



BBL Cooked Meat Medium

L007448 • Rev. 12 • Janvier 2015



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

Le Cooked Meat Medium est un milieu servant à la culture des anaérobies.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. A l'aide d'une anse calibrée de 0,01 mL, ensemencer les espèces *Clostridium* avec des cultures de Cooked Meat Medium âgées de 18 à 72 h (ou avec des colonies issues de cultures en boîte de Pétri de Sheep Blood Agar à 5 % anaérobies CDC âgées de 48 h transférées dans des tubes pré-réduits de milieu au thioglycolate fluide et ajustées au standard McFarland 1,0) et ensemencer les espèces *Bacteroides* avec un milieu au thioglycolate âgé de 18 à 48 h enrichi en vitamine K₁ et en hémine.
 - b. Incuber les tubes à 35 ± 2 °C en atmosphère anaérobie (système anaérobie **GasPak EZ** ou équivalent).
2. Examiner les tubes pendant 7 jours maximum afin de contrôler la croissance, la digestion de la viande, le noircissement et la production de gaz. Le phénomène de noircissement peut être tardif voire inexistant si le milieu reste acide. Le noircissement des particules de viande se produit uniquement en présence d'un alcali ; cette réaction est due à la combinaison de l'effet sur le fer et de l'environnement alcalin.¹
3. Résultats attendus
 - **Clostridium perfringens*.....Croissance avec production de gaz élevée
ATCC 13124
 - **Clostridium sporogenes*.....Croissance, production de gaz élevée et digestion, noircissement
ATCC 11437 possible
 - Clostridium septicum*Croissance et production de gaz, noircissement possible
ATCC 6008
 - Bacteroides fragilis*Croissance avec ou sans production de gaz, noircissement possible
ATCC 25285
 - Bacteroides vulgatus*.....Croissance avec ou sans production de gaz, noircissement possible
ATCC 8482

*Souche recommandée pour le contrôle de qualité réalisé par l'utilisateur.

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes comme décrit à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter visuellement des tubes représentatifs pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Incuber des tubes représentatifs non ensemencés entre 20 et 25 °C et 30 et 35 °C, et les examiner après 7 jours pour détecter une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS PRODUIT

IV APPLICATION

Le Cooked Meat Medium (milieu de viande cuite) est un milieu servant à la culture des anaérobies, en particulier les clostridia pathogènes.

V RESUME ET EXPLICATION

En 1916, Robertson a développé un milieu de viande cuite servant à la culture de certains anaérobies isolés à partir de blessures.¹ La formulation actuelle du Cooked Meat Medium est une version modifiée de la formule de Robertson.

Le Cooked Meat Medium sert à la culture et à la conservation des clostridia ainsi qu'à la détermination de l'activité protéolytique des anaérobies. Il permet la croissance de la majorité des anaérobies stricts sporulés et non sporulés et peut avoir divers autres usages, et notamment servir à constituer une souchothèque. Il peut également être utilisé comme bouillon d'enrichissement en complément de milieux en boîtes de Pétri,² comme milieu de culture pour des anaérobies présents en petits nombres dans une population donnée, et comme milieu de repiquage pour la

détermination de la protéolyse (digestion de viande) et de la formation de spores par les espèces *Clostridium*.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Le Cooked Meat Medium constitue un environnement favorable à la croissance des organismes anaérobies puisque la protéine musculaire contenue dans les granules du tissu cardiaque est riche en acides aminés et autres éléments nutritifs. Le tissu musculaire fournit aussi des substances réductrices, et en particulier du glutathion. Les groupes de sulfhydryles, qui exercent l'effet réducteur, sont davantage présents dans les protéines dénaturées, et c'est la raison pour laquelle les particules de viande sont cuites avant leur incorporation au milieu.

Dans la formule **BBL**, la teneur en cœur de bœuf est exprimée en poids des granules de tissu cardiaque sec.

La croissance est révélée par la turbidité et, chez certains organismes, par la présence de bulles de gaz dans le milieu. Une désintégration et un noircissement des particules de viande sont les signes d'une activité protéolytique. Des colorations de Gram ou des colorations de spores doivent être effectuées afin de déterminer la forme et l'emplacement des spores.

VII REACTIFS

Cooked Meat Medium

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Granules de tissu cardiaque	98,0	g
Digestion peptique de tissu animal	20,0	g
Dextrose	2,0	g
Chlorure de sodium	5,0	g

*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performances imposés.

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Ouvrir avec précaution les tubes étroitement bouchés pour ne pas risquer d'être blessé par un bris de verre.

Toujours utiliser des techniques aseptiques et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les tubes préparés, les récipients ayant contenu des échantillons et tout autre matériel contaminé avant de les éliminer.

Instructions pour la conservation

Dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité à une température comprise entre 2 et 25 °C.

Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas ouvrir prématurément. Les milieux en tube conservés conformément aux instructions jusqu'au moment de leur utilisation peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption indiquée et incubés pendant les durées recommandées. Maintenir à l'abri de la lumière.

Détérioration du produit

Ne pas utiliser les tubes s'ils présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons adaptés à la mise en culture peuvent être manipulés selon différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.^{2,3} Prélever les échantillons avant l'administration d'agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériaux fournis

Cooked Meat Medium

Matériaux requis mais non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test

Respecter les techniques d'asepsie.

Les milieux liquides pour l'incubation anaérobie doivent être réduits avant l'ensemencement. Pour cela, placer les tubes, avec les bouchons desserrés, dans des conditions anaérobies pendant 18 à 24 h avant de les utiliser. Le système anaérobie **GasPak EZ** est une méthode efficace et simple pour

obtenir des conditions anaérobies adaptées. Ou alors, les milieux liquides peuvent être réduits juste avant leur utilisation : avant de procéder à l'ensemencement, les faire bouillir pendant 10 minutes, bouchons desserrés, puis laisser refroidir jusqu'à la température ambiante. Les organismes à cultiver doivent au préalable être isolés en culture pure dans un milieu approprié. A l'aide d'une anse ou d'une aiguille d'inoculation stérile, transférer une abondante croissance issue d'un milieu de repiquage frais vers la zone contenant les particules de viande. Incuber les tubes à 35 ± 2 °C dans des conditions anaérobies pendant 7 jours maximum. Il est conseillé d'utiliser un indicateur d'anaérobiose.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

X RESULTATS

Les organismes saccharolytiques présents dans la culture des clostridia produisent généralement de l'acide et du gaz. La croissance d'organismes protéolytiques se caractérise principalement par un noircissement et une dissolution des particules de viande.

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Pour procéder à l'identification, les organismes doivent se trouver en culture pure. Des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques doivent être effectués pour l'identification finale. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes recommandées.²⁻⁴

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Tous les lots de Cooked Meat Medium sont soumis à des tests en usine permettant d'évaluer les caractéristiques de leurs performances. A l'aide d'une anse calibrée de 0,01 mL, des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés avec des cultures de *Clostridium perfringens* (ATCC 13124), de *C. septicum* (ATCC 6008), de *C. sporogenes* (ATCC 11437), de *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) et de *B. vulgatus* (ATCC 8482). Les inoculum des clostridia sont prélevés soit à partir du Cooked Meat Medium, soit à partir de colonies d'anaérobies CDC issues de boîtes de Pétri de Sheep Blood Agar à 5 %, puis dilués dans un milieu au thioglycolate fluide ajusté au standard McFarland 1,0. Les inoculum des Bacteroides sont prélevés dans un milieu au thioglycolate enrichi en vitamine K, et en hémine. Les tubes ensemencés sont incubés dans un système anaérobie GasPak Plus ou GasPak EZ, à 35 ± 2 °C puis examinés après 1, 3 et 7 jours d'incubation. La croissance de tous les organismes est moyenne à forte au bout de 7 jours. *C. perfringens*, *C. septicum* et *C. sporogenes* produisent du gaz. Des signes de digestion évidents apparaissent avec *C. sporogenes* et parfois, mais pas obligatoirement, avec *C. septicum*. Un noircissement des clostridia est possible. *B. fragilis* et *B. vulgatus* peuvent produire du gaz et présenter un léger noircissement.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221507	BD BBL Cooked Meat Medium, 8 mL, boîte de 10 tubes de taille K
221508	BD BBL Cooked Meat Medium, 8 mL, carton de 100 tubes de taille K

XIV REFERENCES

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. Tenoever, 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.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site 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