

제7.4.11

살모넬라 (*Salmonella* spp.)

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

1차 증균 배지

펩톤식염완충액(시액 7): Buffered Peptone Water (CM0509B)

TSB(배지 23) : CM0129B

2차 증균 배지

Tetrathionate 배지(배지 88): CM0671B + R114350 + R114080

RV(Rappaport-Vassiliadis) 배지(배지 57): CM0669B

RVS 배지(배지 89): CM0866B

분리배양 배지

XLD 한천배지(배지 58): CM0469B

BG Sulfa 한천배지(배지 87): R452622

Bismuth Sulfite 한천배지(배지 64): CM0201B

Desoxycholate Citrate 한천배지(배지 31): CM0227B

Hektoen Enteric 한천배지(배지 90) : CM0419B

XLT4 한천배지(배지 91): CM1061B + SR0237C

생화학 동정 키트

RapID ONE System, 20panels/kit (R8311006)

+ RapID Inoculation Fluid, 2mlx20tubes (R8325106)

+ RapID Spot Indole Reagent, 15mlx1vial (R8309002)

생화학 단일 시험

시험 항목	제품명 및 제품번호
TSI 사면배지(배지 32)	Triple Sugar Iron (TSI) Agar, 500g (CM0277B)
LIA 사면배지(배지 92)	Lysine Iron Agar, 500g (CM0381B)
그람염색	Gram Stain Kit (Crystal Violet, Decolorizer, Iodine, Safranin, Tray), 250ml x 4bt (R40080)
Indole 시험	Microbact Spot Indole (DMAC), 10ml (MB1448A) 또는 Indole Reagent, Kovac's, 25ml/bottle (R21227) 또는 BactiDrop Indole, Kovac's, 0.75mlx50ampules (R21522)
Methyl Red 시험	MRVP Medium, 500g (CM0043B) Methyl Red Reagent, 25ml/bottle (R21236)
VP 시험	MRVP Medium, 500g (CM0043B) VP A reagent, 12ml (R21200) + VP B reagent, 25ml (R21281) 또는 BactiDrop VP A, 0.75ml x 50ampules (R21560) + BactiDrop VP B, 0.75ml x 50ampules (R21562)
Citrate 시험	Simmons Citrate Agar, 500g (CM0155B)
Urea 시험	Urea Agar Base (Christensen Agar Base), 500g (CM0053B) + Urea 40% Solution, 10vials (SR0020K)
Lysine Decarboxylase 시험	Lysine Decarboxylase Broth Tablets, 100tabs (CM0308S)
Malonate 시험	-
KCN 시험	-

라텍스 신속 응집 키트

Wellcolex Colour Salmonella Kit, 50T(R30858301), 200T(R30858302) : O항원 Group 구별(A, B, C, D₁, E/G, Vi) 라텍스 응집검사

Oxoid Salmonella Test Kit, 100T(DR1108A) : H항원에 반응. H항원 구별 없음

응집 혈청

Salmonella O Agglutinating Sera

Salmonella H Agglutinating Sera

분자 진단

제품명	제품번호	용량	노트
SureTect™ Salmonella Species Assay	PT0100A	96 tests / kit	AOAC validated
MicroSEQ™ Salmonella spp. Detection Kit	4403930	96 tests / kit	AOAC validated
MicroSEQ™ Salmonella spp. Detection Start Kit with PrepSEQ™ Nucleic Acid Extraction Kit	4412639	96 assays	AOAC validated
MicroSEQ™ Salmonella spp. Detection Start Kit with PrepSEQ™ Rapid Spin Sample Preparation Kit - Extra Clean	4415044	96 assays	AOAC validated
Dynabeads™ anti-Salmonella	71002	5mL	For the selective enrichment of Salmonella directly from pre-enrichment samples

가. 증균배양

1) 식품 및 식육

- ① 시료 25 mL(g)에 225 mL의 펩톤식염완충액(BPW, 시액7)을 첨가한다.
- ② 36±1°C에서 18~24시간 배양한다.

2) 소, 돼지 도체

- ① 제7.5.2.3. 세균학적 시험법 가. 시료채취 및 방법 1) 도체 가)소 및 나)돼지의 시료채취 방법에 따라 멸균가아제나 스폰지로 시료를 채취한 후 멸균백에 넣고 50 mL BPW(시액7)를 넣은 다음 균질화 시킨다.
- ② 36±1°C에서 18~24시간 배양한다

3) 닭, 오리 도체

- ① 제7.5.2.3. 세균학적 시험법 가. 시료채취 및 방법 1) 도체 다)닭의 시료 채취방법에 따라 채취한 시료 30 mL을 취하여 30 mL BPW(시액7)에 넣은 다음 균질화 시킨다.
- ② 36±1°C에서 18~24시간 배양한다

4) 식용란

- ① 식용란 20개를 채취하여 제7.5.3.3. 세균학적 시험법 가. 시료채취 및 조제에 따라 소독 한 후 말린 식용란을 깨서 4L 용량의 멸균 용기에 넣어서 준비한 다음(달걀을 깰 때는 위생장갑을 껴야하며 샘플마다 위생장갑을 바꾸어준다.) 멸균된 도구 등으로 난황과 난백이 섞이도록 균질화를 시킨다.
- ② 준비된 시료에 2L의 멸균 TSB를 넣어 섞고 35°C에서 24±2시간동안 증균한다.

③ 배양액을 다음의 배지에 첨가하고 증균배양한다.

사용 필수	배지	배지부피	배양액 접종량	배양조건	배양시간
	Tetrathionate배지 (배지88)	10mL	1mL	36±1°C	20~24시간
선택 1	RV배지(배지57) RVS배지(배지89)	10mL	0.1mL	41.5±1°C	20~24시간

나. 분리배양

④ 각각의 증균배양액을 다음의 배지에 도말하고 배양한 후, 의심집락을 관찰한다.

사용	배지	배양온도	배양시간	의심집락 성상
필수	XLD Agar(배지58)	36±1°C	20~24시간	가운데가 검거나 검지 않은 붉은 집락
선택 1	BG Sulfa 한천배지(배지 90)			분홍색-흰색 집락
	Bismuth Sulfite 한천 배지(배지64)			금속성 광택이 있고, 가운데가 검거나 혹은 검지 않은 녹색 집락
	Desoxycholate Citrate 한천배지(배지31)			가운데가 검거나 혹은 검지 않은 담황색 집락
	HE 한천배지(배지91)			중심에 검은색이 있거나 없는 청록색 집락
	XLT4 한천배지(배지92)			검정 또는 중심에 검은색이 있는 적색 집락

다. 확인시험

생화학적 시험

⑤ 의심스러운 집락 5개 이상을 취하여 TSI Agar(배지 32) 또는 LIA 사면배지(배지 93)에 천자하여 37±1°C에서 20~24시간 배양한다.

TSI: 바닥-노란색(산) and/or 균열(가스생성)
 사면-변화없음 or 적색(염기성)
 H₂S 생성여부: 검정(생성) or 변화없음(무생성)

LIA: 바닥-보라색(염기)
 사면-보라색(염기)
 H₂S 생성여부: 검정(생성)

⑥ TSI, LIA 의심 결과에 대해, 그람 염색을 실시한다.
 그람음성의 간균

⑦ 생화학시험을 실시한다.
 동정키트: RapID ONE System
 단일시험: Indole(-), MR(+), VP(-), Citrate(+), Urease(-), Lysine(+), KCN(-), malonate(-)

응집시험

균종 확인이 필요한 경우 살모넬라용 항혈청을 사용한 응집반응 결과에 따라 균종을 결정한다.

⑧ O혼합혈청 시험
 • Wellcolex Colour Salmonella Kit, 50T (R30858301), 200T(R30858302)
 • 또는 다가 O항혈청을 사용하여 슬라이드 응집반응검사를 실시한 후 살모넬라 O인자 혈청시험 즉 A, B, C, D, E군 등의 인자 항혈청으로 슬라이드 응집반응을 실시하여 O혈청형을 결정한다.

⑨ H인자 혈청시험
 편모(H)항혈청 즉 a, b, c, d, e, h, g, k, l, r, y, 1.2, 1.3, 1.5, 1.6 등에 대해 시험관 응집반응을 실시하여 결정한다.

2일만에 완료하는 Salmonella 시험
 --> 부록"②-2 Salmonella Precis™ Method(ISO 16140 Validated alternative)"참조