



Especificación

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

Fórmula * en g/L

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

pH final a 25 °C, 7,4 ±0,2

*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación

Reconstitución

Disolver 13,8 g del polvo en 475 mL de agua destilada, calentando si fuera necesario. Esterilizar al autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar hasta 47-50°C y aseptícamente, añadir 25 mL de sangre de caballo lisada y un vial del Suplemento Selectivo *Campylobacter* Bolton (Ref. DSHB3033). Homogeneizar y distribuir en los recipientes definitivos.

Nota: Si el caldo de enriquecimiento se prepara con antelación, no debe mantenerse más de 4 horas a temperatura ambiente ni más de 7 días a la oscuridad y refrigerado 3 ± 2°C.

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 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 (Ref. DSHB3033): 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.

Suplemento necesario

Suplemento Selectivo de *Campylobacter* según Bolton (Ref. DSHB3033)

Composición por vial:

Cantidad necesaria para 500 mL de medio completo.

Vancomicina.....	10,0 mg
Cefoperazona.....	10,0 mg
Trimetoprim.....	10,0 mg
Cicloheximida.....	25,0 mg

Agua destilada (Disolvente)

Técnica

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).



Control de calidad

Temperatura de incubación: 37°C ±1 / 41,5°C ±1 **Tiempo de incubación :** 5 h ± 1 / 44 ±4 h

Inóculo: Rango práctico 100 ± 20 UFC ; Min. 50 UFC (Productividad) / 10⁴-10⁶ CFU (Selectividad) según UNE-EN ISO 11133:2014/Amd 1:2018 . Atmósfera microaeróbica.

Microorganismo	Crecimiento	Observaciones
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC® 29428 a veces brillo metálico.	Buena recuperación en CCDA ≥ 10 CFU	Colonias grises planas , húmedas
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739	Inhibido en TSA	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 29906	Inhibido en TSA	-
ATCC® 29428 + 8739 +29906 a veces brillo metálico.	Buena recuperación en CCDA ≥ 10 CFU	Colonias grises planas , húmedas

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.

Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco y seco (entre 4°C y 30 °C).