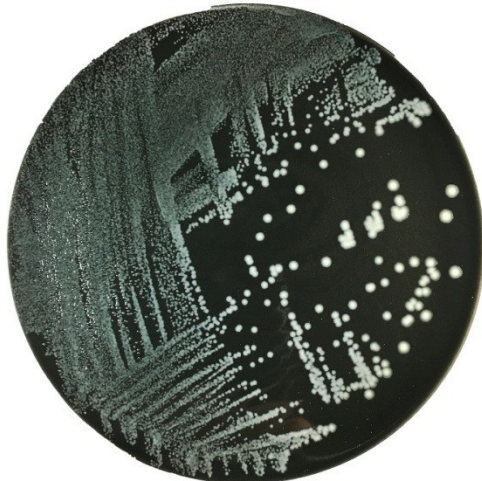


# CAMPYLOBACTER BLOOD FREE AGAR (KARMALI)

## Färdiga plattor



*Campylobacter coli* på  
Campylobacter Blood Free Agar (Karmali)

### 1 - AVSEDD ANVÄNDNING

In vitro-diagnostisk produkt. Selektivt medium för isolering av termotoleranta *Campylobacter* spp. från kliniska och andra prover.

### 2 - SAMMANSÄTTNING - TYPISK FORMEL \*

Peptokomplex	10,000 g
Tryptos	10 000 g
Pepton	3 000 g
Majsstärkelse	1 000 g
Natriumklorid	5 000 g
Kol	4 000 g
Hematin	0,032 g
Natriumpyruvat	0,100 g
Cykloheximid	0,100 g
Agar	14,00 g
Cefoperazon	0,032 g
Vankomycin	0,020 g
Renat vatten	1000 ml

\*Formeln kan justeras och/eller kompletteras för att uppfylla de erforderliga prestandakriterierna.

### 3 - METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Campylobacter-arter är gramnegativa, oxidaspositiva, icke-sporframkallande, S-formade eller spiralformade stavar, 0,2–0,9 µm breda och 0,5–5 µm långa. Organismerna är vanligtvis rörliga tack vare en enda polär, oskyddad flagell i ena eller båda ändarna, vilket ger dem en mycket karakteristisk "korkdragarliknande" rörlighet.<sup>1</sup> En atmosfär med reducerad syrehalt (5 till 6 %) krävs för mikroaerob tillväxt. De arter som oftast förknippas med sjukdom hos människor är värmeteroleranta: de växer vid 42–43 °C och 37 °C, men inte vid 25 °C. *Campylobacter jejuni* subsp. *doylei*, *Campylobacter fetus* och *C. fetus* subsp. *venerealis* växer inte vid 42 °C.<sup>2</sup>

Vid Campylobacter-infektion (campylobakterios) varierar symtomen vanligtvis från inga till allvarliga, inklusive feber, magkramp och diarré (med eller utan blod/vita blodkroppar i avföringen); illamående och kräkningar kan åtfölja diarrén. *C. jejuni* är den oftast erkända infektionen som föregår utvecklingen av Guillain-Barrés syndrom.<sup>1</sup>

Campylobacter-infektioner smittar genom intag av otillräckligt tillagat fjäderfä, skaldjur, kött och grönsaker, genom kontakt med djur och genom att dricka obehandlat vatten eller mjölk. De flesta infektioner orsakas av *C. jejuni* subsp. *jejuni* och *C. coli*. Andra arter som ibland orsakar diarré är *C. lari*, *C. fetus* subsp. *fetus*, *C. jejuni* subsp. *doylei* och *C. upsaliensis*.

Sedan början av 1970-talet, då *C. jejuni* och *C. coli* erkändes som orsak till mag-tarminfektioner i samband med matförgiftning, har flera flytande och plattodlade odlingsmedier utvecklats, ursprungligen avsedda för undersökning av avföring och senare även för påvisande av *Campylobacter* i livsmedel och vatten.<sup>3</sup> De selektiva medierna för isolering av *Campylobacter* består av en icke-selektiv bas som kan användas med eller utan djurblod och av en blandning av antimikrobiella föreningar. Bland de isoleringsmedier som föreslås i litteraturen nämner Corry och Atabay<sup>3</sup> följande medier: Skirrow, Blaser Wang, Preston, mCCD Bolton, mCCD Hutchinson och Bolton, Karmali, Line TTC.

Campylobacter Blood Free Agar (Karmali) framställs enligt den formulering som Karmali utvecklade 1986<sup>4</sup> och är avsedd för isolering av termotoleranta *Campylobacter* spp. från avföring och andra icke-kliniska prover.

Mediet från Karmali *et al.* är en variant av mCCDA från Bolton, Hutchinson och Coats<sup>5</sup>, där hematin används istället för järnsulfat, vankomycin istället för natriumdeoxikolat och cykloheximid istället för amfotericin B.

Medlets selektiva medel är vankomycin, som har en stark hämmande verkan mot grampositiva bakterier, cefoperazon, som främst hämmar tillväxten av gramnegativa bakterier, och cykloheximid, som ingår som ett svampdödande ämne. Kol (som ersättning för animaliskt blod), hematin och natriumpyruvat stimulerar tillväxten av *Campylobacter*, ökar dess aerotolerans och hämmar de toxiska föreningar som bildas under tillväxten.

Karmali-medium (KM) jämfördes med Skirrow-medium (SKM) för återvinning av *C. jejuni* och *C. coli* från avföring från patienter med diarré.<sup>3</sup> Dessa campylobacter-bakterier isolerades från 35 (2,9 %) av 1 227 testade avföringsprover (29 på båda medierna, 5 på enbart KM och en på enbart SKM). När *C. jejuni* och *C. coli* återvanns var tillväxten ren på 29 KM-odlingar (85 %), men endast på 11 SKM-odlingar (37 %). Fullständig undertryckning av "kontaminerande" flora inträffade i 704 KM-odlingar (57 %) jämfört med 426 SKM-odlingar (35 %).

### 4 - FYSISKA EGENSKAPER

Mediumets utseende	svart ogenomskinlig
Slutligt pH vid 20–25 °C	7,4 ± 0,2

### 5 - MEDFÖLJANDE MATERIAL - FÖRPACKNING

Produkt	Typ	REF	Förpackning
Campylobacter Blood Free Agar (Karmali)	Färdiga plattor	541136	2 x 10 plattor ø 90 mm Primärförpackning: 2 cellofanpåsar Sekundärförpackning: kartong



## 6 - MATERIAL SOM KRÄVS MEN SOM INTE MEDFÖLJER

Sterila loopar och svabbprover, inkubator och laboratorieutrustning efter behov, generatorer och burkar för kontrollerad atmosfär, kompletterande odlingsmedier och reagenser för identifiering av kolonierna.

## 7 - PROVER

Fekalprover är att föredra för isolering av *Campylobacter* spp. från patienter med gastrointestinala infektioner, men rektala svabbprover är acceptabla för odling.<sup>3</sup> Samla in prover före antimikrobiell behandling om möjligt. God labororiesed för insamling, transport och förvaring av proverna bör tillämpas. För icke-kliniska prover, se tillämpliga internationella standarder.

## 8 - TESTFÖRFARANDE

Låt plattorna nå rumstemperatur och låt ytan på odlingsmediet torka.

- Fast avföring: avföringen kan spädas ut 1:4 i steril saltlösning eller 0,1 % peptonvatten. Det har visat sig att utspädning avsevärt minskar mängden konkurrerande flora utan att isoleringen av låga antal patogener påverkas.<sup>2</sup> Inokulera 3–5 droppar på mediets yta.
- Flytande avföring: inokulera 3 droppar på mediets yta.
- Rektala svabbprover: rulla svabben över ett litet område på ytan vid kanten; sträck sedan ut från detta inokulerade område.

För alla typer av prover, stryk med en ögla över de fyra kvadranterna på plattan för att få väl isolerade kolonier, och se till att sektionerna 1 och 4 inte överlappar varandra.

Inkubera i en mikroaerob atmosfär bestående av cirka 5 % O<sub>2</sub>, 10 % CO<sub>2</sub> och 85 % N<sub>2</sub>, vid 39–42 °C i 40–48 timmar.<sup>2</sup>

## 9 - AVLÄSNING OCH TOLKNING

Efter inkubation observera bakterietillväxten och notera koloniernas specifika morfologiska och kromatiska egenskaper. *Campylobacter*-kolonier är vanligtvis grå/vita eller krämgrå till färgen, svärmande och fuktiga till utseendet. De kan se ut som ett tillväxtlager över agarens yta. Kolonierna är vanligtvis icke-pigmenterade.

*Campylobacter*-arter är oxidaspositiva. Om en koloni som fenotypiskt liknar *Campylobacter*-arter är oxidasnegativ, subkultivera till blodagar och testa igen efter 24 timmars inkubation.<sup>6</sup>

En preliminär identifiering av termofila och enteropatogena *Campylobacter* kan göras på basis av oxidas-test (+) och den karakteristiska rörligheten. För en fullständig förklaring av identifieringskriterierna och metoderna, se den angivna referensen.<sup>6</sup>

## 10 - ANVÄNDARKVALITETSKONTROLL

Alla tillverkade partier av produkten släpps ut för försäljning efter att kvalitetskontroll har utförts för att kontrollera att specifikationerna uppfylls. Slut användaren kan dock utföra sin egen kvalitetskontroll i enlighet med lokala tillämpliga bestämmelser, i enlighet med ackrediteringskrav och laboratoriets erfarenhet. Nedan listas några teststammar som är användbara för kvalitetskontroll.

KONTROLLSTAMMAR	INKUBATIONSTEMPERATUR/T/ATM	FÖRVÄNTADE RESULTAT
<i>C. jejuni</i> ATCC 33291	39–42 °C / 40–48 timmar / M	god tillväxt
<i>C. coli</i> ATCC 43478	39–42 °C / 40–48 timmar / M	god tillväxt
<i>E. coli</i> ATCC 25922	39–42 °C / 40–48 timmar / M	delvis eller helt hämmad
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	39–42 °C / 40–48 timmar / M	hämmad

M: mikroaerob inkubation; ATCC är ett varumärke som tillhör American Type Culture Collection

## 11 - PRESTANDAEGENSKAPER

Innan produkten släpps ut på marknaden testas ett representativt urval av alla färdiga plattor med *Campylobacter* Blood Free Agar (Karmali) och av de råvaror som används för tillverkningen av de färdiga plattorna (dehydrerad *Campylobacter* Blood Free Medium Base Karmali, REF 401283, kompletterat med Karmali Antimicrobial Supplement, REF 4240035), testas med avseende på produktivitet och selektivitet genom att resultaten jämförs med tidigare godkända referenspartier.

Produktiviteten testas genom ett kvantitativt test med målstammarna *C. coli* ATCC 43478 och *C. jejuni* ATCC 33291. Karmali-plattorna inokuleras med decimala utspädningar i saltlösning av koloniernas suspensioner och inkuberas vid 39–42 °C i 40–48 timmar i mikroaerob atmosfär. Kolonierna räknas på testbatchen (TB) och referensbatchen (RB) och produktivitetsförhållandet ( $Pr=CFU_{TB}/CFU_{RB}$ ) beräknas. Om  $Pr$  är  $\geq 0,7$  anses resultaten vara acceptabla och överensstämna med specifikationerna.

Selektiviteten utvärderas med modifierad Miles-Misra-ytdroppmetod genom att inokulera plattorna med lämpliga decimala utspädningar i saltlösning av en 0,5 McFarland-suspension av icke-målstammarna *C. albicans* ATCC 18804, *E. coli* ATCC 8739, *S. aureus* ATCC 25823, *E. faecalis* ATCC 19433. Efter inkubation vid 39–42 °C i 72 timmar är *C. albicans* delvis hämmad, medan tillväxten av andra icke-målstammar är helt hämmad. *Campylobacter* Blood Free Agar (Karmali) jämfördes med CCDA Preston-medium av Varoli et al.<sup>7</sup> med 198 avföringsprover. *Campylobacter* spp. återfanns i 8 prover på båda medierna, men på Karmali-mediet hittades 5 isolat i ren odling, medan det på CCDA Preston endast hittades 2 isolat. Inga signifikanta skillnader konstaterades mellan de två medierna vad gäller tillväxten av mikrobiell kontaminerande flora av jäst och gramnegativa baciller; Karmali-mediet har utvärderats som mer hämmande för tillväxten av grampositiva bakterier.

Noggrannheten bedömdes genom granskning av kvalitetskontrolluppgifterna. Resultaten från 30 batcher som producerats mellan 10/1/2019 och 19/5/2020 utvärderades. 100 % av batcherna visade överensstämmelse med definierade acceptanskriterier när det gäller produktivitet med målstammar och selektivitet med icke-målstammar.

## 12 - METODENS BEGRÄNSNINGAR

- De vanligaste föroreningarna som finns i Karmali-mediet är *Enterobacteriaceae*, som är resistent mot cefoperazon när de förekommer i stora mängder, särskilt *Klebsiella oxytoca*.<sup>1</sup>
- För att uppnå högsta möjliga utbyte av *Campylobacter* från avföringsprover verkar en kombination av medier som inkluderar Karmali-medium och ett andra selektivt medium, baserat på ett annat selektivt system, vara den optimala metoden (t.ex. Skirrow-medium).<sup>8</sup>
- En förlängning av inkubationstiden från 48 till 72 timmar leder till en ökning av isoleringsgraden.<sup>8</sup>
- Blodfria formuleringar (t.ex. Karmali, CCDA) verkar ha bättre prestanda än blodhaltiga medier.<sup>3</sup>
- Den kliniska fördelen med berikningsbuljonger som är framtagna för att förbättra återvinningen av *Campylobacter* har inte studerats tillräckligt.<sup>3</sup> Berikning verkar inte vara nödvändigt för prover som samlats in i den akuta fasen av campylobakterier, medan återvinningen av *Campylobacter*





ökar hos asymptomatiska patienter, i studier med låga antal av målorganismen, i prover som inte skickas direkt till laboratoriet och i prover som tas i konvalescensfasen efter en episod av diarré.<sup>9,10</sup>

- Enheten är inte avsedd för att diagnostisera infektioner eller som vägledning för antimikrobiell behandling. Den används i en diagnostisk undersökningsserie för att tillhandahålla mikrobiella kolonier isolerade från kliniska prover från patienter med misstänkt gastrointestinal infektion. Lämpliga tester krävs för fullständig identifiering och epidemiologisk typning av kolonier. Vid behov ska antimikrobiella känslighetstester utföras med rekommenderade metoder.
- Tillväxten på mediet beror på varje mikroorganismers metaboliska behov och på resistensen mot de antimikrobiella ämnen som finns närvarande; vissa målstammar kanske inte kan växa eller kan uppvisa en fördröjd tillväxt. Bristande tillväxt eller frånvaro av typiska kolonier utesluter inte förekomsten av *Campylobacter* i provet. Därför rekommenderas samtidig användning av andra odlingsmedier för att återvinna patogener i provet.

### 13 - FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

- Denna produkt är en kvalitativ *in vitro*-diagnostisk produkt avsedd endast för professionellt bruk, är inte automatiserad och är inte ett kompletterande diagnostiskt verktyg. Den måste användas av adekvat utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal, med iakttagande av försiktighetsåtgärder mot biologiska risker och aseptiska tekniker.
- Denna produkt är inte klassificerad som farlig enligt gällande europeisk lagstiftning.
- Detta odlingsmedium innehåller råmaterial av animaliskt ursprung. Därför rekommenderas att de färdiga plattorna behandlas som potentiellt smittsamma och hanteras med sedvanliga särskilda försiktighetsåtgärder: få inte i dig, andas inte in och låt inte komma i kontakt med hud, ögon eller slemhinnor. Ladda ner TSE-uttalandet från webbplatsen [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it), där de åtgärder som vidtagits för att minska risken för smittsamma djursjukdomar beskrivs.
- Alla laboratorieprover ska betraktas som smittsamma.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika föroreningar såsom odlingsmedium eller mikrobiella agens.
- Varje platta med detta odlingsmedium är endast avsedd för engångsbruk.
- Färdiga plattor ska inte betraktas som en "steril produkt" eftersom de inte genomgår slutsterilisering, utan som en produkt med kontrollerad biologisk kontaminering, inom gränserna för de specifikationer som anges i kvalitetskontrollcertifikatet.
- Sterilisera allt biologiskt farligt avfall före bortskaftande och kassera oanvänt medium och steriliserade plattor som inokulerats med prover eller mikroorganismer i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Analyscertifikaten och säkerhetsdatabladet för produkten finns tillgängliga på webbplatsen [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it).
- Meddela tillverkaren ([complaint@biolifeitaliana.it](mailto:complaint@biolifeitaliana.it)) och berörda myndigheter om allvarliga incidenter som inträffar i samband med användningen av *in vitro*-diagnostik.
- Tillverkaren kan inte hållas ansvarig för förlust eller skada som på något sätt uppstår till följd av eller i samband med användning av produkten på ett sätt som inte överensstämmer med de medföljande anvisningarna.

### 14 - FÖRVARINGSFÖRHÅLLANDEN OCH HÅLLBARHET

Vid mottagandet ska plattorna förvaras i sin originalförpackning vid 2–8 °C och skyddas från direkt ljus. Om de förvaras på rätt sätt kan plattorna användas fram till utgångsdatumet. Använd inte plattorna efter detta datum. Plattor från öppnade plastpåsar kan användas i 7 dagar om de förvaras i en ren miljö vid 2–8 °C. Använd inte plattorna om plastpåsen är skadad eller om skålen är trasig. Använd inte plattor som visar tecken på försämring (t.ex. mikrobiell kontaminering, uttorkning, krympning eller sprickbildning i mediet, onormal färg, överdriven fuktighet).

### 15 - REFERENSER

- Corry JEL, Atabay HI. Culture Media for the Isolation of Campylobacters, Helicobacters and Arcobacters. *in Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology*, Edited by Corry JEL, Curtis GDW, Baird RM. Published by the Royal Society of Chemistry, 3rd Edition 2012.
- Public Health England. Investigation of Faecal Specimens for Enteric Pathogens. ID30. Issue 8.1. 2014
- Fitzgerald C, Nachamkin I. Campylobacter and Arcobacter. In Jorgensen JH, Carroll KC, Funke G et al. editors. *Manual of clinical microbiology*, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.998.
- Karmali, M.A., Simor, A.E., Roscoe, M., Fleming, P.C., Smith, S.S., Lane, J. (1986) *J. Clin. Microbiol.* 21, 456-59
- Bolton FJ, Hutchinson DN, Coates D. A blood-free selective medium for the isolation of *C. jejuni* from faeces. *J Clin Microbiol* 1984; 19:169.
- UK Health Security Agency. UK Standards for Microbiology Investigations. Identification of Campylobacter species. ID23. Issued date 31.07.25.
- Varoli, O., Gatti M. (1989) Personal communication.
- Endtz HP, Ruijs GJ, et al. Comparison of six media including a semisolid agar for the isolation of various Campylobacter species from stool specimens. *J Clin Microbiol* 1991; 29:1007
- Bolton FJ, Robertson L. A selective medium for isolating Campylobacter jejuni/coli. *J Clin Pathol* 1982; 35:462
- Hutchinson DN, Bolton FJ. Is enrichment culture necessary for the isolation of Campylobacter jejuni from faeces? *J Clin Pathol* 1983; 36:1350-1352

#### TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

 Katalognummer	 Batchnummer	 In vitro-diagnostisk medicinteknisk produkt	 Tillverkare	 Denna sida uppåt	 Endast för engångsbruk	 Europeiskt märkning för överensstämmelse
 Temperaturbegränsningar	 Innehållet räcker till <n> tester	 Se elektroniska bruksanvisningar	 Använd före	 Förvaras skyddat från solljus	 Ömtåligt, hantera varsamt	 Unikt enhets-ID

#### REVISIONSHISTORIK

Version	Beskrivning av ändringar	Datum
Revision	Uppdaterad layout och innehåll i enlighet med IVDR 2017/746	2020/08
Revision 3	Borttagning av föråldrad klassificering	2023/03
Revision 4	Princip för metoden och förklaring av förfarandet, prestandaegenskaper, begränsningar för metoden, försiktighetsåtgärder och varningar, referenser, tabell över tillämpliga symboler.	2025/11

Observera: mindre typografiska, grammatiska och formateringsändringar ingår inte i revisionshistoriken.

