

# Salmonella choleraesuis의 増菌에 관한 연구

—Tetrathionate Broth Base에 대한 沃度溶液의 含量이 増菌效果에 미치는 영향—

鄭 吉 澤

卓 鍊 斌

서울大學校 獸醫科大學

慶北大學校 農科大學 獸醫學科

비교관찰하였다.

## 緒 論

Salmonella 菌의 含量이 적은 可檢物로부터 이 菌을 分離하려면 汚濁물을 増菌培地에 接種하여 Salmonella 菌은 증식시키고 大腸菌群細菌이나 그밖의 Gram 陰性 菌의 증식은 억제시키므로써 Salmonella 菌의 분리가 용이하게 된다.

Salmonella 菌의 증균배지로는 tetrathionate broth 와 selenite broth 가 가장 널리 사용되고 있다<sup>1)</sup>. Tetrathionate broth 의 増菌效果는 tetrathionate 에 기인한다. 이 培地는 sodium thiosulfate 를 주성분으로 하는 tetrathionate broth base 에 沃度溶液을 첨가하여 만들며 이때 생성되는 tetrathionate 가 세균을 선택적으로 발육억제하도록 되어 있다<sup>2)</sup>. 그러나 대부분의 Salmonella 菌과 Proteus 菌은 tetrathionate 분해효소를 생산하여 培地中の tetrathionate 를 분해함으로써 증식이 가능하지만 E. coli, Shigella, 그리고 그밖의 Gram 陽性의 腸內細菌등은 이 효소를 생산치 않기 때문에 증식이 억제된다<sup>3,6,7,9,10)</sup>.

Salmonella 菌의 1,300이 넘는 血清型 가운데 Sal. choleraesuis 및 Sal. choleraesuis var. kunzendorf 만이 tetrathionate broth 와 selenite broth 에서 증식이 억제된다고 1952년에 Smith<sup>12)</sup>에 의하여 처음 보고되었다. Chung 및 Frost<sup>2,3)</sup>는 tetrathionate broth 를 포함한 각종 증균배지에서의 Sal. choleraesuis 의 増殖에 관하여 보고하였고, 또한 Sal. choleraesuis 는 sodium sulfadiazine 이 함유된 brilliant green agar 에서도 발육이 억제된다고 보고한 바 있다.

본실험에서는 tetrathionate broth base 에 첨가하는 沃度溶液의 濃도를 여러가지로 변화시켰을 때의 Sal. choleraesuis 의 發育曲線을 만들고 이것을 Sal. typhimurium, Sal. typhi, 그리고 E. coli 의 發育曲線과

## 材料 및 方法

供試細菌: 慶北大學校 醫科大學 細菌學教室에서 분양받은 Sal. choleraesuis, Sal. choleraesuis var. kunzendorf, Sal. typhimurium, Sal. typhi, E. coli 등의 다섯 菌株를 公試菌으로 사용하였다.

細菌接種: 각 公試세균을 nutrient broth (Difco)에 接種하여 37°C에서 18시간 배양한 菌液을 멸균생리식염수로 10배 稀釋菌液을 만들어서 이 稀釋菌液 0.5 ml 를 一定量의 沃度溶液이 함유된 tetrathionate broth 10 ml 에 接種하여 37°C 에 배양하였다.

沃度溶液: 옥도용액은 Difco manual<sup>11)</sup>의 방법에 준하여 沃素 6g 과 potassium iodide 5g 을 증류수 20 ml 에 용해시켜서 만들었다. 옥도용액의 첨가방법은 tetrathionate broth base 100 ml 에 각각 4.0 ml, 2.0 ml, 1.0 ml, 그리고 0.5 ml 의 4가지 농도로 細菌接種 직전에 첨가하였다.

菌數測定: 公試세균이 接種된 tetrathionate broth 를 서서히 흔들은 다음 菌液 0.1 ml 를 무균적으로 채취하여 바로 멸균생리식염수로 일련의 10배 稀釋菌液을 만들어서 매 회석액 0.02 ml 를 니크롬선의 굵기와 원뿔레의 직경을 조절하여서 만든白金耳로 채취하여 nutrient agar 平板의 1/4에 해당하는 表面積에 接種菌액이 乾고루 퍼지도록 接種하여 37°C 에 24~48시간 배양한 뒤에 集落의 수를 기록하여 牛乳의 標準寒天平板培養法<sup>13,14)</sup>에 준하여 다음과 같은 細則에 의하여 菌數를 算定하였다.

- (1) 集落數가 7~70개의 平板을 선택하였다.
- (2) 연속된 稀釋度에서 7~70개의 集락이 형성되었을 경우에는 각 회석도의 集락수에 회석도를 곱하여 각각의 細菌數를 산출한 후 두 회석도에 있어서의 세균

Table 1. Number of Organisms in Tetrathionate Broth Base Containing Various Amounts of Iodine Solution

Organism	ml of Iodine Sol/100ml of TT* Broth Base	Log <sub>10</sub> /0.02 ml Number of Bacteria			
		Hours of Incubation at 37°C			
		0	6	24	48
<i>Sal. choleraesuis</i>	0.5 ml	3.1	4.2	5.3	5.9
	1.0 ml	3.1	4.4	4.9	6.3
	2.0 ml	3.1	1.6	0.3	4.0
	4.0 ml	3.1	0.6	0	0
<i>Sal. choleraesuis var. kunzendorf</i>	0.5 ml	4.0	3.8	3.4	3.6
	1.0 ml	4.0	4.1	0	2.8
	2.0 ml	4.0	3.1	0	0
	4.0 ml	4.0	1.6	0	0
<i>Sal. typhimurium</i>	0.5 ml	4.5	6.2	5.1	5.7
	1.0 ml	4.5	5.7	4.4	5.9
	2.0 ml	4.5	5.4	5.8	5.6
	4.0 ml	4.5	5.7	5.0	3.4
<i>Sal. typhi</i>	0.5 ml	4.1	4.4	6.6	5.8
	1.0 ml	4.1	5.0	4.9	5.8
	2.0 ml	4.1	5.1	5.5	5.1
	4.0 ml	4.1	4.7	3.7	4.8
<i>E. coli</i>	0.5 ml	4.5	3.5	4.8	5.7
	1.0 ml	4.5	2.9	4.3	4.9
	2.0 ml	4.5	2.5	0	0
	4.0 ml	4.5	2.4	0	0

\* Tetrathionate

수의 비율이 2배 이상이 아닌 경우에는 그의 算術平均 値를 산출하고, 두 회석도에 있어서의 세균수의 비율이 2배 이상인 경우에는 세균수가 적은 것만을 채택하였다.

(3) 7~70개의 집락을 형성한 平板이 없을 경우에는 70에 가장 가까운 집락수를 형성한 平板을 택하여 세균수를 계산하였다.

(4) 모든 平板에 7개 이하의 집락이 형성되었을 경우에는 가장 회석도가 낮은 平板의 집락수를 계산하였다.

菌數測定은 細菌接種直後, 接種後 6, 24, 48시간마다 각각 측정하였다.

## 結 果

Tetrathionate broth base의 沃度溶液含量을 배지

100 ml 당 각각 0.5 ml, 1.0 ml, 2.0 ml, 4.0 ml씩 첨가한 4가지 농도에서 *Sal. choleraesuis*와 *Sal. choleraesuis, var. kunzendorf*의 증식을 관찰하기 위하여 對照菌으로서 *Sal. typhi*, *Sal. typhimurium*, *E. coli*와 함께 접종직후, 접종후 6시간, 24시간, 48시간 등의 4회에 菌數를 측정한 성적은 表 1과 같다.

Salmonella 속군의 增菌培地로서 주장된 옥도용액의 正常量인 배지 100 ml 당 2.0 ml의 옥도용액의 농도(圖 1, C)에서는 *Sal. typhi*와 *Sal. typhimurium*은 10<sup>8</sup>/0.02 ml 이상으로 증식이 잘 되었으나 *Sal. choleraesuis*는 접종후 24시간까지는 거의 死滅하여 菌數가 0.02 ml 당 2에 이르렀으나 접종후 48시간에는 10<sup>4</sup>까지 증식되었다. *Sal. choleraesuis var. kunzendorf*와 *E. coli*는 접종후 菌수가 급속히 감소되어 24시간 후엔 전부 사멸되었고 48시간 후에도 전혀 生菌이 검출되지 않았다.

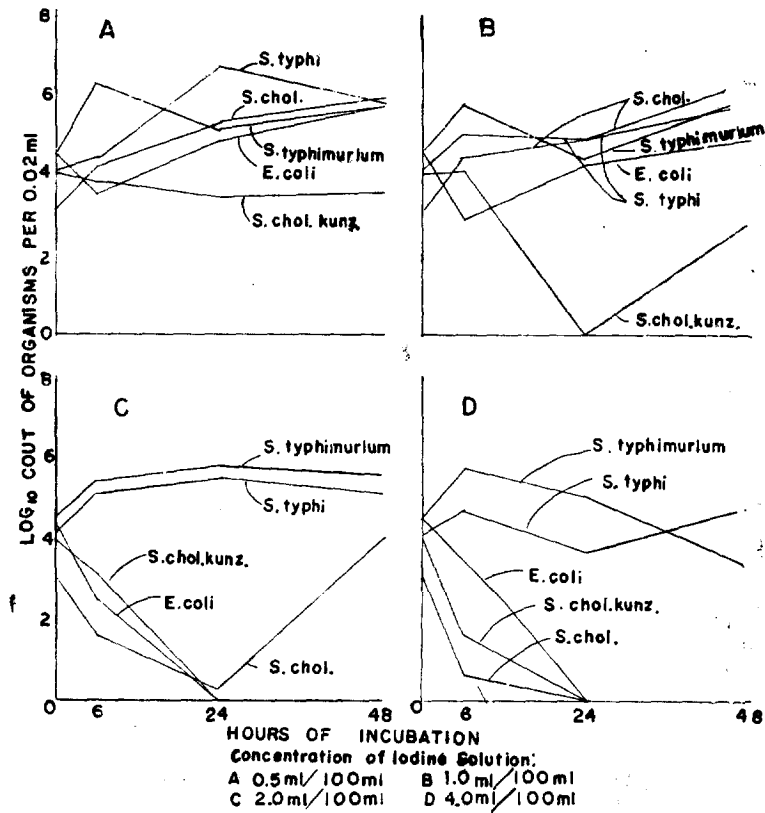


Fig. 1. Comparison of growth curves of organisms in tetrathionate broth base containing various amounts of iodine solution.

沃度溶液의 함량이 正常値의 2배인 배지 100 ml 당 4.0 ml의 농도에서는(圖 1, D) *Sal. typhi*와 *Sal. typhimurium*는 접종후 6시간까지는 균수가 증가되었으나 그 이후로는 약간 감소되었다. *Sal. choleraesuis*, *Sal. choleraesuis var. kuzendorf* 그리고 *E. coli*는 급속히 菌數가 감소되어 접종후 24시간 이후에는 生菌이 전혀 검출되지 않았다.

옥도용액을 정상량의 반인 배지 100 ml 당 1.0 ml을 첨가한 경우에는(圖 1, B) *Sal. choleraesuis var. kuzendorf*만이 균수가 급속히 감소되어 접종후 24시간에는 전혀 生菌이 검출되지 않았으나 접종후 48시간에는  $10^4$  이상으로 다시 增菌이 되었다. *Sal. choleraesuis*, *Sal. typhi* 그리고 *Sal. typhimurium*은 모두 서서히 균수가 증가하였다. *E. coli*은 접종후 6시간까지는 균수가 감소되었으나 그 이후부터 서서히 증가하였다.

옥도용액을 정상량의 1/4로 감량한 배지 100 ml 당 0.5 ml를 첨가한 경우에는 *Sal. choleraesuis var.*

*kuzendorf*만이 접종후 48시간까지 接種菌數의 수준에서 菌數가 유지되었고 나머지 4개의 균주는 서서히 균수가 증가하여 접종후 48시간에는 0.02 ml 당  $10^5$  이상에 달했다.

### 考 察

Tetrathionate broth가 *Sal. choleraesuis*의 成長을 억제한다는 사실은 Smith<sup>11)</sup>에 의하여 1952년에 최초로 보고되었다. 著者 등<sup>2)</sup>은 前報에서 tetrathionate broth를 포함한 여러가지 增菌培地에서의 *Sal. choleraesuis*의 增菌효과에 관하여 보고한 바 있다.

본실험에서는 tetrathionate broth의 옥도용액의 량을 여러가지로 변화시켰을 때 *Sal. choleraesuis*와 *Sal. choleraesuis var. kuzendorf*의 增菌효과를 측정하고자 *Sal. typhi*, *Sal. typhimurium*, 그리고 *E. coli*와 함께 비교관찰하였다.

正常量の 옥도용액을 첨가한 경우에는 *Sal. typhi*와

*Sal. typhimurium*은 아무런 發育抑制效果도 없이 증균이 잘 되었지만 *Sal. choleraesuis*와 *Sal. choleraesuis var. kunzendorf*는 *E. coli*와 더불어 成長이 현저히 억제되었다. 따라서 이 옥도용액의 농도에서는 *Sal. choleraesuis*와 *Sal. choleraesuis var. kunzendorf*의 증균효과는 전혀 기대할 수 없다.

옥도용액의 량을 正常量의 2배로 증가한 경우에는 *Sal. typhi*와 *Sal. typhimurium*은 별로 뚜렷한 성장억제작용을 받지 않았으나 나머지 3가지 균들은 모두 死滅하였다.

옥도용액의 량을 정상량의 반 또는 그 이하로 감소하면 *Sal. choleraesuis*와 *Sal. choleraesuis var. kunzendorf*의 증균효과는 좋았지만 *E. coli*도 증균이 잘 되기 때문에 糞이나 腸內容物로부터 *Sal. choleraesuis*나 *Sal. choleraesuis var. kunzendorf*를 분리코자 할 경우에는 증균배지에서 증균시킨 다음에 鑑別固體培地에서 競合細菌인 *E. coli*의 증식을 억제시켜주면 좋은 결과를 기대할 수 있겠는데 이에 관해서는 후후의 과제로 미루고자 한다.

## 結 論

여러가지 농도의 沃度溶液을 첨가한 tetrathionate broth base에서 *Sal. choleraesuis*와 *Sal. choleraesuis var. kunzendorf*의 증식을 對照菌株와 비교 관찰한 성적은 다음과 같다.

1. Tetrathionate broth base 100 ml 당 옥도용액을 正常量인 2.0 ml 을 첨가한 경우엔 *Sal. typhi*와 *Sal. typhimurium*은 증식이 잘 되었으나 *Sal. choleraesuis*는 접종후 24시간까지는 菌數가 급히 감소되었으나 48 간에서 약간 증가되었다. *Sal. choleraesuis var. kunzendorf*와 *E. coli*는 접종후에 菌數가 급히 감소되어서 접종후 24시간과 48시간엔 전혀 生菌이 검출되지 않았다.

2. 옥도용액을 正常量의 2배인 4.0 ml 을 배지 100 ml 에 첨가한 경우엔 *Sal. typhi*와 *Sal. typhimurium*은 접종후 6시간까지는 균수가 약간 증가했으나 그 이후엔 감소되었다. *Sal. choleraesuis*, *Sal. choleraesuis var. kunzendorf*, 그리고 *E. coli*는 접종후에 균수가 급히 감소되어서 24시간 이후엔 생균이 전혀 검출되지 않았다.

3. 옥도용액을 正常量의 1/2과 1/4인 1.0 ml 와 0.5 ml 을 각각 배지 100 ml 에 첨가한 경우엔 모든 세균이 잘 증식되었다.

## 參 考 文 獻

1. Anon: Difco manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and chemical laboratory procedures. 9 ed. Difco Laboratories, Michigan (1953) p. 156.
2. Chung, G.T. and Frost, A.J.: The growth of *Salmonella choleraesuis* in various enrichment broths. J. Appl. Bact. (1970) 33 : 449.
3. Chung, G.T. and Frost, A.J.: The sensitivity of *Salmonella choleraesuis* to sodium sulphadiazine. Res. Vet. Sci. (1971) 12 : 287.
4. Edwards, P.R. and Ewing, W.H.: Identification of enterobacteriaceae. Burgess Publishing Co., Minneapolis (1955) p. 11.
5. Knox, R.: The effect of tetrathionate on bacterial growth. Brit. J. Exp. Path. (1945) 26 : 146.
6. Knox, R., Gell, P.G.H. and Pollock, M.R.: The selective action of tetrathionate in bacteriological media. J. Hyg. (1943) 43 : 147.
7. Knox, R. and Pollock, M.R.: Bacterial tetrathionase. Biochem. J. (1944) 38 : 299.
8. Palumbo, S.A. and Alford, J.A.: Inhibitory action of tetrathionate enrichment broth. Appl. Microbiol. (1970) 20 : 970.
9. Pollock, M.R. and Knox, R.: Bacterial reduction of tetrathionate. Biochem. J. (1943) 37 : 476.
10. Pollock, M.R., Knox, R. and Gell, P.G.H.: Bacterial reduction of tetrathionate. Nature (1942) 150 : 94.
11. Smith, H.W.: The evaluation of culture media for the isolation of salmonellae from faeces. J. Hyg. (1952) 50 : 21.
12. Smith, H.W.: The isolation of salmonellae from the mesenteric lymph nodes and faeces of pigs, cattle, sheep, degs and cats and from other organs of poultry. J. Hyg. (1959) 57 : 260.
13. Walter, W.G.: Standard methods for the examination of dairy products. 12ed. American Public Health Association (1967) p. 47.
14. 趙炳律, 徐富甲, 趙漢喆: 獸醫公衆衛生學. 文運堂, 서울 (1971) p. 341.

## Enrichment of *Salmonella choleraesuis* in Tetrathionate Broth

—Effect of Concentration of Iodine Solution on the Growth of *Sal. choleraesuis*—

Gill Taik Chung, D.V.M., M.S., Ph.D.

*College of Veterinary Medicine, Seoul National University*

Ryun Bin Tak, D.V.M., M.S., Ph.D.

*Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Gyeongbuk National University*

### Abstract

The growth of *Sal. choleraesuis* and its kunzendorf variety in tetrathionate broth containing various amounts of iodine solution was studied and compared with that of *Sal. typhi*, *Sal. typhimurium* and *E. coli*. The results obtained were as followings.

1. When 2.0 ml of iodine solution, normal amount, was added to 100 ml of tetrathionate broth base, the number of *Sal. choleraesuis* decreased rapidly until 24 hours after inoculation and slightly increased 48 hours after inoculation. The numbers of *Sal. choleraesuis* var. *kunzendorf* and *E. coli* decreased rapidly and none of the organisms recovered 24 and 48 hours after inoculation, respectively. The growth of *Sal. typhi* and *Sal. typhimurium*, however, was not inhibited at all.

2. When 4.0 ml of iodine solution was added, to 100 ml of tetrathionate broth base, the growth of all the organisms was inhibited, among which *Sal. choleraesuis*, *Sal. choleraesuis* var. *kunzendorf*, and *E. coli* were not recovered 24 and 48 hours after inoculation.

3. When reduced amounts of iodine solution, 1.0 ml and 0.5 ml, were added to 100 ml of tetrathionate broth base, the growth of all the organisms was not inhibited.