



Principe

Milieu de culture liquide utilisé pour l'enrichissement de *Campylobacter* à partir d'échantillons alimentaires selon la norme ISO.

Formule * en g/L

Peptone de viande.....	10.00
Hydrolysate de lactalbumine.....	5.00
Extrait de levure.....	5.00
Chlorure de sodium.....	5.00
Sodium pyruvate.....	0.50
Sodium metabisulfite.....	0.50
Sodium carbonate.....	0.60
α -Ketoglutaric acid.....	1.00
Hémine.....	0.01

pH final 7,4 \pm 0,2 à 25 °C

*Ajuster et/ou compléter au besoin pour répondre aux critères de performance

Préparation

Dissoudre 13,8 g de poudre dans 500 mL d'eau distillée, en chauffant si nécessaire. Stériliser à l'autoclave à 121 ° C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 47-50 ° C, ajouter 25 mL de sang de cheval lysé de manière aseptique, et le contenu d'un flacon de supplément sélectif de *Campylobacter* Bolton (Réf. DSHB3033) Mélanger à fond et distribuer le milieu complet dans des récipients appropriés.

Remarque: si le bouillon d'enrichissement a été préparé à l'avance, il doit être conservé au maximum 4 heures à température ambiante ou à l'obscurité à 3 \pm 2 ° C pendant au plus 7 jours.

Description

La Bouillon de Bolton est destinée à l'enrichissement de *Campylobacter* à partir d'échantillons alimentaires. La transformation et la conservation des aliments endommagent les cellules de *Campylobacter* et les étapes de réanimation par une double incubation dans le bouillon de Bolton les encouragent à se multiplier et à se développer.

La Peptone de viande et l'hydrolysate de lactalbumine fournissent le carbone et l'azote nécessaires à la croissance. Le chlorure de sodium assure l'équilibre osmotique et le carbonate de sodium neutralise l'acidité générée par la croissance microbienne. L'extrait de levure et l'acide cétoglutarique agissent comme des facteurs de croissance. L'inclusion de metabisulfite de sodium, de pyruvate de sodium et d'hémine neutralise les composés toxiques qui peuvent se former dans le milieu de culture en raison de l'action de l'oxygène et évite la nécessité d'une atmosphère microaérobie. Le sang lysé est nécessaire pour neutraliser les antagonistes du triméthoprimé présents dans le milieu.

La sélectivité de l'étape d'enrichissement est optimisée avec le Supplément Sélectif (Réf. DSHB3033): la vancomycine est active contre les microorganismes Gram positifs. La céfopérazone est principalement active contre les bactéries à Gram négatif. Le triméthoprimé agit contre une grande variété de cellules Gram positives et Gram négatives et le cycloheximide ou l'amphotéricine B sont des fongicides efficaces.

Suppléments nécessaires

Supplément sélectif de *Campylobacter* Bolton (Réf. DSHB3033)

Contenu du flacon:

Quantité nécessaire pour 500 ml de milieu complet.

Vancomycine 10,0 mg

Céfopérazone 10,0 mg

Triméthoprimé 10,0 mg

Cycloheximide 25,0 mg

Eau distillée (solvant)

Utilisation

Introduire une quantité (masse ou volume) dans neuf fois son volume de bouillon d'enrichissement sélectif Bolton de manière à obtenir un rapport échantillon à tester / milieu de 1:10 (p / v ou v / v) et homogénéiser.

Le bouillon d'enrichissement sélectif Bolton ne nécessite pas d'incubation dans un environnement microaérobie, mais doit être utilisé dans des récipients à bouchon à vis qui sont remplis en laissant un espace libre de moins de 20 mm et qui ont des bouchons à fermeture hermétique.

Incuber la suspension initiale à 37 ° C pendant 4 à 6 heures, puis à 41,5 ° C pendant 44 \pm 4 heures.

Pour les techniques d'isolement et d'identification, veuillez vous référer aux méthodes ISO ou BAM (Bacteriological Analytical Manual).



Contrôle qualité

Température d'incubation: 37°C ±1 / 41,5°C ±1 **Temps d'incubation:** 5 h±1 / 44 ±4 h
Inoculum: Gamme d'utilisation 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC (Productivité) / 10⁴-10⁶ UFC (sélectivité) selon ISO 11133: 2014 / Amd 1: 2018.

Micro-organismes

Campylobacter jejuni ATCC® 29428
métallique

Escherichia coli ATCC® 8739

Proteus mirabilis ATCC® 29906

ATCC® 29428 + 8739 +29906
métallique

Croissance

Bonne récupération en CCD ≥ 10 CFU

Inhibée sur TSA

Inhibée sur TSA

Bonne récupération en CCD ≥ 10 CFU

Remarques

Colonies grises-plates-humides, parfois éclat

-

-

Colonies grises-plates-humides, parfois éclat

Références

- 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.

Conservation

Pour usage professionnel uniquement. À conserver fermé, loin de la lumière, dans un endroit frais et sec (+4°C à 30°C).