

THIOGLYCOLLATE MEDIUM USP (WITH RESAZURINE)



TERRENO PER TEST DI STERILITÀ DI PREPARAZIONI FARMACEUTICHE, CORRISPONDENTE AL FLUID

THIOGLYCOLLATE MEDIUM -PROVA PRESUNTIVA DI IDENTIFICAZIONE PER *Clostridium prefringens* UNI EN ISO 7937 (NF V 08-019)

CONFEZIONI

Cod. H.70.175	10 buste / 300 g Hydrobag (1 x 1 litro di terreno)	
Cod. 70.175	500 g (16,67 litri)	1947754
Cod. 71.175	100 g (3,33 litri)	1947781
Cod. 18.0085	10 provette da 10 ml pronte all'uso	1819363
Cod. 18.0165	10 provette da 20 ml pronte all'uso	
Cod. 22.040	6 flaconi in vetro da 100 ml, pronti all'uso	1853841

FORMULA TEORICA (g/l)

DIGERITO PANCREATICO DI CASEINA	15,00
ESTRATTO DI LIEVITO	5,00
SODIO TIOGLICOLATO	0,50
SODIO CLORURO (NaCl)	2,50
L-CISTINA	0,50
DESTROSIO (C ₆ H ₁₂ O ₆)	5,50
RESAZURINA	1,00 mg/l
AGAR	0,75

pH FINALE 7,1 ± 0,2 a 25°C

PREPARAZIONE

Sciogliere 30 g di polvere in un litro di acqua distillata fredda. Miscelare bene e portare ad ebollizione sotto agitazione fino ad ottenere una soluzione uniforme. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 25°C e dispensare in provette.

Conservare a temperatura < 20°C. Se si dovesse notare una colorazione rosa (ossidazione della resazurina) superiore al 30% dell'altezza del terreno, è opportuno, prima dell'uso, riscaldare le provette per 10 minuti in bagnomaria a temperatura di vapore.

Non ripetere tale operazione per più di una volta.

UTILIZZO

THIOGLYCOLLATE MEDIUM USP CON RESAZURINA è un terreno di arricchimento universale, utilizzato per le procedure qualitative dei test di sterilità (Farmacopea U.S.A) e per l'isolamento e la coltura di aerobi, anerobi, e microaerofili. Il Tioglicolato di Sodio abbassa il potenziale di ossido-riduzione del terreno e neutralizza l'attività batteriostatica dei derivati del mercurio che possono essere presenti nei campioni da analizzare. La resazurina è un indicatore di ossidoriduzione: vira al rosa se viene ossidata, mentre appare incolore se viene ridotta. Il terreno è raccomandato dalla norma UNI EN ISO 7937 per l'enumerazione di *C. perfringens*.

Tecnica UNI EN ISO 7937

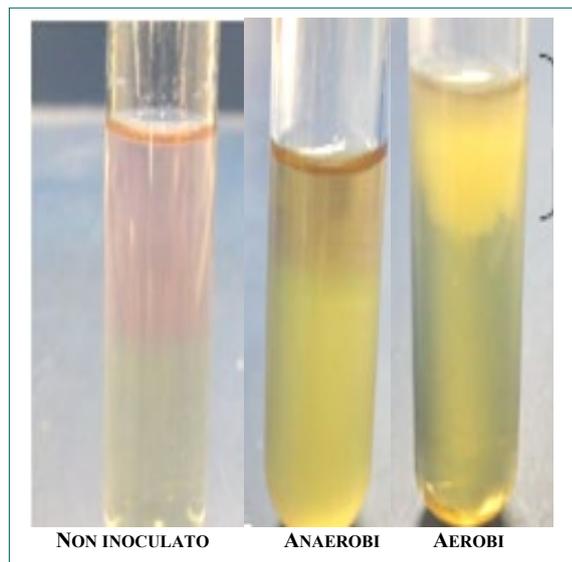
(Test presuntivo di conferma per *Clostridium*)

- Prelevare 10 colonie tipiche cresciute in terreno TSC (Cod. 14.0314V)
- Inoculare ciascuna colonia in un tubo disareato e raffreddato di Thyoglycollate Medium USP with Resazurina
- Incubare a 37°C per 18 -24 ore in anaerobiosi

Dopo l'incubazione, la crescita si evidenzia per la presenza di torbidità rispetto al controllo non inoculato (in Foto)

- Prelevare, con pipetta sterile, prelevare dalla brodocoltura in Thyoglycollate Medium USP with Resazurina
- Dispensare 5 gocce in Lactose Sulphite medium
- Incubare a 46°C per 18 -24 ore
- Considerare positivo per *Clostridium* se presente gas e precipitato nero

Sottoporre a test di conferma: riduzione dei nitrati a nitriti mobilità con il terreno Motility Nitrate medium (Cod. M 10.66) e della liquefazione della gelatina (Cod.18.0241).



PROTOCOLLO CONTROLLO QUALITÀ AI SENSI DELLA NORMA UNI EN ISO 11133 : 2018

Inoculo 10 -100 CFU/ml in **THYOGLYCOLLATE MEDIUM USP CON RESAZURINA**

Incubazione in aerobiosi a 37°C ± 1°C per 21 ± 3 ore

Semina sub coltura (recupero) nei terreni TSC agar e TSA (test Quantitativo)

TEST	MICROORGANISMO	WDCM	ATCC	INOCULO UFC/ML	TEST QUALITATIVO	RECUPERO (%) RM fertilità TSC	PR	RISULTATI
FERTILITÀ	<i>Clostridium perfringens</i>	00007	13124	100 ± 20	2 Torbido	> 90	> 0,9	Torbidità sul fondo in THYOGLYCOLLATE con RESAZ Crescita Colonie nere in TSC
	<i>Staphylococcus aureus</i>	00034	25923	100 ± 20	2 Torbido	> 90	> 0,9	Torbidità in superficie in THYOGLYCOLLATE con RESAZ Crescita Colonie in TSA
SELETTIVITÀ SPECIFICITÀ	Non previsto							
TERRENO NON INOCULATO	Color giallo paglierino con anello rosato in superficie			TEST STERILITÀ	Nessuna crescita a 37°C dopo 72 ore			

È responsabilità dell'utilizzatore assicurarsi che il protocollo di qualità corrisponda alla legislazione vigente. La crescita dipende anche dalle esigenze di ogni microrganismo. È quindi possibile che alcuni ceppi non riescano a svilupparsi.

INFORMAZIONI SU SICUREZZA – PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Prima dell'uso prendere visione delle disposizioni contenute nella Scheda di Sicurezza del prodotto disponibile sul sito www.microbiol.it oppure inoltrando richiesta all'indirizzo microbioldiagnostici@gmail.com

È un prodotto per solo uso professionale da usarsi unicamente per diagnostica in vitro e va manipolato con le precauzioni di asepsi da personale specializzato. Utilizzare adeguati sistemi di protezione delle vie respiratorie. Non ingerire.

Non utilizzare il prodotto dopo la data di scadenza o se presenta segni di deterioramento.

Non utilizzare come materiale di fabbricazione per altri prodotti

Per qualsiasi segnalazione inviare una mail al seguente indirizzo: microbioldiagnostici@gmail.com

I Certificati di Analisi sono disponibili sul sito www.microbiol.it

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Terreno disidratato: deve essere conservato ad una temperatura compresa fra 2°C e 22°C nella sua confezione ben chiusa. In queste condizioni il prodotto mantiene la sua vitalità fino alla data di scadenza riportata in etichetta.

Terreno pronto all'uso in provetta/ flacone: deve essere conservato a compresa fra +4°C e +12°C fino alla data di scadenza riportata in etichetta. **NON CONGELARE.**

BIBLIOGRAFIA

- V 08-056. Avril 1994. Microbiologie alimentaire. Dénombrement des *Clostridium perfringens* par comptage des colonies à 37 °C. Méthode de routine
- Us Pharmacopoeia (2002) <71> Sterility Test 25th Ed. US Pharmacopoeial Convention Inc. Rocville MD.
- European Pharmacopoeia (2002) 2.6.1 Sterility. 4th Ed. EDQM Council Of Europe. Strasbourg.
- FDA (1998).Bacteriological Analytical Manual 8th Ed. Revision A. AOAC ,International. Gaithersburg. MD.
- Horwitz, W. (2000) Official Methods Of Analysis. 17th Ed. AOAC International. Gaithersburg. MD.
- Atlas, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook Of Microbiological Media, CRC Press Inc., London.
- Downes, F.P. & K. Ito (2001) Compendium Of Methods For The Microbiological Examination Of Food. 3rd. Ed. American Public Health Association, Washington D.C.
- ISO 7937:2004 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of *Clostridium*.
- NF EN ISO 7937 (V 08-019). Février 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement de *Clostridium perfringens*. Technique par comptage des colonies.
- UNI EN ISO 7937:2005 Microbiologia degli alimenti e mangimi per animali – Metodo orizzontale per la conta di *Clostridium perfringens* – Tecnica della conta delle colonie
- Pharmacopée Européenne 5.6. 01/2007:20613. 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche de microorganismes spécifiques. Solution et milieux de culture recommandés, 4679-4682.
- Pharmacopea Italica XII Ed. 2008 e successivi aggiornamenti. Integrazione 2010 saggi biologici 2.6.1 sterilità