

Base de Caldo Bolton para Enriquecimiento Selectivo ISO

Cat. 1441

Para el preenriquecimiento selectivo de *Campylobacter* en muestras de alimentos.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Enriquecimiento selectivo	<i>Campylobacter</i>

Industria: Alimentación

Regulaciones: ISO 10272 / ISO 11133

Principios y usos

Caldo Bolton para Enriquecimiento Selectivo se usa para el preenriquecimiento selectivo de *Campylobacter* en muestras de alimentos con bajo número de *Campylobacter* y bajo nivel de microflora acompañante y/o *Campylobacter* resistentes. Está recomendado por la ISO 10272.

El género *Campylobacter* son bacterias microaerófilas Gram negativas que pueden estar presente en la leche, agua no tratada o alimentos poco cocinados.

Los organismos lesionados generalmente no se detectan y, por tanto, debe incluirse un paso de recuperación en los procedimientos de examen. Esto tiene especial importancia en la industria alimentaria ya que fenómenos como el calor, la desecación, los procesos de conservación, los cambios de pH, etc., causan lesiones subletales a *Campylobacter*. El caldo es rico en nutrientes y produce altas tasas de resucitación para bacterias lesionadas letalmente y un crecimiento intenso.

La peptona de carne proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El hidrolizado de lactoalbúmina proporciona nitrógeno, aminoácidos, vitaminas y carbono y está especialmente indicado para los medios de cultivo para el crecimiento de *Campylobacter*. El extracto de levadura es fuente de vitaminas, particularmente del grupo B. El cloruro de sodio suministra electrolitos esenciales para el transporte. El ácido alfa-cetoglutarato se incorpora para satisfacer los requisitos nutricionales específicos de las especies de *Campylobacter*. El piruvato de sodio es una fuente de energía para el metabolismo bacteriano y ayuda en la resucitación de organismos estresados. El carbonato de sodio es un regulador de pH. La hemina proporciona factor X, que estimula el crecimiento de muchos microorganismos. Con la adición del Suplemento Selectivo Bolton, se inhiben las bacterias gram positivas acompañantes debido a la trimetropina. La vancomicina, cefoperazona y trimetropina inhibe las bacterias gram-negativas y los mohos y levaduras se inhiben por la presencia de cicloheximida.

Fórmula en g/L

Alfa-cetoglutarato	1	Hemina	0,01
Carbonato sódico	0,6	Cloruro sódico	5
Metabisulfito sódico	0,5	Piruvato sódico	0,5
Extracto de levadura	5	Digerido enzimático de tejido animal	10
Hidrolizado de lactoalbúmina	5		

Preparación

Suspender 13,8 gramos de medio en 475 ml de agua destilada. Mezclar bien y disolver por calentamiento con agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta disolver por completo. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Enfriar a <47 °C y agregar asépticamente un vial del Suplemento Selectivo Bolton (Cat. 6070) y 25 ml de sangre estéril lisada de caballo. Homogenizar suavemente y dispensar en tubos.

Instrucciones de uso

Para la detección y enumeración de *Campylobacter* spp. para muestras con bajo número de *Campylobacter* y bajo nivel de microflora acompañante y/o *Campylobacter* estresados:

- Agregar la porción de muestra al medio de enriquecimiento líquido Caldo Bolton. En general, para preparar la suspensión inicial, combinar una cantidad de 10 g o 10 ml de la muestra con 90 ml del caldo Bolton.
- Incubar en una atmósfera microaerobia a 37 °C durante 4 a 6 h, luego a 41,5 °C durante 44 ± 4 h.
- A partir del cultivo de enriquecimiento obtenido, inocular dos medios selectivos, agar CCDA (Cat. 1129) y cualquier otro medio selectivo que utilice diferentes principios selectivos.

- Incubar los medios sólidos selectivos a 41,5 °C en una atmósfera microaerobia durante 44 h para detectar la presencia de colonias sospechosas de *Campylobacter*.
- Examinar las colonias sospechosas de *Campylobacter* para determinar su morfología y movilidad con un microscopio y subcultivarlas en un agar sangre no selectivo, y confirmar mediante la detección de la actividad oxidasa y una prueba de crecimiento aeróbico a 25 °C.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Beige	Ámbar oscuro. Con sangre: rojo cereza	7,4 ± 0,2

Test microbiológico

De acuerdo con ISO 11133:

Condiciones de incubación: (37±1 °C / 5±1 h, luego 41,5±1 °C / 44±4 h, atmósfera microaeróbica).

Condiciones de inoculación: Microorganismos objetivo (<100 CFU) / Microorganismo no objetivo (> 1000 CFU) / Selectividad (10⁴-10⁶ CFU).

Microorganismos	Especificación	Reacción característica
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	Inhibición total (0) en TSA	
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 29428 + <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 + <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	> 10 colonias características en CCDA	Grisáceas, planas y húmedas, a veces con brillo metálico
<i>Campylobacter coli</i> ATCC 43478 + <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 + <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	> 10 colonias características en CCDA	Grisáceas, planas y húmedas, a veces con brillo metálico
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Inhibición total (0) en TSA	

Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C

Temp. Max.: 25 °C

Bibliografía

- ISO 10272-1:2017 Microbiology of the food chain. Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. . Part 1: Detection method
 Post, D. E. (1995). Food-Borne Pathogens Monograph Number 3 *Campylobacter*.
 Bolton, F.J. (1995) Personal communication.
 Hunt, J.M. (1998) *Campylobacter*. In: F.D.A. Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition (Revision A) 7.01-7.27. AOAC, Arlington Va.