshop on Marine Pollution of the Mediterranean, Cannes.
- PHLS Standing Committee on the Bacteriological Examination of Water Supplies (1972) J. Hyg. Camb. 70. 691-705.
- Joint Committee of the PHLS and Standing Committee of Analysts (1980) J. Hyg. Camb. 15. 51-57.
- Anderson J. M. and Baird-Parker A. C. (1975) J. Appl. Bact. 39. 111-117.
- Holbrook R., Anderson J. M. and Baird-Parker A. C. (1980) Food Technology in Australia, 32. 78-83.
- Abbiss J. S., Wilson J. M., Blood R. M. and Jarvis B. (1981) J. Appl. Bact. 51. 121-127.