

API 50 CHL Medium

유산균의 동정용 배지

원리	092
시약	092
배지와 시약의 성분	092
배지의 보관	092
사용상 주의사항	092
실험방법	092
사용한 재료의 처리	093
QC	093
스트립의 성분표	093
검사방법	094
REF. 50 410	095

API 50 CHL Medium

유산균의 동정용 배지

원리

- API 50 CHL은 *Lactobacillus*의 동정을 위한 ready to use type의 배지로서 API 50 CHL 스트립에 있는 49가지의 탄수화물의 발효 여부를 연구하는데 사용된다.
- 동정하고자 하는 균체를 배지에 풀어 균액을 만든 후 스트립에 분주하고 배양하면, 배양 기간 동안 발효된 탄수화물이 산을 생성하고 pH를 떨어뜨린다.
- 50 CHL 배지에는 pH indicator가 들어 있어서 색의 변화로 양성, 음성을 판독한다.

시약

Kit 구성(10 테스트)

- API 50 CHL medium 10 ampoules
- Package insert 1부

보조 시약(별도구매)

- API 50 CH strips (ref.50 300)
- McFarland Standard, (ref. 70 900) or DENSIMAT (ref. 99 234)
- Identification software (apiweb™)
- Mineral oil (ref.70 100) • MRS agar
- API Suspension medium, 2ml, (ref.70 700) and 5ml (ref.20 150)
- PSIpettes (ref.70 250) • 면봉

필요한 실험 기자재

- Incubator(35 ~37 °C)
- Bunsen burner
- Marker pen
- Anaerobic incubation system

배지와 시약의 성분

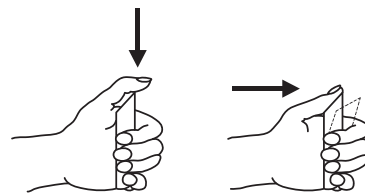
Suspension Medium 2 and 5 ml	Demineralized water	
API 50 CHL Medium 10 ml	Polypeptone (bovine/porcine origin)	10 g
	Yeast extract	5 g
	Tween 80	1 ml
	Dipotassium phosphate	2g
	Sodium acetate	5 g
	Diammonium citrate	2 g
	Magnesium sulphate	0.20 g
	Manganese sulphate	0.05 g
	Bromocresol purple	0.17 g
	Demineralized water to make	1000 ml
	ph : 6.7-7.1	

배지의 보관

2-8 °C에서 유효 기간까지 보관 가능.

사용상 주의사항

- 체외 진단용으로만 사용한다.
- 감염성이 있는 시약에 대해 주의 사항을 만들고 무균적으로 사용하도록 한다.
- 검체나 시약을 입으로 파이펫팅 하지 않는다.
- 유효기간이 지난 시약은 사용하지 않는다.
- 사용하기 전에 실온에 꺼내 두었다가 사용한다.
- 앰플을 열 때 주의한다.



- 앰플을 수직이 되도록 한 손으로 잡는다. (흰색 뚜껑이 위로 가도록)
- 뚜껑을 가능한 한 아래로 꼭 누른다.
- 엄지손가락으로 뚜껑의 평평한 부분을 친다.
- 뚜껑 안의 앰플의 윗 부분을 잘라내기 위해서 뚜껑의 평평한 부분에 엄지손가락을 놓고 압력을 가한다.
- 스포이드 뚜껑이 없는 앰플의 경우에는 조심스럽게 뚜껑을 제거한다.
- 스포이드 뚜껑이 있는 경우에는 앰플의 윗부분을 돌려서 수직을 유지하고 모든 시약을 스포이드 병에 담는다.

- 모든 접종된 시약은 감염될 가능성이 있다.
- 임상 가검물과 배양된 미생물은 감염의 위험이 있으므로 숙련된 검사자에 의해 주의해서 다루어져야 한다. 무균 조작과 유용한 조작상의 유의 사항은 다음의 과정을 통해 준수하여야만 한다. "CLSI/NCCLS M29-A, Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline - Current revision"

추가적인 실험은 "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Latest edition"을 참조하거나 각 나라의 규정에 따라 유의하여 조작한다.

- 실험이 끝나면 실험에 사용한 모든 제품은 완전 멸균 상태로 폐기 처리해야 한다.
- 테스트 결과의 해석은 환자의 병력, 검체의 종류 및 현미경적 소견을 고려하여 미생물학자에 의해서 이루어져야 한다. 만약 필요하다면 다른 종류의 테스트 결과 특히 항생제 감수성 검사를 시행한다.

실험방법

균체의 준비

- 균주가 순수분리 되었는지 확인한다.
- MRS 배지를 사용해서 30 °C 또는 37 °C에서 24시간 동안 혐기배양한다. 배양온도는 균의 origin에 따라 달라질 수 있다.
- 유산균 그룹의 기본적인 속성과 일치하는지 확인한다. (대부분은 Gram (+), catalase (-), 무포자, 혐기성-통성 혐기성 간균이며 MRS배지에서 성장함)

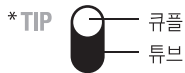
- 만약 동결 건조 또는 사면배지 상태로 보관 중인 균주라면 MRS배지에서 집락을 분리하기 전에 MRS broth에서 2회 이상 계대배양한 후 사용한다.

스트립의 준비

- Incubation box를 준비하고 멸균 증류수를 tray에 부어서 수분을 유지하도록 한다.
- Tray의 끝에 균주의 정보를 기록한다.
- 스트립을 tray 위에 올려놓는다.

접종액의 준비

- DENSIMAT를 사용할 경우
 - API 50 CHL medium의 뚜껑을 연다.
 - 동일한 집락을 여러개 취해서 2 McFarland로 탁도를 맞춘다.
- DENSIMAT를 사용하지 않을 경우
 - Suspension medium(2ml) 앰플을 개봉한다.
 - 면봉을 이용해서 heavy suspension (매우 탁도가 진한 균액)을 만든다.
 - Suspension medium 5ml에 위 균액을 몇(n) 방울 떨어뜨려서 탁도를 2McFarland로 맞춘다.
 - API 50 CHL medium 10ml에 2n 방울의 진한 균액을 넣으면 2 McFarland가 된다.



스트립의 접종

- 균을 부유시킨 API 50 CHL 배지를 스트립의 튜브에 분주하고 mineral oil을 첨가한다.
- 29°C ± 2°C 또는 36°C ± 2°C에서 48시간 동안 호기적으로 배양한다.

스트립의 판독

- 24시간, 48시간 배양 후에 결과를 리딩 하도록 한다.
- 배지에 포함되어 있는 bromocresol purple 지시약에 의해 산이 생성되면 배지의 색이 노란색으로 변한다.
- Esculin test (tube no.25)는 보라색에서 검은색으로 변하면 양성이다.
- 결과를 결과지에 기입한다.

결과의 해석

- 실험 결과 얻어지는 생화학적 결과는 동정용 프로그램 *apiweb™*에 접속하여 해석하거나, 균주 특성 실험을 위한 자료로 사용되거나 다른 균주의 특성과 비교되어지는데 사용할 수 있다.
- (*apiweb™* 주소 : <https://apiweb.biomerieux.com>)

사용한 재료의 처리

앰플, 피펫, 팁 그리고 스트립 모두는 사용 후 멸균 처리한 후 폐기처분한다.

QC

- 배지와 스트립 그리고 시약은 각각의 제조 과정의 여러 단계에서 체계적으로 조절된다. • 스트립에 대한 자체 품질관리를 확인하고자 하면 다음의 균주를 사용하도록 한다.

1. *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917
2. *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* NCFB 206 or ATCC BAA -52

		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49
1,	24	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
2,	48	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
3,	24	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	V	-	+	V	-	+	+	-	V	+	V	V	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	V	-	-
4,	48	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	V	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	V	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

*Lactobacillus casei ssp casei*는 API 50 CH 에서 *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* 로 동정됨.

스트립의 성분표

STRIP 0-9 tube/substrate	STRIP 10-19 tube/substrate	STRIP 20-29 tube/substrate	STRIP 30-39 tube/substrate	STRIP 40-49 tube/substrate
0 CONTROL	10 D-GALactose	20 α-Methyl-D-Mannoside	30 MELibiose	40 D TURanose
1 GLYcerol	11 D-GLUcose	21 α-Methyl-D-Glucoside	31 Sucrose	41 D LYXose
2 ERYthritol	12 D-FRUctose	22 N-Acethyl-Glucosamine	32 TREhalose	42 D TAGatose
3 D ARABinose	13 D-MaNosE	23 AMYgdalin	33 INULin	43 D FUCose
4 L ARABinose	14 L-SorBosE	24 ARButin	34 MeLeZitose	44 L FUCose
5 RIBose D-RIBose	15 RHAmnose	25 Esculin	35 RAFfinose	45 D ArabitoL
6 D XYLose D-XYLose	16 DULcitol	26 SALicin	36 Starch	46 L ArabitoL
7 L XYLose L-XYLose	17 INOSitol	27 CELlobiose	37 GLYcogen	47 GlucoNaTe
8 ADONitol D-ADONitol	18 MANnitol	28 MALtose	38 XyLiToL	48 2-keto-Gluconate
9 Methyl-BD-Xylopyranosicle	19 SORbitol	29 LACTose	39 GENtiobiose	49 5-keto-Gluconate

API 50 CHL Medium | 유산균의 동정용 배지

검사방법

