

# Thioglykolátové médium

LC1533

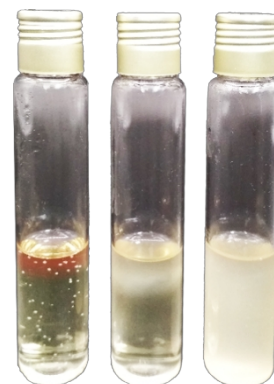
 Pro zkoušku sterility a pro kultivaci *Clostridium perfringens*

## Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Růst	<i>Clostridium perfringens</i>
Detekce	Mezofilní aerobní
Detekce	Anaeroby
Detekce	Fakultativní aerobní

Odvětví aplikace: Farmacie / Veterinární medicína / Potravinářský průmysl

Předpisy: ISO 11133 / ISO 7937



## Principy a použití

Thioglykolátové médium se připravuje podle amerického lékopisu k provádění testů sterility farmaceutických výrobků a jiných zařízení. Je vynikající pro kultivaci aerobních a anaerobních mikroorganismů bez nutnosti použití anaerobní nádoby nebo parafínu či speciálního těsnění.

Norma ISO 7937 jej doporučuje pro stanovení počtu *Clostridium perfringens* pomocí techniky počítání kolonií v konfirmačním kroku.

Je dobře pufrované, takže kyselé nebo zásadité inokula téměř nemění reakci média. Thioglykolátové médium se rovněž doporučuje pro kultivaci *Clostridium* a *Desulfotomaculum nigrificans*.

Thioglykolát sodný v médiu neutralizuje bakteriostatický účinek tuňnatých sloučenin používaných jako konzervační látky ve farmaceutických roztocích, což činí thioglykolátové médium užitečným při testování materiálů obsahujících těžké kovy. Je nezbytné stanovit bakteriostatickou aktivitu produktu metodou popsanou v USP (1970), aby se zabránilo falešně negativním výsledkům.

Malé množství agaru napomáhá detekci kontaminantů při testování sterility, protože zpožďuje disperzi CO<sub>2</sub>, difúzi O<sub>2</sub> a redukčních látek. Zdrojem dusíku je enzymatický rozklad kaseinu a vitaminy dodává extrakt z kvasnic. Thioglykolát sodný a L-cystin snižují oxidačně-redukční potenciál média tím, že odstraňují O<sub>2</sub> a udržují tak nízké Eh, čímž zabraňují hromadění peroxidů, které mohou být pro některé organismy toxické. Resazurin je indikátorem oxidace tím, že se zbarvuje do růžova. Dextróza je zkrasitelný sacharid poskytující uhlík a energii. Chlorid sodný dodává základní elektrolyty pro transport a osmotickou rovnováhu. Médium se používá v kapalné formě ve zkumavkách nebo jako šikmá pevná látka s přidavkem agaru (1,5 %).

## Složení v g/l

Enzymatický rozklad kaseinu	15	Bakteriologický agar	0,75
D-glukóza	5,5	Resazurin	0,001
Chlorid sodný	2,5	Thioglykolát sodný	0,5
Kvasničný extrakt	5	L-cystein	0,5

## 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. Pokud skladované médium vykazuje více než 20 % růžové barvy (v důsledku oxidace), měly by se zkumavky znovu zahřát ve vodní lázni, aby se vyloučil kyslík. Nezahřívajte více než jednou.

## Návod k použití

Pro potvrzení *Clostridium perfringens* pomocí laktózo-sulfitového bujónu podle ISO 7937:

- Naočkejte každou předpokládanou kolonii do thioglykolátového média

- Inkubujte za anaerobních podmínek při 37 °C po dobu 18-24 hodin. Zákal by měl být 1-2 F.T.U.
- Přeneste 5 kapek thioglykolátové kultury do laktózo-sulfitového bujónu (LC1009).
- Inkubujte aerobně při 46 °C po dobu 18 až 24 hodin.
- Prozkoumejte zkumavky s laktózo-sulfitovým bujónem na produkci plynu a přítomnost černé barvy (sraženina siřičitanu železitého).

## Kontrola kvality

Rozpustnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
Bez zbytku	Jemný prášek	Světle béžová	Čirý jantar s růžovou svrchní vrstvou	7,1 ± 0,2

## Mikrobiologický test

Podle ISO 11133, *Clostridium perfringens*:

Inkubační podmínky: (37±1 °C/ 21±3 h)

Inokulační podmínky: (10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> CFU).

Zbytek kmenů:

Inkubační podmínky: (35 ± 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>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Dobry růst, zákal.
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Dobry růst, zákal.
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Dobry růst, zákal.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Dobry růst, zákal.
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Dobry růst, zákal.

## Skladování

Teplota. Min.: 2 °C

Teplota. Max.: 25 °C

## Bibliografie

Brewer, J. Bact. 39:10. 1940. Hansen, Price a Clements. J. Bact. 64:772. 1952.

Vera. J. Bact. 47:59, 1944. King. Annals. N.Y. Acad. Sci. 98:615. 1962. Alvarez, A.J: Med. Tech. 21:249, 1955. Vera a Petran. Bull.

Natl. Assn. Clin. Lab. 5:90. 1964. Tarshis J. Lab. and Clin. Med., 54:630. 1959.

Lékopisná úmluva Spojených států amerických, 1995. 23. vydání.

Mezinárodní norma ISO 7937: Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu *Clostridium perfringens* - Technika počítání kolonií