

# Campylobacter Agar Base Blood Free (CCDA) ISO

LC1129

Selektivní médium pro izolaci *Campylobacter spp.*

## Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Selektivní výčet	<i>Campylobacter</i>
Selektivní izolace	<i>Campylobacter</i>

Odvětví aplikace: Kvalita vody / Potravinářství

Předpisy: ISO 10272 / ISO 11133

## Principy a použití

*Campylobacter* agar bez krve, s uhlím, cefoperazonem a deoxycholátem (základ) (Blood Free *Campylobacter* Agar (Base) (CCDA)) je modifikovaná kultivační půda popsaná Boltonem *et al.*. Krev je nahrazena živočišným uhlím, pyruvátem sodným a síranem železitým. Médium podporuje růst většiny střevních kampylobakterů a dle normy ISO 10272 je doporučena pro selektivní izolaci *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* a termofilních kampylobakterů v potravinách a v klinických i neklinických vzorcích.

*Campylobacter* je považován za hlavní příčinu střevních onemocnění. *Campylobacter spp.* může způsobovat mírné až těžké průjemy s řídkou, vodnatou stolicí často následovanou krvavým průjemem. Jedná se o velmi infekční patogen přenášený kontaminovanými potravinami nebo vodou.

Médium obsahuje síran železnatý, pyruvát sodný a dřevěné uhlí, které podporují růst druhů *Campylobacter*, protože potlačují toxické formy kyslíku (peroxid vodíku), čímž zvyšují aerotoleranci a umožňují snadnou izolaci kmenů citlivých na kyslík. Desoxycholát sodný částečně nebo zcela inhibuje grampozitivní organismy, koliformní bakterie a *Proteus*. Enzymatický digestát živočišné tkáně a kaseinu a hovězí extrakt poskytují dusík, vitamíny, minerální látky a aminokyseliny nezbytné pro růst. Bakteriologický agar je zpevňující činidlo.

Cefoperazon zvyšuje selektivitu a inhibuje růst gramnegativních střevních bacilů a některých grampozitivních druhů, zatímco amfotericin B potlačuje růst kvasinek a plísní. Zvýšení selektivity je možné zvýšením teploty kultivace.

## Složení v g/l

Enzymatický digestát kaseinu	3	Aktivní uhlí	4
Bakteriologický agar	12	Síran železitý	0,25
Hovězí extrakt	10	Chlorid sodný	5
Deoxycholát sodný	1	Pyruvát sodný	0,25
Enzymatický digestát živočišných tkání	10		

Typické složení v g/l \* Upraveno a/nebo doplněno podle potřeby tak, aby splňovalo kritéria účinnosti.

## Příprava

Suspendujte 22,75 g média v 500 ml destilované vody. Dobře promíchejte a rozpouštějte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. Sterilizujte v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Ochlaďte na 44-47 °C a asepticky přidejte jednu lahvičku doplňku CCDA (*Campylobacter* Blood Free) (LC6053). Jemně homogenizujte a rozdělte do Petriho misek.

## Návod k použití

Pro detekci a stanovení počtu *Campylobacter spp.* podle ISO 10272:

U vzorků s nízkým počtem kampylobakterů a nízkou úrovní mikroflóry pozadí a/nebo stresovaných kampylobakterů:

- Naočkejte 10 g nebo 10 ml testované části do 90 ml obohacovacího média Bolton Broth tak, abyste získali ředění 1:10.
- Inkubujte v mikroaerobní atmosféře při 37 °C po dobu 4 až 6 hodin, poté při 41,5 °C po dobu 44 ± 4 hodin.
- Pomocí kultury získané z obohacovacího bujónu (Boltonův bujón) naočkejte sterilní kličkou médium CCDA a další selektivní médium *Campylobacter*.
- Inkubujte desky CCDA při 41,5 °C v mikroaerobní atmosféře po dobu 44 ± 4 hodin.
- Potvrďte suspektní kolonie.

U vzorků s nízkým počtem kampylobakterů a vysokou úrovní mikroflóry pozadí:

- Naočkejte 10 g nebo 10 ml testované části do 90 ml obohacovacího média Preston Broth tak, abyste získali ředění 1:10.
- Inkubujte v mikroaerobní atmosféře při 41,5 °C po dobu 14 ± 2 hodin.
- Pomocí kultury získané z obohacovacího bujónu (Preston Broth) naočkejte médium CCDA sterilní smyčkou.
- Inkubujte desky CCDA při 41,5 °C v mikroaerobní atmosféře po dobu 44 ± 4 hodin.
- Potvrďte suspektní kolonie.
- U vzorků s vysokým počtem kampylobakterů:
  - Naočkejte zkušební dávku, pokud je produkt tekutý, nebo počáteční suspenzi v případě jiných produktů (přímé pokovení) na destičky CCDA.
  - Inkubujte desky při 41,5 °C v mikroaerobní atmosféře po dobu 44 ± 4 hodin.
  - Potvrďte suspektní kolonie.
- Metoda přímého nátěru je vhodným postupem pro stanovení počtu kolonií kampylobakterů.

Pokud je o testovaných vzorcích k dispozici málo informací, použijte jednu ze dvou metod obohacování souběžně s metodou přímého pokovování.

Typické kolonie jsou šedavé, často s kovovým leskem, ploché a vlhké, se sklonem k šíření.

Pro potvrzení suspektních kolonií vyšetřete kolonie kampylobakterů na morfologii a pohyblivost pomocí mikroskopu a subkultivujte je na neselektivním krevním agaru a poté je potvrďte detekcí oxidázové aktivity a aerobním růstovým testem při 25 °C.

## Kontrola kvality

Rozpustnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
bez zbytku	Jemný prášek	Černá	Černá	7,4±0,2

## Mikrobiologický test

Podle normy ISO 10273:

Inkubační podmínky: (41,5 ± 1 °C, mikroaerobní prostředí /44 ± 4 h).

Podmínky očkování: Min. 50 CFU) / Produktivita kvantitativní (10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> CFU) / Selektivita (10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU).

Referenční média: 1. Referenční médium. 2. Referenční médium. 3. Referenční médium: TSA

Mikroorganismus	Specifikace	Charakteristická reakce
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Úplná nebo částečná inhibice (0-1)	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Celková inhibice (0)	
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 29428	Dobrý růst (2) >50 %	Šedavý, plochý a vlhký, někdy s kovovým leskem
<i>Campylobacter coli</i> ATCC 43478	Dobrý růst (2) >50 %	Šedavý, plochý a vlhký, někdy s kovovým leskem

## Skladování

Teplota Min.: 2 °C

Teplota Max.: 25 °C

## Bibliografie

Bolton F.J. Hutchinson D.N. y Cioeste D. (1984) clin. Microbiol. 19,169-171 Bolton E.J., Roberstson L. (1982) J. Clin Parth 35, 462-67  
 ISO 10272-1:2017. Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda detekce a stanovení počtu *Campylobacter spp*: Metoda detekce

## Další informace

Nádoba tohoto výrobku se může deformovat v důsledku vysoké adsorpční schopnosti aktivního uhlí obsaženého ve složení.