



BBL Cooked Meat Medium

L007448 • Rev. 12 • Januar 2015



MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Cooked Meat Medium (Kochfleisch-Medium) ist ein Medium für die Kultivierung anaerober Mikroorganismen.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

1. Repräsentative Proben mit den im Folgenden aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a) Unter Verwendung einer geeichten 0,01-mL-Impföse die *Clostridium*-Spezies mit 18 bis 72 Std. alten Kulturen auf Cooked Meat Medium (Kochfleisch-Medium) inokulieren (oder mit Kolonien von 48 Std. alten CDC-Agar-Kulturplatten für anaerobe Mikroorganismen mit 5 % Schafsblut, die in vorreduzierte Röhrchen mit flüssigem Thioglykolat-Medium transferriert und auf einen McFarland-Standard von 1,0 eingestellt wurden). Die *Bacteroides*-Spezies mit 18 bis 48 Std. altem Thioglykolat-Medium, angereichert mit Vitamin K₁ und Häm, inokulieren.
 - b) Die Röhrchen bei 35 ± 2 °C in einer anaeroben Atmosphäre (anaerobes **GasPak** EZ-System oder vergleichbare Vorrichtung) inkubieren.
2. Die Röhrchen bis zu 7 Tage lang im Hinblick auf Wachstum, Abbau des Fleisches, Schwarzwerden und Gasproduktion untersuchen. Das Schwarzwerden kann verzögert eintreten oder ausbleiben, wenn das Medium sauer bleibt. Das Schwarzwerden von Fleischpartikeln erfolgt nur in Gegenwart von Laugen; die Reaktion ist eine Kombination der Wirkung von Eisen und alkalischen Umgebungsbedingungen.¹
3. Zu erwartende Ergebnisse
 - **Clostridium perfringens* Wachstum bei starker Gasproduktion
ATCC 13124
 - **Clostridium sporogenes* Wachstum bei starker Gasproduktion
ATCC 11437 und Abbau, evtl. Schwarzwerden erkennbar
 - Clostridium septicum* Wachstum bei Gasproduktion,
ATCC 6008 evtl. Schwarzwerden erkennbar
 - Bacterioides fragilis* Wachstum mit oder ohne Gasproduktion,
ATCC 25285 evtl. Schwarzwerden erkennbar
 - Bacteroides vulgatus* Wachstum mit oder ohne Gasproduktion,
ATCC 8482 evtl. Schwarzwerden erkennbar

* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus für die Qualitätskontrolle durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Röhrchen untersuchen, wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben.
2. Repräsentative Röhrchen visuell überprüfen, um sicherzustellen, dass ihre Nutzung nicht durch bereits vorhandene Beschädigungen beeinträchtigt werden kann.
3. Nicht inokulierte repräsentative Röhrchen bei 20 – 25 °C und bei 30 – 35 °C inkubieren und nach 7 Tagen auf Kontamination durch Mikroorganismen untersuchen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Cooked Meat Medium (Kochfleisch-Medium) wird für die Kultivierung anaerober Mikroorganismen herangezogen, besonders von pathogenen Clostridien.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Im Jahre 1916 entwickelte Robertson ein Kochfleisch-Medium für die Kultivierung bestimmter aus Wunden isolierter anaerober Mikroorganismen.¹ Die gegenwärtige Formulierung für Cooked Meat Medium (Kochfleisch-Medium) ist eine Variante der ursprünglichen Robertson-Formulierung.

Cooked Meat Medium (Kochfleisch-Medium) wird für die Kultivierung und Erhaltung von Clostridien und zur Ermittlung der proteolytischen Aktivität anaerober Mikroorganismen herangezogen. Dieses Medium unterstützt das Wachstum der meisten obligatorisch anaeroben Sporenbildner und Nicht-Sporenbildner und kann für verschiedene Zwecke genutzt werden, darunter für die Unterhaltung von Standardkulturen. Dieses Medium ist auch nützlich als

Anreicherungsbouillon zur Unterstützung von Medienplatten² oder für die Kultivierung anaerober Mikroorganismen, die in geringer Anzahl in einer Population vorhanden sein können sowie als Subkulturmedium für den Nachweis von Proteolyse (Fleischabbau) und Sporenbildung durch *Clostridium*-Spezies.

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Cooked Meat Medium (Kochfleisch-Medium) bietet günstige Umgebungsbedingungen für das Wachstum anaerober Mikroorganismen, da das im Herzgewebe-Granulat enthaltene Muskelprotein eine Quelle für Aminosäuren und andere Nährstoffe darstellt. Außerdem liefert das Muskelgewebe Substanzen mit reduzierender Wirkung, insbesondere Glutathion. Die Sulfhydryl-Gruppen, welche die reduzierende Wirkung ausüben, liegen vermehrt in denaturiertem Protein vor; daher wurden die Fleischpartikel für dieses Medium gekocht.

Der Rinderherz-Anteil der **BBL**-Formulierung wird als Gewicht des getrockneten Herzgewebe-Granulats angegeben.

Das Wachstum ist ersichtlich aus Trübung und – bei manchen Mikroorganismen – aus dem Vorliegen von Gasbläschen im Medium. Die Zersetzung und das Schwarzwwerden der Fleischpartikel ist ein Anzeichen für Proteolyse. Zur Bestimmung von Form und Lage der Sporen sollten Gramfärbungen oder Sporenfärbungen vorgenommen werden.

VII REAGENZIEN

Cooked Meat Medium

Ungefähre Zusammensetzung* je 1 L destilliertes Wasser	
Herzgewebe-Granulat	98,0 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	20,0 g
Dextrose	2,0 g
Natriumchlorid	5,0 g

*Nach Bedarf auf die Leistungskriterien abgestimmt und/oder ergänzt.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Röhrchen mit fest angebrachten Kappen sollten vorsichtig geöffnet werden, um Verletzungen durch Glasbruch zu vermeiden.

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen und Anwendung aseptischer Techniken erfolgen. Präparierte Röhrchen, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach ihrer Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Die Röhrchen nach Erhalt bei 2 – 25 °C im Dunkeln lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. In den Röhrchen gemäß Kennzeichnung aufbewahrte Medien können bis zum Verfallsdatum inokuliert und für die empfohlene Zeitdauer inkubiert werden. Vor Lichteinwirkung schützen.

Haltbarkeit des Produkts

Röhrchen mit Anzeichen von Kontamination durch Mikroorganismen, Verfärbung, Eintrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Kultivierbare Proben können auf unterschiedliche Weise gehandhabt werden. Detaillierte Informationen der einschlägigen Fachliteratur entnehmen.^{2,3} Die Proben sollten vor der Anwendung von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Cooked Meat Medium

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Aseptisch vorgehen.

Flüssiges Medium für eine anaerobe Inkubation ist vor der Inokulation zu reduzieren; dazu die Röhrchen vor Gebrauch 18 bis 24 Std. lang mit gelockerten Kappen anaeroben Bedingungen aussetzen. Eine effiziente und einfache Methode zur Schaffung anaerober Bedingungen bietet das anaerobe **GasPak** EZ-System. Flüssige Medien können auch unmittelbar vor Gebrauch durch 10 Minuten langes Kochen bei gelockerten Kappen und Abkühlen auf Raumtemperatur vor der Inokulation reduziert werden. Die zu kultivierenden Mikroorganismen müssen zunächst in Reinkultur in einem geeigneten Medium isoliert werden.

Mit Hilfe einer sterilen Impföse oder -nadel Wachstum von einem frischen Subkultur-Medium transferieren und den Fleischpartikelbereich stark inokulieren. Die Röhrchen bis zu 7 Tage lang unter anaeroben Bedingungen bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ inkubieren. Es sollte ein Indikator für Anaerobiose verwendet werden.

Qualitätskontrolle durch den Anwender

Siehe „Maßnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Anwender sollten die relevanten CLSI-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

X ERGEBNISSE

Bei der Kultivierung von Clostridien produzieren saccharolytische Mikroorganismen gewöhnlich Säure und Gas. Das Wachstum proteolytischer Mikroorganismen zeichnet sich gewöhnlich durch Schwarzwerden und Auflösung der Fleischpartikel aus.

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Zur Identifizierung muss der Mikroorganismus in Reinkultur vorliegen. Für die endgültige Identifizierung sind morphologische, biochemische und/oder serologische Tests erforderlich. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.²⁻⁴

XII LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe werden alle Chargen von **BBL** Cooked Meat Medium (Kochfleisch-Medium) auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Unter Verwendung einer geeichten 0,01-mL-Impföse repräsentative Proben der Charge mit Kulturen von *Clostridium perfringens* (ATCC 13124), *C. septicum* (ATCC 6008), *C. sporogenes* (ATCC 11437), *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) und *B. vulgatus* (ATCC 8482) inokulieren. Die Inokula für die Clostridien stammen entweder von einem Kochfleisch-Medium oder von Kolonien auf CDC-Agar-Platten für anaerobe Mikroorganismen mit 5 % Schafsblut, die nach der Entnahme in flüssigem Thioglykolat-Medium auf einen McFarland-Standard von 1,0 verdünnt wurden. Die Inokula für Bakterioide stammen von Thioglykolat-Medium, angereichert mit Vitamin K₁ und Häm. Die inokulierten Röhrchen werden in einem anaeroben **GasPak** Plus- oder **GasPak** EZ-System bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ inkubiert und nach 1, 3 und 7 Inkubationstagen abgelesen. Alle Mikroorganismen zeigen innerhalb von 7 Tagen mäßiges bis starkes Wachstum. Gas wird von *C. perfringens*, *C. septicum* und *C. sporogenes* produziert. Abbau ist offensichtlich bei *C. sporogenes* und u.U. nicht bei *C. septicum*. Schwarzwerden ist u.U. bei Clostridien zu beobachten. *B. fragilis* und *B. vulgatus* produzieren u.U. Gas und können leichtes Schwarzwerden zeigen.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

221507 **BD BBL** Cooked Meat Medium, 8 mL, Packung zu 10 Röhrchen der Größe K

221508 **BD BBL** Cooked Meat Medium, 8 mL, Karton zu 100 Röhrchen der Größe K

XIV LITERATUR

1. Robertson, M. 1916. Notes upon certain anaerobes isolated from wounds. *J. Pathol. Bacteriol.* 20:327-349.
2. Forbes, B.A., and P.A. Granato. 1995. Processing specimens for bacteria, p. 265-281. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Tenover, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

4. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD