

Bolton Broth

관련제품

제품번호	제품명	구성
CM0983B	Bolton Selective Enrichment Broth	500 gram

사용목적(Use)

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

조성(Typical Formulation)

성분*	gm/litre
Meat peptone	10.0
Lactalbumin hydrolysate	5.0
Yeast Extract	5.0
Sodium chloride	5.0
Alpha-ketoglutaric acid	1.0
Sodium pyruvate	0.5
Sodium metabisulphite	0.5
Sodium carbonate	0.6
Haemin	0.01
pH 7.4 ± 0.2 @ 25°C	
*성능표준을 위해 조절될 수 있음	

조제 (Directions)

Bolton Broth Selective Supplement (SR0183)을 첨가:

Vial contents	SR0183E (for 500ml medium)	per litre
Cefoperazone	10.0mg	20.0mg
Vancomycin	10.0mg	20.0mg
Trimethoprim.	10.0mg	20.0mg
Cycloheximide	25.0mg	50.0mg

500ml 의 정제수에 13.8g 을 첨가하고 121°C 에서 15 분간 오토클레이브하여 멸균한다. 50°C 로 식힌 후, 25ml 의 Laked Horse Blood (SR0048)과 설명서에 따라 재구성한 1 바이알의 Bolton Broth Selective Supplement(SR0183)를 무균적으로 첨가한다. 잘 혼합 후 상단이 스크류 형태인 용기에 분주한다.

Modified Bolton Broth Selective Supplement (SR0208)을 첨가:

Vial contents	SR0208E (for 500ml medium)	per litre
Cefoperazone	10.0mg	20.0mg

Vancomycin	10.0mg	20.0mg
Trimethoprim.	10.0mg	20.0mg
Amphotericin B	5.0mg	10.0mg

인체에 유해한 cycloheximide 가 Amphotericin B 로 변경됨. 조제 및 사용 방법은 SR0183 과 동일함.

설명(Description)

Campylobacter 는 그람-음성, 나선 모양의 미호기성 미생물이며 원유, 미처리수, 부적합하게 취급된 식품, 그리고 덜 조리된 고기, 가금류 및 조개류에 존재한다. 이 미생물을 섭취하게 되면 일시적 무증상의 정착에서부터 심각한 이질에 까지 다양한 임상적 질병을 초래할 수 있다. 캄필로박터 장염의 증상에는 설사, 복통, 메스꺼움, 발열, 두통 및 근육통이 있다. *Campylobacter jejuni* 에 의한 감염의 합병증에는 복통, 반응성 관절염 또는 기니아-바레(Guillian-Barre) 증후군¹ 의 결과로 불필요한 충수 절제가 포함될 수 있다. *Campylobacter* 감염은 사람에서 세균성 위장염의 가장 일반적인 원인종 하나로 인식되며 최소 감염량은 500-800 cells 만큼 낮다¹.

사람 질병에서 *Campylobacter* 의 명백한 역할의 인식이 1977 년 Skirrow 에 의해 고조되었기 때문에², 많은 수의 배지들이 성능을 최적화하기 위한 요구에 부응하여 개발되었다. 식품가공 및 보존 기술이 *Campylobacter* 세포에 줄 수 있는 손상 효과를 극복하기 위해 검체를 시험할 때 증균 배지의 필요성에 대해서 초기 인식이 있었다. 증균 초기 단계에서 보다 낮은 배양 온도의 사용이 세포 회복에 도움을 주는 것으로 현재는 널리 확립되었다³. 이 원리는 Bolton 에 의해 이용되어 증균 액체 배지 개발로 이어졌다⁴.

Campylobacter 는 식품 처리 및 보존 방법에 의해 손상받을 수 있다³. 이로 인해 손상받지 않는 세포가 내성을 가지는 선택적 억제제에 손상받은 세포들이 민감하게 된다. Bolton Selective Enrichment Broth 같은 회복배지는 먼저 손상된 세포들을 복구하고 증식을 촉진 시켜서 배양 가능한 세포의 수를 증가시켜 위음성 결과를 피할 수 있다.

Bolton Selective Enrichment Broth 는 아사 상태로 손상받은 세포의 복구를 도와주는 영양분을 포함하며 미호기성 대기에 대한 필요성을 없애준다. 초기 배양은 시험할 식품의 형태에 따라서 30-37°C 에서 수행된다. 전-배양후에 배양 온도를 42°C 로 올려서 경쟁 미생물에 대한 선택 압력을 증가시킨다.

Sodium metabisulphite 및 sodium pyruvate 는 배지에서 생성될 수 있는 독성 화합물을 제거하고 배양물의 호기-내성을 증가시킨다. 첨가제에 포함된 항생제는 *Campylobacter* spp.에 대한 선택성을 최적화 한다: Vancomycin 은 그람-양성균에 대해 활성; Cefoperazone 은 그람-음성에 대해서 우세하게 활성; Trimethoprim 은 다양한 그람-음성 및 그람 양성 미생물에 활성; Cycloheximide 는 효모에 활성이다.

사용(Technique)

사용법 중 한 가지는 다음과 같다:

25g 의 식품검체를 225ml 의 Bolton Selective Enrichment Broth 에 넣고 Stomacher(또는 그 상당 장비)를 이용하여 혼합물을 균질화 한

다. 이 배지는 미호기성 환경에서 배양이 필요하지 않지만, 용기 상단에서 20mm 내로 내용물이 채워진 스크류 달린 용기를 사용해야 한다⁴. 37°C 에서 4 시간 동안 배양하고 42°C 에서 추가 배양한다. 24 시간 그리고 48 시간 후에 Modified CCDA (CM0739+SR0155) 또는 Preston Agar (CM0689+SR0117+SR0048)에 계대배양한다⁴. 기타 다른 방법에 대해서는 BAM 을 참조한다⁵.

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 최대 2 주간 보관가능.

성상 (Appearance)

분말배지 : 짙색의 유동성 분말

조제배지 : 작은 검정색 입자가 보이는 짙색의 용액

품질관리(Quality Control)

Modified CCDA 에 계대배양 한 후의 예상 결과.

양성대조군	예상 결과
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC® 29428*	좋은 성장; 회색의 집락
음성대조군	예상 결과
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922*	성장없음
* Quanti-Cult Plus®로 판매되고 있음	

참고문헌(Reference)

1. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (1994). Journal of Food Protection 57 (12): 1101-1121.
2. Skirrow, M.B. (1977). British Medical Journal 2: 9-11.
3. Post, D. E. (1995). Food-Borne Pathogens Monograph Number 3 Campylobacter .
4. Bolton, F.J. (1995) Personal communication.
5. Hunt, J.M. (1998) Campylobacter. In: F.D.A. Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition (Revision A) 7.01-7.27. AOAC, Arlington Va.