

Sinonimia

mCCDA

Especificación

Medio sólido selectivo utilizado para la detección y enumeración de *Campylobacter spp.*, de acuerdo a la norma ISO 10272.

Fórmula * en g/L

Extracto de carne.....	10,00
Peptona.....	10,00
Cloruro sódico.....	5,00
Carbón activo.....	4,00
Hidrolizado de caseína.....	3,00
Desoxicolato sódico.....	1,00
Sulfato ferroso.....	0,25
Piruvato sódico.....	0,25
Agar.....	15,00

pH final a 25 °C, 7,4 ± 0,2

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

Reconstitución

Suspender 24,2 g del polvo en 500 mL de agua destilada y llevar a ebullición hasta su disolución completa. Esterilizar al autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar hasta 47-50°C y añadir asépticamente un vial del Suplemento Selectivo *Campylobacter* CCDA (Ref. DSHB3110). Mezclar cuidadosamente y verter en placas de Petri.

Nota: Si se preparan las placas con antelación a su uso previsto debe tenerse en cuenta que no deben permanecer a temperatura ambiente más de 4 h ni más de 7 días en la oscuridad refrigeradas a 3 ± 2°C.

Descripción

El Agar Modificado CCD se ha formulado de acuerdo a la norma ISO 10272-1:2006 y está pensado para la detección y enumeración de *Campylobacter spp.* en muestras de alimentos y piensos.

Tras verificar que, en comparación con otros medios-base, los campilobacters crecían mejor en caldo nutritivo N.º 2, Bolton y colaboradores, en 1983, llevaron a cabo una prospección sistemática de posibles alternativas a la sangre como agente neutralizante de la toxicidad del oxígeno. Encontraron que la mejor combinación estaba constituida por un 0,4% de carbón activo, un 0,25% de sulfato ferroso y un 0,25% de piruvato sódico.

Un posterior estudio sobre el efecto supresor sobre la microbiota indeseable por parte de diferentes inhibidores, les llevó a escoger como mejor combinación la de cefazolina y Desoxicolato sódico. Más tarde, en 1984, Hutchinson y Bolton reemplazaron la cefazolina (10 mg/L) por Cefoperazona (32 mg/L). Esto dejaba crecer menos contaminantes y permitía que el medio así modificado (Agar Modificado CCD o mCCDA) se pudiera usar a 37°C en lugar de 41,5±1°C. Sin embargo, ello obligaba a incluir anfotericina B para impedir el sobrecrecimiento de las levaduras que quedaban reprimidas a 41,5±1°C pero que crecían fácilmente a 37°C.

En 1993, Aspinall *et al.* desarrollaron otra modificación del CCDA modificado, para aislar *C. upsaliensis* y otros campilobacters termófilos, diseñada para utilizarse a 37°C. Este medio, que llamaron CAT Agar contiene 8 mg/L de cefoperazona y 4 mg/L de teicoplanina, que reemplazan los 32 mg/L de cefoperazona del CCDA modificado. La teicoplanina tiene un espectro antimicrobiano similar al de la vancomicina, activa sobre todo, contra las bacterias Gram positivas. En comparación con el CCDA modificado, el Medio CAT aísla números equivalentes de *Campylobacter spp.* distintos a *C. upsaliensis* a partir de heces, y resulta superior al CCDA modificado para *C. upsaliensis*, con un crecimiento ligeramente mayor de la microbiota competidora.

Suplemento necesario

Suplemento Selectivo de *Campylobacter* según CCDA (Ref. DSHB3110)

Composición por vial:

Cantidad necesaria para 500 mL de medio completo.

Cefoperazona..... 16,00 mg

Amfotericina B..... 5,00 mg

Agua destilada (Disolvente)

Técnica

Inmediatamente antes de su uso, las placas se deben secar cuidadosamente, sin la cubierta y con la superficie del agar hacia abajo, en una cabina de secado, hasta que la superficie del agar se vea libre de humedad (máximo 30 minutos). A partir del crecimiento obtenido en el caldo de enriquecimiento (Caldo Bolton) se inocula con un asa la superficie seca del medio de aislamiento (CCDA modificado). Las placas sembradas se incuban a 41,5°C en una atmósfera microaeróbica (aproximadamente 5% de O₂, 10% de CO₂ y 85% de N₂ o de H₂), durante un periodo de 44 ± 4 h.

- *Campylobacter jejuni* produce un crecimiento plano, húmedo, gris y ocasionalmente se puede esparcir formando un velo que suele estar acompañado de un matiz verdoso y/o brillo metálico.
- *Campylobacter coli* frecuentemente produce colonias de tipo más discreto, húmedas y de color gris-crema.
- *Campylobacter lari* es mucho más variable y puede producir ambos tipos de morfología colonial.
- Ocasionalmente pueden crecer organismos contaminantes en este medio. Entre ellos, los más frecuentes son *Pseudomonas spp* resistentes a la Cefoperazona, Enterobacteriáceas, algunos estreptococos y levaduras.

Control de calidad

Temperatura de incubación: 41,5 ± 1°C

Tiempo de incubación : 44 ± 4h

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

Microorganismo

Campylobacter jejuni ATCC® 29428

Campylobacter coli ATCC® 43478

Escherichia coli ATCC® 8739

Staphylococcus aureus ATCC® 25923

Crecimiento

Productividad > 0,50

Productividad > 0,50

Inhibición parcial

Inhibición total

Observaciones

Bajo condiciones microaerófilas

Bajo condiciones microaerófilas

-

-

Bibliografía

- ASPINALL, S.T., D.R.A. WAREING, P.G. HAYWARD & D.N. HUTCHINSON (1993) Selective medium for thermophilic campylobacters including *Campylobacter upsaliensis*. J. Clin. Pathol. 46:829-831.
- BAYLIS, C.L., (editor) (2007) Manual of Microbiological Methods for the Food and Drinks Industry. 5th Edition Method 3.3.1:2007. CCFRA .Chipping Campden. U.K.
- 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, (1983) Development of a blood-free campylobacter medium: screening tests on basal media and supplements, and the ability of selected supplements to facilitate aerotolerance. J. Appl. Bacteriol. 54:115-125.
- 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.
- CORRY, J.E.L., G.D.W. CURTIS & R.M. BAIRD (2003) Handbook of culture media for food Microbiology. Elsevier Sci. B. V. Amsterdam.
- FDA (Food and Drug Administrations) (1998) Bacteriological Analytical Manual. 8th Edition. Revision A. AOAC International. Gaithersburg, Maryland, USA.
- HUNT, J.M., C. ABEYTA & T. TRAN (1998) *Campylobacter*. In FDA BAM 8th Edition (revision A) 7.01-7.027 AOAC International. Gaithersburg, Md, USA.
- HUTCHINSON, D.N. & F.J. BOLTON (1984) Improved blood-free selective medium for the isolation of *Campylobacter jejuni* from faecal specimens. J. Clin Pathol. 37:956-957.
- 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).