Campylobacter Blood-Free Selective Agar Base

관련제품

제품번호	제품명	구성
CM0739B	Campylobacter Blood-Free Selective Agar Base	500 gram

사용목적(Use)

CCDA(SR0155)를 첨가하여 *Campylobacter jejuni, Campylobacter coli, Campylobacter laridis* 의 분리에 사용;
CAT(SR0174)를 첨가하여 분변에서 호열성 *Campylobacter* 종의 분리에 사용하거나 *Campylobacter upsaliensis* 의 회복을 향상시키기 위해 사용.

조성(Typical Formulation)

성분*	gm/litre
Nutrient Broth No.2	25.0
Bacteriological charcoal	4.0
Casein hydrolysate	3.0
Sodium desoxycholate	1.0
Ferrous sulphate	0.25
Sodium pyruvate	0.25
Agar	12.0
pH 7.4 ± 0.2 @ 25°C	
*성능표준을 위해 조절될 수 있음	

조제 (Directions)

CCDA Selective Supplement (SR0155)를 첨가할 경우:

Vial contents (each vial is sufficient for 500ml of medium)	**per vial**	**per litre**
Cefoperazone	16mg	32mg
Amphotericin B	5mg	10mg

500ml 의 정제수 22.75g 의 agar base 를 현탁하고 끓여서 완전히 녹인다. 121°C 에서 15 분간 오토클레이브하여 멸균한다. 50°C 로 식힌 후 설명서에 따라 재구성된 1 바이알의 SR0155 를 첨가한다. 잘 혼합한 후 무균 페트리 접시에 붓는다. (**Modified CCDA Medium**)

CAT Selective Supplement (SR0174)를 첨가할 경우:

Vial contents (each vial is sufficient for 500ml of medium)	**per vial**	**per litre**
Cefoperazone	8.0mg	16.0mg
Teicoplanin	4.0mg	8.0mg
Amphotericin B	10.0mg	20.0mg

500ml 의 정제수 22.75g 의 agar base 를 현탁하고 끓여서 완전히 녹인다. 121°C 에서 15 분간 오토클레이브하여 멸균한다. 50°C 로 식힌 후 설명서에 따라 재구성된 1 바이알의 SR0174 를 첨가한다. 잘 혼합한 후 무균 페트리 접시에 붓는다. (**CAT Medium**)

설명(Description)

Modified CCDA Medium 은 Bolton 등[1] 의 기술한 원래 조성에 기반한다. 이 조성에는 혈액이 charcoal, ferrous sulphate, sodium pyruvate 로 대체되었다. 원래 조성의 cephazolin 을 cefoperazone 으로 대체하여 선택성을 향상시켰다 [2]. 최근 연구에 의하면 평판을 42°C 가 아닌 37°C 에서 배양하면 분리율이 더 상승한다고 한다[3].
Amphotericin B 는 37°C 에서 성장이 가능한 효모 및 사상균같은 오염균의 성장을 억제하기 위해 첨가된다.
Modified CCDA Medium 및 Campy-BAP Medium 은 호열성인 *campylobacters* 의 검출을 위한 신속 colony-lift 방법(한천 배양체에 막을 블로팅한 후 면역분석을 수행)에서 성능면에서는 동일하다[5].
Campylobacter 종 6 의 보균에 대한 건강한 강아지 및 고양이 실험에서, modified CCDA medium 이 적당한 배지이며 *Campylobacter upsaliensis* 의 경우에 CAT medium 보다 더 생산적이다는 것이 밝혀졌다. Modified CCDA Medium 은 비 임상 검체에서 Exeter broth 에서 증균 후에 *Campylobacter* spp.의 분리에 적합합이 확인되었다[7].
영국 MAFF(는 식품에서 *Campylobacter* 의 분리를 위한 검증된 방법에서 Campylobacter Blood-Free Medium 의 사용할 것을 지정하였다[4].

CAT Medium

Campylobacter upsaliensis 가 다양한 항생제들에 민감하기 때문에 선택 배지를 이용하여 분변에서 이 미생물을 분리하는 것은 지금까지 어렵웠다. 권장되는 분리 방법은 비 선택성 배지에서 막 여과 방법을 사용하는 것이다. 이 방법은 10^5 CFU/g 이하가 포함된 분변에서 좋은 회수율을 보여주지 못하며[13], 상대적으로 느리며 기술이 필요한 방법이다.
CAT 첨가제 SR0174 는 Aspinall 등[14] 에 의해 기술된 조성에 기반한다. Charcoal 이 포함된 Blood-Free Campylobacter Agar Base 에 첨가하면 호열성 *Campylobacter* spp.의 분리가 좋아진다. CAT 첨가제는 다른 campylobacter 첨가제들에 비해 cefoperazone 이 적게 포함되어 있기 때문에 *Campylobacter upsaliensis* 의 분리가 선택배지상에서 가능하다. CAT 는 *enterococci* 를 제외하고 대부분의 Enterobacteriaceae 를 억제한다. Teicoplanin 은 *enterococci* 를 억제하기 위해 사용된다. Amphotericin B 는 항균제로써 첨가된다.
추가 연구에 의해 *Campylobacter upsaliensis* 를 포함한 호열성 campylobacters 의 선택적 분리를 위해 막 여과 배양법에 대한 대체 방법으로서 CAT Medium 의 효과성이 확인되었다[15].
Atabay, Corry 그리고 On[16] 는 CAT Medium 을 이용하여 소의 분변에서 이전에 보고되지 않은 catalase-음성, urease-양성 Campylobacter 를 분리하였다. 이 미생물은 Blood-free Campylobacter medium(CCDA Medium)에서는 배양되지 않았다.
CAT medium, blood-free media 그리고 반고형 배지의 생산성을 비교한 연구에서 비 선택성 혈액 한천배지상의 막 여과법과 병행하여

CAT medium 을 사용한 경우 아주 많은 수의 *Campylobacter* 및 *Arcobacter* 종들의 회복이 가능한 가장 생산성있는 방법이었다 [17].

사용(Technique)

Modified CCDA Medium 의 경우

1. 조제법에 따라 Campylobacter Blood-Free Selective Agar 를 조제한다.
2. 약 0.5g 의 검체를 5ml 의 멸균 0.1% peptone water 에 균질화하여 10 배 희석한다.
3. 단일의 분리된 집락을 얻기 위해 면봉 스왑으로 조제한 선택 배지에 접종한다.
4. 평판을 약 5-6%산소, 10% 이산화탄소, 84-85% 질소의 대기조건 (CampyGen CN0025 또는 CN0035 사용)에서 37°C 에서 48 시간 동안 배양한다.

Campylobacter 의 집락 모양이 종 수준까지 동정을 위한 가이드라인으로 사용될 수 있다. *Campylobacter jejuni* 균주는 회색의 습하고 평평한 퍼진 집락을 만든다. 일부 균주들은 녹색 색조나 건조한 모습, 금속성 광택이 있거나 없는 모습을 보여준다. Campylobacter coli 균주는 크림색 회색, 습하고, 약간 융기된 집락을 보여주는 경향이 있고 종종 뚜렷한 집락을 만든다.

집락은 임상 검체에서 처음에 분리되면 떼를 형성하는(swarm) 경향이 있다.

CAT Medium 의 경우, 배양은 비호기적 조건에서 37°C 에서 48-72 시간동안 배양한다.

저장 조건 및 유효기간(Storage conditions and Shelf life)

분말배지: 10-30°C 에서 보관. 라벨에 표시된 유효기한 전 까지 사용

CCDA 첨가제 SR0155: 2~8°C 에서 차광 보관. 라벨에 표시된 유효기한 전 까지 사용.

조제배지 Modified CCDA Medium: 2-8°C 에서 최대 2 주까지 보관.

CAT 첨가제 SR0174 : 2~8°C 에서 차광 보관. 라벨에 표시된 유효기한 전 까지 사용.

성상 (Appearance)

분말배지 : 검정색의 유동성 분말

조제배지 : 검정색 젤

품질관리(Quality Control)

Modified CCDA Medium (37°C 48 시간 배양)	
양성대조군	**예상 결과**
Campylobacter jejuni ATCC® 33291 *	좋은 성장; 회색 집락
음성대조군	**예상 결과**
Escherichia coli ATCC® 25922 *	성장 없음
CAT Medium	
양성대조군	**예상 결과**
Campylobacter upsaliensis ATCC® 43954 *	좋은 성장; 창백한 집락
Campylobacter jejuni ATCC® 33291 *	좋은 성장; 회색 집락
음성대조군	**예상 결과**
Enterococcus faecalis ATCC® 33186	억제됨
* Culti-Loop®로 판매되고 있음	

참고문헌(Reference)

Modified CCDA Medium

1. Bolton, F.J., Hutchinson, D.N. and Coates, D. (1984) J. Clin. Microbiol. 19, 169-171.
2. Hutchinson, D.N. and Bolton, F.J. (1984) J. Clin. Path. 34, 956-957
3. Bolton, F.J., Hutchinson, D.N. and Parker, G. (1988) Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 7. 155-160.
4. MAFF Validated Methods for the Analysis of Foodstuffs: Method for the detection of thermotolerant Campylobacter in Foods (v30) J. Assoc. Publ. Analysts (1993) 29. 253-262.
5. Rice, B.E., Chinta Lamichhane, Joseph, S.W. and Rollins, D.M. (1996) Clin. Diag. Lab. Immunol. 3, 669-677.
6. Hald, B. and Madsen, M. (1997) J. Clin. Microbiol. 35, 3351-3352.
7. Humphrey, T.J., Martin, K.W. and Mason, M.J. (1997) PHLS Microbiology Digest 13 (2), 86-88.

CAT Medium

8. Atabay, I., Corry, J.E.L., Post, D. 8th International Campylobacter Workshop 1995.
9. Sandstedt, K., Ursing, J., Walder, M. (1983). Curr. Microbiol. 8: 209-213.
10. Sandstedt, K. and Ursing, J. (1991). Sys. Appl. Microbiol. 14: 39-45.
11. Patton, C.M., Shaffer, N., Edmonds, P. et al. (1989). J. Clin. Microbiol. 27: 66-73.
12. Goosens, H., Vlaes, L., Butzler, J.P. et al. (1991). Lancet. 337: 1486-7.
13. Bolton, F.J., Hutchinson, D.N., Parker, G. (1987). J. Clin. Pathol. 40: 702-3.
14. Aspinall, S.T., Wareing, D.R.A., Hayward, P.G. and Hutchinson, D.N. (1993). J. Clin. Pathol. 46: 829-831.
15. Aspinall, S.T., Wareing, D.R.A., Hayward, P.G. and Hutchinson, D.N. (1996). J. Appl. Bact. 80: 667-672.
16. Atabay, H.I., Corry, J.E.L. and On, S.L.W. (1997). Lett. Appl. Microbiol. 24: 59-64.
17. Atabay, H.I., Corry, J.E.L. and Post, D.E. (1996). Campylobacters, Helicobacters and Related Organisms. Newell, D.G., Ketley, J.M. and Feldman, R. A. (eds) Part 1-5. Plenum Press, New York.