

## 제7.4.14 클로스트리디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*)

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제7.4.4 배지 및 시액 참조)

### 희석액

멸균인산완충희석액 (시액 1) : R112520

멸균생리식염수 (시액 2) : BR0053G

Ringer Solution Tablets, 100tabs (BR0052G)

Phosphate Buffered Saline, Dulbecco A (BR0014G)

### 배지

Cooked Meat 배지(배지 33): CM0081B

카나마이신: Kanamycin Sulphate Supplement, 10mg x 10vials (SR0092E)

난황첨가 TSC 한천배지(배지 41): CM0587B + SR0088E + SR0047C

난황첨가 *Clostridium perfringens* 한천배지(배지 27)

보통한천배지 (배지 8): CM0017B

### 그람염색

Gram Stain Kit, Enhanced, 250ml x 5bottles (R40240): 고전방법(2분40초~3분) 대비 염색시간 단축(43초~1분8초); 배경 적색을 감소시켜 작은 그람음성 미생물의 대조를 향상; 긴 기본 유효기간 (460일)

GAM 배지(배지 34)

BTB-MR 지시약 (시액 4)

혐기성 배양 제품

부록 참조

생화학 동정 키트

RapID ANA II, 20 panels, R8311002

+ RapID Spot Indole Reagent, 15mL, R8309002

+ RapID Inoculation Fluid-1mL, 20x1mL, R8325102

## 제7.4.14 클로스트리디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*)

### 4.14.1 정성시험

#### 가. 증균배양

- 4.3 제조법에 따른 시험용액 1 mL를 Cooked Meat 배지(배지 33)의 아랫부분에 접종하여 35~37°C에서 18~24시간 동안 혐기배양한다.

#### 나. 분리배양

- 증균배양액을 다음 배지에 접종 및 배양하고 의심집락은 확인시험을 실시한다.

사용	배지	배양 조건	의심 집락
선택 1	200µg/mL 카나마이신 및 난황 첨가 TSC 한천배지 (배지41)	35~37°C, 18~24시간, 혐기성	불투명한 환을 가지는 황회색 집락
	200µg/mL 카나마이신 및 난황 첨가 Clostridium perfringens 한천배지 (배지27)		직경 2mm 정도의 약간 돌기된 유황색으로 주변에 불투명한 백색환이 있는 집락

#### 다. 확인시험

- 분리배양된 평판배지상의 집락을 보통한천배지(배지 8) 2장에 각각 접종한다.
- 1장은 35~37°C에서 18~24시간 혐기배양하고, 1장은 35~37°C에서 18~24시간 호기배양한다.
- 호기배양에서 균의 비발육을 확인하고, 혐기배양 집락을 그람염색을 실시한다: 그람양성 간균
- 그람양성간균으로 확인된 집락은 glucose, lactose, inositol, raffinose를 1% 가한 4종의 GAM 배지(배지 34)에 옮긴다.
- 35~37°C에서 1~2일간 배양하여 운동성의 유무를 관찰한다 : 운동성이 없다.
- 3일간 배양 후, BTB-MR지시약(시액 4)을 가한다: 붉은 색으로 변하는 것을 양성으로 판정한다.
- Glucose, lactose, inositol과 raffinose를 분해하며 운동성이 없는 것을 확인하면 Lecithinase 억제시험을 실시한다.  
난황이 포함된 TSC한천배지(배지 41)에 접종하여 35~37°C에서 24시간 혐기배양한 후 2~4 mm의 불투명한 환을 가지는 황회색 집락을 양성으로 판정한다.

### 4.14.2 정량시험

#### 가. 균수측정

- 검체 25 g 또는 25 mL를 취하여 225 mL의 희석액을 가한 후 1~2분간 저속으로 균질화 한 후 10배 단계 희석액을 만든다.
- 시험용액 및 단계별 희석액 1 mL씩을 2배 이상의 멸균 페트리접시에 무균적으로 분주하고, 43~45°C로 유지한 다음의 배지를 10~15 mL를 가하여 좌우로 돌리면서 잘 혼합한 후 응고시키고, 동일 배지 10ml로 중첩 및 응고시킨 후 배양한다.

배지	배양 조건	의심 집락
난황 무첨가 TSC 한천배지 (배지41)	35~37°C, 18~24시간, 혐기성	불투명한 환을 가지는 검은색 집락

- 150개 이하의 전형적인 집락이 확인된 평판을 선별하여 각 집락수를 계수한다.

#### 나. 확인시험

- 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 보통한천배지(배지 8) 2장에 각각 접종한다.
- 정성시험의 다.확인시험 ④~⑨를 실시하여 확인한다.

#### 다. 균수계산

- 확인 동정된 균수에 희석배수를 곱하여 계산한다.  
예로 10<sup>-4</sup>에서 85개의 전형적인 집락이 계수되었고, 이 중 5개의 집락을 확인한 결과 4개의 집락이 클로스트리디움 퍼프린젠스로 동정되었을 경우 85 × (4/5) × 10,000 = 680,000으로 계산한다.