

제7.4.12 황색포도상구균 (*Staphylococcus aureus*)

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

10% NaCl 첨가 TSB 배지: LP0005B + TSB배지(배지 23)(CM0129B)
 난황첨가 만니톨 식염한천배지(배지 14): CM0085B + SR0047C
 Baird-Parker 한천배지(배지 63): CM0275B + SR0054C
 Baird-Parker(RPF) 한천배지(배지 67): CM0961B + SR0122A
 또는 [생배지 세트] BO0290J-SET: BO0290J(Bottled Agar, 90mlx10bt) + SR0122A
 보통한천배지(배지 8): CM0017B

그람염색시약

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)

Coagulase 시험용 제품

Coagulase Plasma Lyophilized, 5ml x 6vials (R21060) : 시험관 응집 방법용
 Staphylase Test, 100tests (DR0595M) : 슬라이드 응집 방식의 키트화된 제품

생화학적 동정 키트

RapID Staph Plus system, 20 panels (R8311009)
 + RapID Inoculation Fluid (R8325106) (2 ml/Tube, 20tubes)
 + RapID Nitrate A Reagent (R8309003) (15 ml/Btl)
 + RapID Nitrate B Reagent (R8309004) (15 ml/Btl)

황색포도상구균 확인 라텍스 신속 키트 (Coagulase, Protein A, polysaccharide antigen 확인)

Staphytest Plus, 100T (DR0850M) : 라텍스 시약이 병에 담긴 액체형; clumping factor(coagulase), Protein A, specific capsular polysaccharides 모두에 대해서 응집반응이 일어남.
 Dryspot Staphytest Plus, 120T (DR0100M) : 라텍스 시약이 카드에 건조되어 있는 Dryspot 제품

4.12.1 정성시험

가. 증균배양

- ① 검체 25 g 또는 25 mL를 취하여 225 mL의 10% NaCl을 첨가한 TSB 배지(배지23)에 가한다.
- ② 35~37°C에서 18~24시간 증균배양한다.

나. 분리배양

- ③ 증균 배양액을 다음 배지들 중 하나에 도말 접종하고 배양 후, 의심집락은 확인시험을 실시한다.

사용	배지	배양 조건	의심 집락 성상
선택 1	난황첨가만니톨 식염 한천배지(MSA) (배지 14)	35~37°C, 18~24시간	황색불투명 집락을 나타내고 주변에 혼탁한 백색환이 있는 집락(18시간 배양 시 직경 1-1.5mm, 48시간 배양 시 직경 3mm정도의 검은색의 윤기있는 볼록한 집락이며 가장자리는 가느다란 흰색이며 그 주위를 투명한 구역이 둘러싸고 있다.)
	Baird-Parker 한천배지 (배지63)		투명한 띠로 둘러싸인 광택이 있는 검정색 집락
	Baird-Parker(RPF) 한천배지 (배지67)		불투명한 환으로 둘러싸인 검정색 집락

다. 확인시험

- ④ 분리배양된 평판배지상의 집락을 보통한천배지(배지 8)에 옮기고 35~37°C에서 18~24시간 배양한다.
- ⑤ 순수배양된 집락을 그람염색을 실시하여 포도상의 배열을 갖는 그람양성 구균을 확인한다.
- ⑥ Coagulase 시험을 실시하며 24시간 이내에 응고유무를 판정한다.
* Baird-Parker(RPF) 한천배지에서 전형적인 집락으로 확인된 것은 coagulase 시험을 생략할 수 있다.
- ⑦ Coagulase 양성으로 확인된 것은 생화학 시험(RapID Staph Plus system 등)을 실시하여 판정한다.

4.12.2 정량시험

가. 균수측정

- ① 검체 25 g 또는 25 mL를 취한 후, 225 mL의 희석액을 가하여 2분간 고속으로 균질화한다.
- ② 균질화한 것을 시험용액으로 하여 10배 단계 희석액을 만든다.
- ③ 각 단계별 희석액을 Baird-Parker 한천배지(배지 63) 3장에 0.3 mL, 0.4 mL, 0.3 mL 씩 총 접종액이 1 mL이 되게 도말한다.
* 사용된 배지는 완전히 건조시켜 사용하고 접종액이 배지에 완전히 흡수되도록 도말한 후 10분간 실내에서 방치시킨다.
- ④ 35~37°C 에서 48±3시간 배양한 다음 의심집락을 계수한다.
투명한 띠로 둘러싸인 광택의 검정색 집락(18시간 배양 시 직경 1-1.5mm, 48시간 배양시 직경 3m정도의 검은색의 윤기있는 볼록한 집락이며 가장자리는 가느다란 흰색이며 그 주위를 투명한 구역이 둘러싸고 있다.)

나. 확인시험

- ⑤ 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 **4.12.1 정성시험 다. 확인시험**에 따라 시험을 실시한다.

다. 균수계산

- ⑥ 확인 동정된 균수에 희석배수를 곱하여 계산한다.
예를 들어 10⁻¹ 희석용액을 0.3 mL, 0.3 mL, 0.4 mL씩 3장의 선택배지에 도말 배양하고, 3장의 집락을 합한 결과 100개의 전형적인 집락이 계수되었고 5개의 집락을 확인시험한 결과 3개의 집락이 황색포도상 구균으로 확인되었을 경우 시험용액 1 mL에는 황색포도상 구균의 수는 10 × 100 × (3/5) = 600이다.