



PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE

I INTRODUÇÃO

O Cooked Meat Medium é um meio para cultura de anaeróbios.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. Com uma ansa calibrada de 0,01 mL, inocule as espécies de *Clostridium* utilizando culturas em Cooked Meat Medium, com 18 a 72 h (ou colónias de culturas em Ágar de sangue ovino a 5% para anaeróbios CDC com 48 h, que tenham sido transferidas para tubos previamente reduzidos de Fluid Thioglycollate Medium e ajustadas para um padrão n.º 1,0 de McFarland), e inocule as espécies de *Bacteroides* utilizando Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K₁ and Hemin com 18 a 48 h.
 - b. Incube os tubos a 35 ± 2°C numa atmosfera anaeróbia (Sistema Anaeróbio GasPak EZ ou equivalente).
2. Examine os tubos durante um período de até 7 dias, verificando se ocorre crescimento, digestão da carne, escurecimento e produção de gás. O escurecimento pode ser retardado ou mesmo inexistente, no caso de o meio permanecer ácido. O escurecimento das partículas de carne ocorre apenas na presença de alcalis; a reacção resulta da combinação da acção sobre o ferro e de um ambiente alcalino.¹

3. Resultados esperados

* <i>Clostridium perfringens</i>	Crescimento com forte produção de gás
ATCC 13124	
* <i>Clostridium sporogenes</i>	Crescimento com forte produção de gás e digestão,
ATCC 11437	poderá apresentar escurecimento
<i>Clostridium septicum</i>	Crescimento com produção de gás, poderá apresentar
ATCC 6008	escurecimento
<i>Bacteroides fragilis</i>	Crescimento com ou sem produção de gás, poderá
ATCC 25285	apresentar escurecimento
<i>Bacteroides vulgatus</i>	Crescimento com ou sem produção de gás, poderá
ATCC 8482	apresentar escurecimento

*Estirpe do microrganismo recomendada para o controlo de qualidade do utilizador.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examine os tubos, conforme descrito na secção "Deterioração do produto".
2. Examine visualmente os tubos representativos, para assegurar que eventuais defeitos físicos não irão interferir com a utilização.
3. Incube os tubos representativos não inoculados entre 20 a 25°C e 30 a 35°C, e examine-os após 7 dias, verificando se existe contaminação microbiana.

INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO

IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O Cooked Meat Medium (Meio de carne cozida) é utilizado na cultura de anaeróbios, especialmente clostrídios patogénicos.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

Em 1916, Robertson desenvolveu um meio de carne cozida para utilização na cultura de alguns anaeróbios isolados a partir de feridas.¹ A formulação actual do Cooked Meat Medium consiste numa modificação da fórmula original de Robertson.

O Cooked Meat Medium é utilizado para cultura e manutenção de clostrídios e para determinação da actividade proteolítica de anaeróbios. Sustenta o crescimento da maior parte dos anaeróbios obrigatórios formadores de esporos e não formadores de esporos e pode ser utilizado para vários

fins, incluindo a manutenção de culturas de reserva. Este meio também é útil como meio líquido enriquecido para apoio a meios em placa,² ou para cultura de anaeróbios que possam estar presentes em número reduzido numa população e como meio de repicagem para determinação de proteólise (digestão da carne) e formação de esporos por espécies de *Clostridium*.

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O Cooked Meat Medium proporciona um ambiente favorável para o crescimento de anaeróbios, uma vez que a proteína muscular dos grânulos de tecido cardíaco é uma fonte de aminoácidos e outros nutrientes. O tecido muscular também fornece substâncias redutoras, especialmente a glutatona. A disponibilidade dos grupos sulfidril, que exercem um efeito redutor, é superior na proteína desnaturada; por isso, para serem utilizadas no meio as partículas de carne são cozidas.

Na fórmula **BBL**, o conteúdo em coração de bovino é expresso como peso dos grânulos de tecido cardíaco seco.

O crescimento é indicado pela turvação e, em alguns casos, pela presença de bolhas de gás no meio. A desintegração e o escurecimento das partículas de carne indicam proteólise. Devem efectuar-se colorações Gram ou colorações dos esporos, para determinar a forma e a localização dos esporos.

VII REAGENTES

Cooked Meat Medium

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Grânulos de tecido cardíaco	98,0	g
Digerido péptico de tecidos animais	20,0	g
Dextrose	2,0	g
Cloreto de sódio	5,0	g

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

Advertências e Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Os tubos com tampas apertadas devem ser abertos com cuidado, para evitar lesões devido a quebra do vidro.

Cumprir as precauções estabelecidas contra perigos microbiológicos em todos os procedimentos. Após a utilização e antes de serem eliminados, esterilize em autoclave os tubos preparados, recipientes de amostras e outros materiais contaminados.

Instruções de armazenamento

Após a recepção, armazenar os tubos em local escuro entre 2 e 25°C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Os tubos com meio que forem armazenados conforme indicado no rótulo até ao momento imediatamente anterior à sua utilização, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante os períodos de incubação recomendados. Minimizar a exposição à luz.

Deterioração do produto

Não utilizar tubos que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secagem ou outros sinais de deterioração.

VIII COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras adequadas para cultura podem ser preparadas utilizando várias técnicas. Para obter informações pormenorizadas, consulte os textos apropriados.^{2,3} As amostras devem ser obtidas antes de serem administrados agentes antimicrobianos. Devem tomar-se as providências necessárias para a entrega imediata no laboratório.

IX PROCEDIMENTO

Material fornecido

Cooked Meat Medium

Material necessário mas não fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes, microrganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Procedimento do teste

Utilize técnicas assépticas.

A redução do meio líquido para incubação anaeróbia deve ser efectuada antes da inoculação, colocando os tubos com as tampas pouco apertadas em condições anaeróbias durante 18 a 24 h antes da utilização. Uma forma fácil e eficiente de obter condições anaeróbias adequadas é através da utilização do sistema anaeróbio **GasPak EZ**. Em alternativa, a redução do meio líquido pode ser efectuada imediatamente antes da utilização, fervendo os tubos com as tampas desapertadas durante 10 min e arrefecendo-os à temperatura ambiente antes da inoculação. Primeiro, os microrganismos devem ser isolados em cultura pura num meio apropriado.

Utilizando uma ansa ou agulha de inoculação estéril, transfira a cultura proveniente de um meio de repicagem recente, inoculando fortemente a área das partículas de carne. Incube os tubos a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ em condições anaeróbias durante um período máximo de 7 dias. Recomenda-se a utilização de um indicador de anaerobiose.

Controlo de qualidade pelo utilizador

Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação europeus e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as normas do CLSI e os regulamentos da CLIA que dizem respeito a este assunto, para obter orientações sobre práticas de controlo de qualidade apropriadas.

X RESULTADOS

Na cultura de clostrídios, os microrganismos sacarolíticos normalmente produzem ácido e gás. Geralmente, o crescimento de microrganismos proteolíticos é caracterizado pelo escurecimento e dissolução das partículas de carne.

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Para a identificação, os microrganismos devem ser uma cultura pura. Para uma identificação final, devem ser efectuados testes morfológicos, bioquímicos e/ou serológicos. Para obter informações pormenorizadas e sobre os procedimentos recomendados, consulte os textos apropriados.²⁻⁴

XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Antes de serem comercializados, todos os lotes de Cooked Meat Medium são submetidos a testes das características do desempenho. Utilizando uma ansa calibrada de 0,01 mL, devem ser inoculadas com culturas de *Clostridium perfringens* (ATCC 13124), *C. septicum* (ATCC 6008), *C. sporogenes* (ATCC 11437), *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) e *B. vulgatus* (ATCC 8482) amostras representativas do lote. Os inóculos de clostrídios são colhidos a partir de Cooked Meat Medium ou de colónias que tenham crescido em placas de Ágar de sangue ovino a 5% para anaeróbios CDC e tenham sido subsequentemente diluídos com Fluid Thioglycollate Medium para um padrão 1,0 de McFarland. Os inóculos para as espécies de *Bacteroides* são colhidos a partir de Thioglycollate Medium Enriched with Vitamin K₁ and Hemin. Os tubos inoculados são incubados num sistema anaeróbio **GasPak Plus** ou **GasPak EZ** a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, devendo ser lidos no 1º, 3º e 7º dias de incubação. O crescimento é moderado a forte para todos os microrganismos num período de 7 dias. É produzido gás pelo *C. perfringens*, *C. septicum* e *C. sporogenes*. A digestão é evidente com o *C. sporogenes* e pode ou não ser evidente com o *C. septicum*. Pode ou não ser observado escurecimento com clostrídios. O *B. fragilis* e o *B. vulgatus* podem ou não produzir gases e podem apresentar um escurecimento ligeiro.

XIII APRESENTAÇÃO

N.º de cat. Descrição

221507	BD BBL Cooked Meat Medium, 8 mL, emb. com 10 tubos K
221508	BD BBL Cooked Meat Medium, 8 mL, caixa com 100 tubos K

XIV BIBLIOGRAFIA

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. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenenbaum (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.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou visite 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