

Principe

Milieu de placage sélectif utilisé pour la détection et le dénombrement de *Campylobacter* spp selon la norme ISO 10272.

Formule * en g/L

Extrait de viande.....	10,00
Peptone.....	10,00
Chlorure de sodium.....	5,00
Bacteriological charcoal.....	4,00
Casein hydrolysate.....	3,00
Sodium deoxycholate.....	1,00
fer (II) sulfate.....	0,25
Sodium pyruvate.....	0,25
Agar.....	15,00

pH final 7,4 ± 0,2 à 25 °C

*Ajuster et/ou compléter au besoin pour répondre aux critères de performance

Préparation

Suspendre 24,2 g de poudre dans 500 mL d'eau distillée et porter à ébullition pour dissoudre. Stériliser en autoclave à 121 ° C pendant 15 minutes. Refroidir à 47-50 ° C et ajouter de manière aseptique un flacon de *Campylobacter* CCDA Selective Supplement (Art. DSHB3110) Mélanger soigneusement et verser dans des boîtes de Pétri stériles.

Remarque: si les plaques sont préparées à l'avance, elles doivent être conservées au maximum 4 heures à température ambiante ou au maximum 7 jours dans l'obscurité à 3 ± 2 ° C.

Description

La gélose modifiée CCD est formulée conformément à la norme ISO 10272-1: 2006 et est destinée à détecter et dénombrer *Campylobacter* spp dans les aliments et les aliments pour animaux.

Après avoir déterminé que les espèces de *Campylobacter* se développent mieux sur le bouillon nutritif solidifié n ° 2 par rapport à d'autres travailleurs des médias (1983) ont mené une enquête systématique sur les alternatives au sang pour neutraliser la toxicité de l'oxygène. Une combinaison de 0,4% de charbon de bois, 0,25% de sulfate ferreux et 0,25% de pyruvate de sodium s'est avérée la meilleure.

Une autre étude a examiné l'effet suppressif de plusieurs inhibiteurs sur le microbiote indésirable, montrant que le désoxycholate et la céfazoline sont les agents inhibiteurs les plus efficaces. Plus tard, en 1984, Hutchinson et Bolton ont remplacé la céfazoline (10 mg / L) par la céfopérazone (32 mg / L). Cela a permis à moins de contaminants de croître et a permis d'utiliser le milieu modifié (gélose CCD modifiée ou mCCDA) à 37 ° C. Cependant, l'amphotéricine B était nécessaire pour empêcher la prolifération de levures capables de croître à 37 ° C mais pas à 41,5 ± 1 ° C.

En 1993, Aspinall et al. mis au point une modification du mCCDA conçue pour être utilisée à 37 ° C pour isoler *C. upsaliensis* ainsi que les autres espèces de *Campylobacter* thermophiles. Ce milieu contient 8 mg / L de céfopérazone et 4 mg / L de teicoplanine en remplacement de 32 mg / L de céfopérazone dans le mCCDA. La teicoplanine a un spectre antimicrobien similaire à celui de la vancomycine, active principalement contre les bactéries Gram positives. Par comparaison avec le mCCDA, la formulation finale de ce milieu, appelée CAT Agar, a isolé les mêmes nombres de *Campylobacter* spp autres que *C. upsaliensis* des fèces et est supérieure au mCCDA pour *C. upsaliensis* avec une croissance légèrement plus élevée de la microflore concurrente.

Suppléments nécessaires

Supplément sélectif *Campylobacter* CCDA (Art. No. DSHB3110)

Contenu du flacon:

Quantité nécessaire pour 500 ml de milieu complet.

Amphotéricine B 5,00 mg

Céfopérazone 16,00 mg

Eau distillée (solvant)

Utilisation

Immédiatement avant utilisation, sécher soigneusement les plaques de gélose, de préférence avec les couvercles et la surface de gélose vers le bas, dans une armoire de séchage, jusqu'à ce que la surface de gélose soit exempte d'humidité visible (maximum 30 minutes).

En utilisant la culture obtenue à partir du bouillon d'enrichissement (Bouillon Bolton), ensemercer le milieu CCD avec une boucle stérile. Incuber les plaques à 41,5°C en atmosphère microaérobie (environ 5% O₂, 10% CO₂ et 85% N₂ ou H₂), pendant 44 ± 4 heures.

- Les souches de *Campylobacter jejuni* produisent une croissance grise, plate et humide, parfois étalée, qui peut être accompagnée d'une teinte verte et / ou d'un reflet métallique.
- Les souches de *Campylobacter coli* ont tendance à être de couleur gris crème, humides et produisent souvent un type de colonie plus discret.
- Les souches de *Campylobacter lari* sont plus variées et produisent les deux types de morphologie coloniale.
- Des organismes contaminants peuvent parfois se développer sur ce milieu. Il s'agit notamment des *Pseudomonas* spp, des entérobactéries et de certains streptocoques et levures résistants à la céfopérazone.

Contrôle qualité

Température d'incubation: 41,5 ± 1°C

Temps d'incubation: 44 ± 4h

Inoculum: Gamme d'utilisation 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC (Productivité) / 10⁴-10⁶ UFC (sélectivité) selon ISO 11133: 2014 / Amd 1: 2018.

Micro-organismes

Croissance

Remarques

Campylobacter jejuni ATCC® 29428

Productivité > 0.50

Sous atmosphère microaérophilique

Campylobacter coli ATCC® 43478

Productivité > 0.50

Sous atmosphère microaérophilique

Escherichia coli ATCC® 8739

Inhibition partielle

-

Staphylococcus aureus ATCC® 25923

Inhibition totale

-

Références

- ASPINALL, S.T., D.R.A. WAREING, P.G. HAYWARD & D.N. HUTCHINSON (1993) Selective medium for thermophilic campylobacters including *Campylobacter upsaliensis*. J. Clin. Pathol. 46:829-831.
- BAYLIS, C.L., (editor) (2007) Manual of Microbiological Methods for the Food and Drinks Industry. 5th Edition Method 3.3.1:2007. CCFRA .Chipping Campden. U.K.
- BOLTON, F.J. (2000) Methods for isolation of campylobacters from humans, animals, food and water. In "The increasing incidence of human campylobacteriosis" Report and Proceedings of a WHO Consultation of Experts. Copenhagen Denmark 21-25 November 2000, WHO/CDS/ CSRAPH 2001. p. 87-93.
- BOLTON, F.J., D. COATES, (1983) Development of a blood-free campylobacter medium: screening tests on basal media and supplements, and the ability of selected supplements to facilitate aerotolerance. J. Appl. Bacteriol. 54:115-125.
- BOLTON, F.J., D. COATES & D.N. HUTCHINSON (1984) The ability of *Campylobacter* media supplements to neutralize photochemically induced toxicity and hydrogen peroxide. J. Appl. Bacteriol. 56:151-157.
- CORRY, J.E.L., H. IBRAHIM ATABAY, S.J. FORSYTHE & L.P. MANSFIELD (2003) Culture Media for the isolation of campylobacters, helicobacters and arcobacters. In Handbook of Culture Media for Food Microbiologists. J.E.L. Corry et al. (Eds.) Elsevier Science B.V. Amsterdam.
- CORRY, J.E.L., G.D.W. CURTIS & R.M. BAIRD (2003) Handbook of culture media for food Microbiology. Elsevier Sci. B. V. Amsterdam.
- FDA (Food and Drug Administrations) (1998) Bacteriological Analytical Manual. 8th Edition. Revision A. AOAC International. Gaithersburg, Maryland, USA.
- HUNT, J.M., C. ABEYTA & T. TRAN (1998) *Campylobacter*. In FDA BAM 8th Edition (revision A) 7.01-7.027 AOAC International. Gaithersburg, Md, USA.
- HUTCHINSON, D.N. & F.J. BOLTON (1984) Improved blood-free selective medium for the isolation of *Campylobacter jejuni* from faecal specimens. J. Clin Pathol. 37:956-957.
- ISO 10272-1 Standard (2017) Microbiology of the food chain - Horizontal Method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. - Part 1: Detection method.
- ISO 10272-2 Standard (2017) Microbiology of the food chain - Horizontal Method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. - Part 2: Colony count-technique.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- STERN, N.J., J.E. LINE & H.C. CHEN (2001) *Campylobacter* In "Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods" 4th Ed. F.P. Downes & K. Ito (Eds.) APHA, Washington DC. USA.

Conservation

Pour usage professionnel uniquement. À conserver fermé, loin de la lumière, dans un endroit frais et sec (+4°C à 30°C).