



PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I. INTRODUCCION

Cooked Meat Medium (medio de carne cocida) es un medio para el cultivo de organismos anaerobios.

II. REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Con un asa calibrada de 0,01 mL, inocular la especie *Clostridium* con cultivos de Cooked Meat Medium de 18 – 72 h (o colonias de 48 h de cultivos en placa de agar 5% sangre de carnero para anaerobios del CDC transferidos a tubos previamente reducidos de medio de tioglicolato líquido y ajustados a un patrón 1,0 de McFarland) y la especie *Bacteroides* mediante un medio de tioglicolato de 18 – 48 h, enriquecido con vitamina K₁ y hemina.
 - b. Incubar los tubos a 35 ± 2 °C en atmósfera anaerobia (sistema anaerobio GasPak EZ o equivalente).
2. Examinar los tubos durante un máximo de 7 días para determinar si hay crecimiento, digestión de carne, oscurecimiento y producción de gas. El oscurecimiento puede demorarse o no producirse si el medio permanece ácido. Se produce oscurecimiento de partículas de carne sólo en presencia de álcali; la reacción es una combinación de la acción férrica y un entorno alcalino¹.
3. Resultados previstos

* <i>Clostridium perfringens</i>	Crecimiento con importante producción de gas
ATCC 13124	
* <i>Clostridium sporogenes</i>	Crecimiento con importante producción de gas
ATCC 11437	y digestión, posibilidad de oscurecimiento
<i>Clostridium septicum</i>	Crecimiento con producción de gas,
ATCC 6008	posibilidad de oscurecimiento
<i>Bacteroides fragilis</i>	Crecimiento con o sin producción de gas,
ATCC 25285	posibilidad de oscurecimiento
<i>Bacteroides vulgatus</i> ...	Crecimiento con o sin producción de gas,
ATCC 8482	posibilidad de oscurecimiento

¹Cepa de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

III. CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar los tubos como se describe en la sección “Deterioro del Producto”.
2. Examinar visualmente los tubos representativos para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Incubar tubos representativos sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar después de 7 días si hay indicios de contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV. USO PREVISTO

Cooked Meat Medium se utiliza en el cultivo de organismos anaerobios, en especial los clostridios patógenos.

V. RESUMEN Y EXPLICACION

En 1916, Robertson desarrolló un medio de carne cocida para su uso en el cultivo de determinados organismos anaerobios aislados de heridas¹. La fórmula presente para Cooked Meat Medium es una modificación de la fórmula original de Robertson.

Cooked Meat Medium se utiliza para el cultivo y mantenimiento de clostridios y para la determinación de la actividad de organismos anaerobios proteolíticos. Favorece el crecimiento de la mayoría de los organismos anaerobios obligados formadores y no formadores de esporas y puede utilizarse para una variedad de propósitos, incluido el mantenimiento de cultivos de referencia. Este medio también es útil como caldo de enriquecimiento de respaldo para los medios en placas² o para cultivar organismos anaerobios posiblemente presentes en una población poco

numerosa y como medio de subcultivo para la determinación de proteolisis (digestión de carne) y formación de esporas por parte de la especie *Clostridium*.

VI. PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Cooked Meat Medium proporciona un entorno favorable para el crecimiento de anaerobios dado que la proteína muscular en los gránulos del tejido cardíaco constituye una fuente de aminoácidos y otros nutrientes. El tejido muscular también proporciona reducción de sustancias, en especial la glutianona. Los grupos de sulfidriilo, que ejercen un efecto de reducción, están más disponibles en la proteína desnaturalizada; por consiguiente, las partículas de carne se cocinan para su uso en el medio.

En la fórmula de **BBL**, el contenido de corazón de res se expresa como el peso de los gránulos secos de tejido cardíaco.

El crecimiento se indica mediante turbidez y, en el caso de algunos organismos, con la presencia de burbujas de gas en el medio. La desintegración y oscurecimiento de las partículas de carne indican proteolisis. Deben realizarse tinciones de Gram o tinciones de esporas para determinar la forma y ubicación de las esporas.

VII. REACTIVOS

Cooked Meat Medium

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Gránulos de tejido cardíaco	98,0	g
Digerido péptico de tejido animal	20,0	g
Dextrosa	2,0	g
Cloruro sódico	5,0	g

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los tubos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todo el proceso. Después de su utilización, los tubos preparados, los recipientes de muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Instrucciones para el almacenamiento

Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 25 °C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que vayan a utilizarse. Los medios en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante los períodos recomendados de incubación. Reducir al mínimo la exposición a la luz.

Deterioro del producto

No utilizar los tubos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII. RECOGIDA Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consultar los textos correspondientes^{2,3}. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben adoptarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX. PROCEDIMIENTO

Material suministrado

Cooked Meat Medium

Materiales necesarios pero no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas.

Los medios líquidos para incubación anaerobia deben reducirse antes de la inoculación colocando los tubos, con las tapas flojas, en condiciones anaerobias durante 18 – 24 h antes de su utilización. Una manera eficaz y fácil de obtener condiciones anaerobias adecuadas es mediante el uso del sistema anaerobio **GasPak EZ**. Los medios líquidos también se pueden reducir justo antes de utilizar, hirviéndolos durante 10 min con las tapas de los tubos flojas y dejando enfriar a temperatura ambiente antes de la inoculación. Los organismos para cultivar primero deben aislarse en cultivo puro en un medio apropiado.

Con un asa o aguja de inoculación estéril, transferir el crecimiento de un medio de subcultivo reciente, realizando una inoculación densa de partículas de carne. Incubar los tubos a 35 ± 2 °C en condiciones anaerobias durante un máximo de 7 días. Se recomienda utilizar un indicador de anaerobiosis.

Control de calidad del usuario

Véase "Procedimientos de control de calidad".

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

X. RESULTADOS

En el cultivo de clostridios, los organismos sacarolíticos habitualmente producen ácido y gas. El crecimiento de organismos proteolíticos se caracteriza generalmente por el oscurecimiento y dilución de las partículas de carne.

XI. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Para su identificación, los organismos deben encontrarse en un cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y procedimientos recomendados²⁻⁴.

XII. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Cooked Meat Medium se analizan para determinar sus características de rendimiento. Con un asa calibrada de 0,01 mL, se inoculan muestras representativas del lote con cultivos de *Clostridium perfringens* (ATCC 13124), *C. septicum* (ATCC 6008), *C. sporogenes* (ATCC 11437), *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) y *B. vulgatus* (ATCC 8482). Los inóculos para clostridios se extraen de Cooked Meat Medium o de colonias cultivadas en placas de agar 5% sangre de carnero para anaerobios del CDC y posteriormente diluidas hasta un patrón 1,0 de McFarland en medio de tioglicolato líquido. Los inóculos para *Bacteroides* se extraen del medio de tioglicolato enriquecido con vitamina K₁ y hemina. Los tubos inoculados se incuban en un sistema anaerobio **GasPak Plus** o **GasPak EZ** a 35 ± 2 °C y la lectura se efectúa después de 1, 3 y 7 días de incubación. El crecimiento es de moderado a denso en todos los organismos en menos de 7 días. Se registra producción de gas con *C. perfringens*, *C. septicum* y *C. sporogenes*. Se evidencia digestión con *C. sporogenes* y tal vez se registre o no digestión con *C. septicum*. Tal vez se observe o no oscurecimiento con clostridios. *B. fragilis* y *B. vulgatus* pueden o no producir gas y posiblemente muestren un leve cantidad de oscurecimiento.

XIII. DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

221507 **BD BBL** Cooked Meat Medium, 8 mL, pqt. de 10 tubos de tamaño K

221508 **BD BBL** Cooked Meat Medium, 8 mL, caja de 100 tubos de tamaño K

XIV. BIBLIOGRAFÍA

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. Tenover, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o 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