

Thioglykolátové fluidní médium EP/USP

LC1508

Pro kultivaci aerobních a anaerobních mikroorganismů při testech sterility.

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Detekce	Mezofilní aerobní
Detekce	Anaeroby
Detekce	Fakultativní aerobní

Odvětví aplikace: Farmacie / Veterinární průmysl / Kontrola kvality

Předpisy: USP / Evropský lékopis



Principy a použití

Thioglykolátové fluidní médium se používá k detekci mikroorganismů při testech sterility podle vzorce uvedeného v Evropském lékopisu USP v odstavci 2.6.1 Sterilita.

Kaseinový pepton poskytuje dusík, vitamíny, minerály a aminokyseliny nezbytné pro růst. Kvasničný extrakt je zdrojem vitaminů, zejména skupiny B. Thioglykolát sodný neutralizuje bakteriostatický účinek sloučenin používaných jako konzervační látky ve farmaceutických přípravcích, zejména injekčních. Thioglykolát sodný a L-cystin snižují oxidačně-redukční potenciál tím, že odstraňují kyslík a udržují tak nízké pH. Dextróza je zdrojem sacharidové energie a umožňuje rychlý a energický růst. Chlorid sodný dodává základní elektrolyty pro transport a osmotickou rovnováhu. Resazurin je oxidační indikátor, který se mění z růžového (aerobní podmínky) na bezbarvý (anaerobní podmínky). Bakteriologický agar zpomaluje disperzi CO₂ a difúzi O₂.

U tohoto média není nutné používat uzávěr sterilního parafinového oleje nebo inkubovat ve speciálních nádobách pro anaeroby. Anaerobní organismy se vyvíjejí na dně zkumavky, mikroaerofily uprostřed média a aeroby v horní oxidované vrstvě.

Evropský lékopis doporučuje toto médium v odstavci 2.6.1: "Mikrobiologické vyšetření sterilních výrobků" pro zkoušku sterility na anaerobní bakterie. U výrobků obsahujících rtuťovou konzervační látku, které nelze zkoušet metodou membránové filtrace, lze místo sójového bujónu Trypticasein (LC1224) použít médium Thioglycollate Fluid Medium inkubované při 20-25 °C.

Pokud studovaný materiál obsahuje jiné konzervační látky, použijte dostatečné množství thioglykolátu, abyste inokulum zředili nad úroveň jeho bakteriostatické síly.

Složení v g/l

L-Cystin	0,5	Bakteriologický agar	0,75
Monohydrát glukózy	5,5	Pankreatický digestát kaseinu	15
Resazurin	0,001	Chlorid sodný	2,5
Thioglykolát sodný	0,5	Kvasničný extrakt	5

Příprava

Suspendujte 29,8 g média v jednom litru destilované vody. Dobře promíchejte a rozpouštějte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. Rozlijte do vhodných nádob a sterilizujte v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Po přípravě se může používat ještě nějakou dobu, dokud není ze 30 % zoxidovaný, což se projeví růžovým zbarvením povrchu resazurinu. Pokud je oxidace větší, zahřejte médium pouze jednou, párou nebo vroucí vodou, ochlaďte ho a použijte.

Návod k použití

" Pro klinickou diagnózu je typem vzorku ten, který pochází ze sterilních částí těla.

Odběr, manipulace a zpracování vzorků se provádí v souladu s Doporučeními a standardy v klinické mikrobiologii.

- Očkejte zkumavky a baňky přímo vzorkem.

- Inkubujte při teplotě 35 ± 2 °C po dobu 18-24 hodin.

- ODečet a interpretace výsledků. Po inkubaci se růst projeví přítomností zákalu.

Pro izolaci patogenů z klinických vzorků subkultivujte 10-50 μ l média inkubovaného v Columbia Agar Base (LC1104) s 5 % krve pro aeroby a v Schaedler Agar (LC1066) s 5 % krve pro striktní anaeroby za vhodných atmosférických podmínek.

" Pro jiná použití, na která se nevztahuje označení CE:

Podle Evropského lékopisu pro zkoušku sterility přípravků na anerobní bakterie:

- Připravte výrobek, který má být zkoumán.

- Přeneste přípravek na membránový filtr a přidejte membránu do thioglykolátového tekutého média nebo přímo naočkujte příslušné množství přípravku do thioglykolátového tekutého média (objem přípravku nesmí být větší než 10 % objemu média).

- Inkubujte médium při teplotě 30-35 °C nejméně 14 dní.

- Pokud nedojde k růstu mikroorganismů, je výrobek sterilní.

Kontrola kvality

Rozpuštěnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
bez zbytků	Jemný prášek	Světle béžová	Čirá jantarová s růžovou svrchní vrstvou	7,1 \pm 0,2

Mikrobiologický test

Podle Evropské farmakopie knihy:

Clostridium sporogenes, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

Inkubační podmínky: (30-35 °C / \leq 3 dny).

Podmínky inokulace: (\leq 100 CFU).

Zbytek kmenů:

Inkubační podmínky: (35 \pm 2 °C / 24 h).

Mikroorganismy	Specifikace
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Dobry růst, zákal.
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	Dobry růst, zákal.
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Dobry růst, zákal.
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	Dobry růst, zákal.
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Dobry růst, zákal.
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Dobry růst, zákal.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Dobry růst, zákal.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Dobry růst, zákal.
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Dobry růst, zákal.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Dobry růst, zákal.

Skladování

Teplota Min.: 2 °C

Teplota Max.: 25 °C

Bibliografie

Brewer. JAMA, 115. 1940. Vera. J. Bact. 47:59, 1944. Pittman. J. Bact. 51:19, 1946.

Kurtin A. J. Clin. Path. 30:229, 1958.

Evropský lékopis 9.3.