



THIOGLYCOLLATE MEDIUM

Terreno di coltura pronto per l'uso in provetta



Thioglycollate Medium-da sinistra: provetta non inocolata, anaerobio facoltativo (*S.aureus*), anaerobio (*B.fragilis*), aerobio (*P.aeruginosa*)

DESTINAZIONE D'USO

Terreno liquido d'uso generale per la coltivazione di batteri aerobi, anaerobi, microaerofili da campioni clinici e da altri materiali. Indicato per il test di sterilità batterica in accordo al metodo armonizzato EP, USP, JP.

FORMULA TIPICA *

Digerito pancreatico di caseina	15,000 g
Estratto di lievito	5,000 g
Glucosio monoidrato	5,500 g
Sodio cloruro	2,500 g
L-cistina	0,500 g
Sodio tioglicolato	0,500 g
Resazurina	0,001 g
Agar	0,750 g
Acqua purificata	1000 mL

* Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche

DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Thioglycollate Medium, noto anche come Fluid Thioglycollate Medium, è un terreno liquido concepito da Brewer nel 1940, in virtù di studi precedenti di Quastel and Stephenson del 1926 e di Falk, Bucca e Simmons del 1939, focalizzati su formulazioni che consentissero la crescita a partire da bassi inoculi e la crescita dei batteri anaerobi in un brodo di coltura contenente una bassa concentrazione di agar e composti riducenti.

Il terreno Thioglycollate Medium qui descritto è preparato secondo la formulazione indicata dal metodo armonizzato EP, USP, JP per il test di sterilità dei prodotti farmaceutici.

La cistina ed il sodio tioglicolato, ad una concentrazione in cui possiede una ridotta tossicità per i microrganismi, agiscono come sostanze riducenti reagendo con ed eliminando le molecole di ossigeno dal terreno e prevenendo l'accumulo di perossidi, letali per alcuni microrganismi aerobi e anaerobi. I gruppi sulfidrilici (SH) dei due composti inattivano inoltre i composti mercuriali, i composti a base di arsenico e di altri metalli pesanti, mantenendo un basso potenziale di ossidoriduzione ed assicurando condizioni di anaerobiosi.

L'agar presente alla concentrazione dello 0,75%, aiuta nell'inizializzazione della crescita degli anaerobi e ne consente la crescita a partire da bassi inoculi; esso ritarda inoltre la diffusione dell'ossigeno nel mezzo e permette solo una lenta liberazione dal terreno delle sostanze riducenti prodotte dai microrganismi e dell'anidride carbonica. La resazurina è presente nel terreno come indicatore di ossidoriduzione, in sostituzione del blu di metilene presente nella formula originale di Brewer e più tossico: il viraggio al rosa della resazurina è indice di presenza di condizioni aerobiche. Il peptone di caseina e l'estratto di lievito sono fonti di azoto, carbonio, vitamine e sali minerali per la crescita microbica, il glucosio è una fonte di carbonio e di energia, il sodio cloruro consente di mantenere un adeguato tenore osmotico al brodo di coltura.

CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto del terreno in provetta

paglierino, leggermente opalescente, con anello rosa nella parte superiore del terreno

pH (20-25°C)

7,1 ± 0,2

MATERIALI FORNITI

Provette di vetro con tappo a vite pronte all'uso contenenti 10 mL di terreno di coltura Thioglycollate Medium.

MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori.

MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, provette e flaconi autoclavabili, anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori.



CAMPIONI

In microbiologia clinica il terreno può essere inoculato con qualsiasi tipo di campione dal quale si intenda coltivare batteri aerobi, anaerobi o microaerofili. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, la conservazione ed il trasporto in Laboratorio dei campioni. Per campioni farmaceutici sui quali eseguire il test di sterilità, fare riferimento alla Farmacopea Europea ed alle modalità di raccolta dei campioni ivi descritte.

PROCEDURA DELL'ANALISI

Prima dell'uso, nel caso nelle provette vi sia una colorazione rosa e quindi condizioni di aerobiosi, superiore ad un terzo in altezza, svitare parzialmente i tappi e porre le provette in acqua bollente per circa 5 min finché il terreno non si sia ridotto (incolore). Avvitare bene i tappi subito dopo la rimozione delle provette dal calore e attendere che il terreno si raffreddi a temperatura ambiente. Inoculare le provette direttamente con i campioni ed incubare a 35 ± 2 °C per 7 giorni. Per usi specifici, incubare alla temperatura e per il tempo previsto dalle proprie procedure ed in funzione del microorganismo che si desidera coltivare.

Per il test di sterilità fare riferimento alla Farmacopea Europea ed alle modalità di semina ed incubazione ivi descritte.

LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, la presenza di crescita batterica è indicata da un intorbidamento di varia entità del brodo di coltura: i microrganismi strettamente aerobi tendono a crescere sulla superficie del brodo nello strato ossidato di colore rosa, mentre gli anaerobi crescono soltanto nello strato di brodo più profondo, ridotto e privo di colore rosa.

CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. E' comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO		INCUBAZIONE T° / t / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>B. fragilis</i> **	ATCC 25285	35°C / 48h - A	buona crescita
<i>S. aureus</i> **	ATCC 25293	35°C / 48 h - A	buona crescita
<i>C. sporogenes</i> *	ATCC 19404	35°C / 72h - A	buona crescita
<i>P. aeruginosa</i> *	ATCC 9027	35°C / 72h - A	buona crescita
<i>S. aureus</i> *	ATCC 6538	35°C / 72h - A	buona crescita
<i>B. subtilis</i> *	ATCC 6633	35°C / 72h - A	buona crescita
<i>C. albicans</i>	ATCC 10231	35°C / 72h - A	buona crescita
<i>C. perfringens</i> ***	ATCC 13124	35°C / 18-24 h - A	buona crescita

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrate di American Type Culture Collection

*: ceppi indicati da EP.; **: ceppi indicati da CLSI.; *** ceppo indicato da ISO 11133:2014/Amd 1:2018

LIMITI DEL METODO

- I batteri anaerobi facoltativi a crescita rapida possono crescere in eccesso e mascherare la crescita degli anaerobi.
- Alcuni anaerobi possono essere inibiti dai prodotti metabolici o dagli acidi che si formano durante la crescita dei batteri anaerobi facoltativi a crescita rapida.
- I batteri cresciuti nel terreno possono andare incontro alla perdita della loro vitalità; nel caso la subcoltura da Thioglycollate Medium su terreno solido in piastra non rivela crescita microbica, eseguire una colorazione Gram sulla coltura in brodo. Nel caso le provette di Thioglycollate Medium vengano usate per la conservazione dei batteri aggiungere a ciascuna provetta 0,1g di calcio carbonato che neutralizza gli acidi che si producono durante la crescita microbica, promuove la vitalità batterica e la formazione di spore, migliorando in questo modo la conservabilità dei batteri acido-sensibili come pneumococchi, cocchi gram-negativi, *Clostridium perfringens*.
- Il terreno qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati dei test microscopici e/o di altri test diagnostici.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente.
- Il prodotto qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* sugli animali e quelli durante il processo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto qui descritto con le precauzioni d'uso specifiche per i prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alla TSE.
- Il prodotto qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale. Esso deve essere usato in Laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni poiché le colture microbiche e le provette seminate sono da considerare come potenzialmente infettive.
- La singola provetta del prodotto qui descritto è monouso. Il produttore non si assume responsabilità di eventuali trasferimenti/suddivisioni del prodotto in altri contenitori.



- Il prodotto qui descritto è soggetto a sterilizzazione terminale in autoclave ma, non essendo sottoposto a test di sterilità con metodo normato, non è etichettato come "sterile" e deve essere quindi inteso come prodotto a biocontaminazione controllata e nei limiti di specifiche definite.
- Prima dell'utilizzo verificare l'integrità del tappo a vite.
- Non utilizzare le provette oltre la data di scadenza. Non utilizzare le provette se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, colore alterato).
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- Sterilizzare le provette dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire le provette non utilizzate e quelli inoculate con i campioni o con i ceppi microbici in accordo alla legislazione vigente in materia.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.

CONSERVAZIONE

Conservare a +15 °C / +25 °C al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta.

Il terreno in provetta va incontro ad ossidazione durante la conservazione, visualizzata dallo sviluppo di una colorazione rosa. Al fine di ripristinare le condizioni di anaerobiosi, nel caso la zona di ossidazione superi un terzo del volume del terreno, svitare parzialmente i tappi e porre le provette in acqua bollente per circa 5 min finché il terreno non si sia ridotto (incolore). Riavvitare quindi i tappi.

BIBLIOGRAFIA

- Brewer, J.H. 1940. J. Am. Med. Assoc. 115:598-600.
- CLSI document M22-A3, 2004. Quality Control of Commercially Prepared Microbiological Media: Approved Standard - Third Edition. Vol. 24 No.19
- European Pharmacopoeia, current edition.
- Falk, Bucca and Simmons. 1939. J. Bacteriol. 37:121.
- ISO 11133:2014/Amd.1:2018(en) Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media. AMENDMENT 1
- Mac Faddin, J.F. (1985) Media for Isolation, Cultivation, Identification, Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: The Williams & Wilkins Company.
- Quastel and Stephenson. 1926. J. Biochem. 20:1125.

CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Thioglycollate Medium	Terreno pronto all'uso in provetta di vetro 17x125 mm, con fondo piatto e tappo a vite.	552137	20 provette da 10 mL, in scatola di cartone

CODICE CND: W0104010206

RDM: 1514919/R



Biolife Italiana S.r.l., Viale Monza 272, Milano, Italia.