

Listeria Enrichment Broth Base (UVM formulation)

관련제품

제품번호	제품명	구성
CM0863B	Listeria Enrichment Broth Base (UVM formulation)	500 gram

사용목적(Use)

USDA-FSIS 법을 위한 리스테리아의 2 단계 선택 증균 배지

조성(Typical Formulation)

성분*	gm/litre
Proteose peptone	5.0
Tryptone	5.0
`Lab-Lemco' powder	5.0
Yeast extract	5.0
Sodium chloride	20.0
Disodium hydrogen phosphate	12.0
Potassium dihydrogen phosphate	1.35
Aesculin	1.0
pH 7.4 ± 0.2 @ 25°C	
*성능표준을 위해 조절될 수 있음	

조제 (Directions)

Listeria Primary Selective Enrichment Supplement (UVM I)(SR0142)

을 첨가할 경우:

Vial contents (each vial is sufficient for 500ml of medium)	per vial	per litre
Nalidixic acid	10.0mg	20.0mg
Acriflavine hydrochloride	6.0mg	12.0mg

27.2g 의 CM0863 을 500ml 정제수에 현탁하고 121°C 에서 15 분간 오토클레이브로 멸균한다. 50°C 로 식힌 후, 설명서에 따라 재구성한 1 바이알의 SR0142 를 무균적으로 첨가한다. 잘 혼합 후 멸균된 용기에 분주한다.

Listeria Secondary Selective Enrichment Supplement (UVM II) (SR0143)을 첨가할 경우:

Vial contents (each vial is sufficient for 500ml of medium)	per vial	per litre
Nalidixic acid	10.0mg	20.0mg
Acriflavine hydrochloride	12.5mg	25.0mg

27.2g 의 CM0863 을 500ml 정제수에 현탁하고 121°C 에서 15 분간 오토클레이브로 멸균한다. 50°C 로 식힌 후, 설명서에 따라 재구성한 1 바이알의 SR0143 을 무균적으로 첨가한다. 잘 혼합 후 멸균된 용

기에 분주한다.

설명(Description)

Listeria Selective Enrichment Medium(UVM formulations)은 Donnelly 및 Baigent¹ 가 기술한 원래 조성과 1 차 선택증균배지 및 2 차 선택 증균배지에서 nalidixic acid 농도를 감소시키고 2 차 선택증균배지에서 acriflavine hydrochloride 농도를 증가시킨 변경 조성² 에 기반한다.

이러한 변경 조성 및 2 단계 선택 증균법의 개발로 인해 육류 제품에서 *Listeria monocytogenes* 의 검출률 증가와 실험시간이 3~4 일만 걸리는 장점이 실현되었다.

UVM Broth 는 열 손상을 받은 *Listeria monocytogenes* 의 회복을 위한 1 차 증균 액체배지로 권장되고있다³.

DNA 탐침법에 UVM Broth 를 사용할 때는 주의가 필요하다. 이 배지의 높은 염농도로 인해 검출에 억제효과가 나타날 수 있기 때문이다⁴.

사용(Technique)

1 차 증균(Primary Enrichment)

- 225ml 의 Listeria Primary Selective Enrichment 배지(UVM I)에 25g 또는 25ml 의 검체를 첨가한다.
- 30°C 에서 Stomacher bag 에 준비된 검체를 배양한다.
- 이 bag 으로부터 다음의 과정을 수행한다: 4 시간 배양 후에, Listeria Selective Agar 평판(참조 1)에 0.2ml 을 스프레딩한다. 24 시간 배양 후에,
 - 10ml 의 Listeria Secondary Enrichment Medium (UVM II) 에 0.1ml 을 옮기고
 - 4.5ml 의 KOH 용액(참조 2)에 1ml 을 옮긴다. 볼텍스 혼합을 한 뒤 1 분내로 Listeria Selective Agar 평판에 이 혼합물을 계대배양한다..

2 차 증균 (Secondary Enrichment)

- 접종된 Listeria Secondary Selective Enrichment Broth (UVM II)를 30°C 에서 배양한다. 3(i)를 참조.
- 24 시간 배양한 후,
 - Listeria Selective Agar 평판에 0.2ml 을 스프레딩한다.
 - 4.5ml KOH 용액(참조 2)에 1ml 을 옮긴다. 볼텍스 혼합을 한 뒤 1 분 내로 Listeria Selective Agar 평판에 이 혼합물을 계대배양한다.

참조 1 : USDA 법² 에서 권장하는 Listeria Selective Agar 는 LPM plating medium³ 이다. 하지만 Oxoid 실험실 연구⁵ 에 의하면 유사한 결과가 Listeria Selective Medium(Oxford formulation) (CM0856+SR0140)으로 가능한 것으로 나타났다. 갱신된 USDA 법⁶ 에 의하면, LPM medium 이 Modified Oxford Medium(MOX)으로 대체되었다. 평판에 plating 하기 전에, 증균된 배양액을 Potassium hydroxide(KOH)로 처리해야할 필요성이 더 이상 없어졌다.

참조 2 : KOH 용액 조제 : 2.5g 의 KOH 및 20g 의 NaCl 을 1 리터의

정제수에 녹인다. 121°C 에서 오토클레이브하여 멸균한다. 사용 전에 pH 가 12 이상이어야 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 에서 차광하여 보관한다.

성상 (Appearance)

분말배지 : 짙색의 유동성 분말

조제배지 : 짙색의 용액

품질관리(Quality Control)

양성대조균	예상 결과
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC® 7644 *	탁한 성장
음성대조균	예상 결과
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212 *	억제됨
* Culti-Loop®로 판매되고 있음	

주의사항(Precautions)

액체 배양액은 평판상의 집락보다 더 위험하다.

조제된 배지는 차광하여 보관해야 한다. Acriflavine 이 광산화되어 Listeria 에 억제성 화합물을 형성할 수 있다.

Listeria Selective Medium(Oxford)(CM0856+SR0140)의 주의사항을 참조한다.

참고문헌(Reference)

1. Donnelly C.W. and Baigent G.J. (1986) Appl. Environ. Microbiol. 52. 689-695.
2. McClain D. and Lee W.H. (1988) Assoc. Off. Anal. Chem. 71. 660-664.
3. Bailey J.S., Fletcher D.L. and Cox N.A. (1990) J. Food Prot. 53. 473-477.
4. Partis L., Newton L., Marby J. and Wells R.J. (1994) Appl. Environ. Microbiol. 60. 1693-1694.
5. Sawhney D.R. and Dodds L. (1988) Internal project report. Oxoid R&D Laboratory.
6. McLain D. and Lee W.H. (1989) FSIS Method for the isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from processed meat and poultry products. Laboratory Communications number 57.