

Especificación

Medio de cultivo líquido usado para el enriquecimiento de *Campylobacter* en muestras de alimentos, de acuerdo a la norma ISO 10272, después de añadir los suplementos.

Presentación

10 Frascos
Botellas 250 ml
con: 225 ± 5 ml

Encajado

1 caja con 10 botellas 250 ml .tapón metálico- no
pinchable .

Caducidad Almacenamiento

12 meses 8-14°C

Composición

Composición (g/l):

Peptona de carne..... 10,00
Lactalbúmina hidrolizada..... 5,00
Extracto de levadura..... 5,00
Cloruro sódico..... 5,00
Ácido α -Cetoglutárico..... 1,00
Carbonato sódico..... 0,60
Piruvato sódico..... 0,50
Metabisulfito sódico..... 0,50
Hemina..... 0,01

Nota: para completar el medio base añadir al 5%
sangre lisada de caballo y el Suplemento
Selectivo de *Campylobacter* según Bolton.

Descripción/Técnica

Descripción:

El Caldo de Bolton está pensado para el enriquecimiento de *Campylobacter* de muestras de alimentos. El procesado y la conservación de los productos alimentarios dañan las células de *Campylobacter* y la fase de recuperación a dos temperaturas en el Caldo Selectivo estimula su crecimiento.

La peptona de carne y la lactalbúmina hidrolizada proporcionan el carbono y nitrógeno necesarios para el crecimiento. El cloruro sódico da la presión osmótica y el carbonato sódico neutraliza la acidez que se genera con el crecimiento. El extracto de levadura y el ácido cetoglutárico proporcionan los factores de crecimiento, mientras que la inclusión del metabisulfito y el piruvato junto con la hemina bloquean los productos tóxicos y el peróxido de hidrógeno inducidos fotoquímicamente en el medio de cultivo y hacen casi innecesaria la atmósfera microaerófila. La sangre lisada de caballo es necesaria para neutralizar los antagonistas del trimetoprim presentes en el medio de cultivo.

La selectividad de la fase de enriquecimiento a dos temperaturas se optimiza con la adición de los antibióticos del Suplemento Selectivo: La vancomicina actúa contra las bacterias Gram positivas y la cefoperazona lo hace sobre todo contra las Gram negativas. El trimetoprim es de amplio espectro de acción y actúa contra una gran variedad de gérmenes, tanto Gram positivos como Gram negativos. La cicloheximida o la anfotericina B son dos eficaces fungicidas con acción sobre las levaduras.

Técnica de uso recomendada:

Diluir una cantidad (masa o volumen) de muestra en un volumen de Caldo de Bolton nueve veces mayor para obtener una dilución de la muestra 1:10. Homogeneizar e incubar a 37°C durante 4-6 horas y luego a 41,5°C durante 44 ± 4 horas.

El Caldo de Enriquecimiento Selectivo de Bolton no precisa la incubación en atmósfera microaerófila, pero debe usarse en recipientes herméticos con tapón roscado y llenados con medio de Bolton de forma que dejen un espacio de cabeza inferior a 20 mm. Asegurar que los tapones quedan bien roscados.

Para las técnicas de aislamiento e identificación se remite a cualquiera de los métodos de referencia (ISO, BAM, CCFRA).

Nota: para completar el medio base añadir al 5% sangre lisada de caballo y el Suplemento Selectivo de *Campylobacter* según Bolton.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Pardo

pH: 7,4 ± 0,2 a 25°C

Control de Fertilidad

Dosificar Tubos - Inocular 100±20 UFC para Productividad o 10⁴-10⁶ UFC para Selectividad.

Microaerofilia. 37°C ± 1 durante 5h±1; después 41,5°C±1 durante ± 44h ±4

Realizar Subcultivo tras incubación en medios adecuados

Microorganismo

Campylobacter jejuni ATCC® 29428, WDCM 00156

Escherichia coli ATCC® 8739, WDCM 00012

Proteus mirabilis ATCC® 29906, WDCM 00023

Desarrollo

Bueno - Características coloniales típicas

Inhibido

Inhibido

Control microbiológico según EN ISO 11133:2014

Control de Esterilidad

Incubación 48 horas a 30-35°C v 48 horas a 20-25°C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones

Bibliografía

- BAYLIS, C.L., (editor) (2007) Manual of Microbiological Methods for the Food and Drinks Industry. 5th ed. Method 3.3.1:2007. CCFRA. Chipping Campden. UK.
- 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, P.M. HINCHCLIFFE & L. ROBERTSON (1983) Comparison of selective media for isolation of Campylobacter jejuni/coli. J. Clin. Pathol. 36:78-83.
- 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.
- DOYLE, M.P. & D.J. ROMAN (1982) Recovery of Campylobacter jejuni and C. coli from inoculated foods by selective enrichment. Appl. Environm. Microbiol. 43:1343-1353.
- FDA (Food and Drug Administrations) (1998) Bacteriological Analytical Manual. 8th ed. Revision A. AOAC International. Gaithersburg. Maryland. USA.
- HUNT, J.M., C. ABEYTA & T. TRAN (1998) Campylobacter. In: FDA BAM 8th ed. (revision A) 7.01-7.027 AOAC International. Gaithersburg. MD. USA.
- 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.