

Medio de Tioglicolato ISO

Cat. 1533

Para el test de esterilidad, y para el cultivo de *Clostridium perfringens*.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Cultivo	<i>Clostridium perfringens</i>
Detección	Aerobios mesófilos
Detección	Anaerobios
Detección	Aerobias facultativas

Industria: Farmacéutica/Veterinaria / Alimentación

Regulaciones: ISO 11133 / ISO 7937



Principios y usos

El Medio de Tioglicolato se prepara de acuerdo con la Farmacopea Americana para realizar pruebas de esterilidad de productos farmacéuticos y otros dispositivos. Este medio es excelente para el cultivo de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos sin la necesidad de una jarra de anerbiosis, parafina o un sello especial.

El medio es recomendado por la norma ISO 7937 para la enumeración de *Clostridium perfringens* utilizando la técnica de conteo de colonias en el paso de confirmación.

Es un medio bien amortiguado, de modo que los inóculos ácidos o alcalinos apenas alterarán la reacción del medio. El Medio de Tioglicolato también se recomienda para el cultivo de *Clostridium* y *Desulfotomaculum nigrificans*.

El tioglicolato sódico en el medio neutraliza el efecto bacteriostático producido por los compuestos mercuriales utilizados como conservantes en soluciones farmacéuticas, lo que hace que el medio de tioglicolato sea útil para analizar materiales que contienen metales pesados. Es necesario establecer la actividad bacteriostática del producto mediante el método descrito en la USP (1970) para evitar resultados falsos negativos.

La pequeña cantidad de agar ayuda en la detección de contaminantes durante las pruebas de esterilidad, ya que retrasa la dispersión de CO₂, la difusión de O₂ y las sustancias reductoras. La fuente de nitrógeno es proporcionada por el digerido enzimático de caseína y las vitaminas por el extracto de levadura. El tioglicolato de sodio y la L-cistina reducen el potencial de oxidación-reducción del medio eliminando el O₂ para mantener un Eh bajo, evitando así la acumulación de peróxidos que pueden ser tóxicos para algunos organismos. La resazurina es un indicador de oxidación al volverse rosa. La dextrosa es el carbohidrato fermentable que proporciona carbono y energía. El cloruro de sodio suministra electrolitos esenciales para el transporte y el equilibrio osmótico. El medio se usa en forma líquida en tubos de ensayo o como un sólido inclinado con la agregación de agar (1.5%).

Fórmula en g/L

Digerido enzimático de caseína	15	Agar bacteriológico	0,75
D-Glucosa	5,5	Resazurina	0,001
Cloruro sódico	2,5	Tioglicolato de sodio	0,5
Extracto de levadura	5	L-Cisteína	0,5

Preparación

Suspender 29,8 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor y agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta su completa disolución. Dispensar en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Si el medio almacenado exhibe más de 20% de color rosa (debido a la oxidación), los tubos deben recalentarse en un baño de agua para expulsar el oxígeno. No recalentar más de una vez.

Instrucciones de uso

Para la confirmación de *Clostridium perfringens* mediante el uso del Caldo Lactosa Sulfito de acuerdo a ISO 7937:

- Inocular cada presunta colonia en Medio de Tioglicolato.
- Incubar bajo condiciones anaeróbicas a 37 °C durante 18-24 horas. La turbidez debe ser de 1-2 F.T.U.
- Transferir 5 gotas del cultivo de tioglicolato al Caldo Lactosa Sulfito (Cat. 1009).
- Incubar aeróbicamente a 46 °C durante 18 a 24 horas.
- Examinar los tubos de Caldo Lactosa Sulfito para la producción de gas y la presencia de un color negro (sulfito de hierro precipitado).

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Beige claro	Ámbar claro con una capa superior rosa	7,1 ± 0,2

Test microbiológico

De acuerdo a ISO 11133, *Clostridium perfringens*:

Condiciones de incubación: (37±1 °C/ 21±3 h)

Condiciones de inoculación: (10³-10⁴ CFU)

Resto de cepas:

Condiciones de incubación: (35±2 °C / 24 h).

Microrganismos	Especificación
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Buen crecimiento, turbidez.
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	Buen crecimiento, turbidez.
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Buen crecimiento, turbidez.
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Buen crecimiento, turbidez.
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Buen crecimiento, turbidez.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Buen crecimiento, turbidez.
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Buen crecimiento, turbidez.

Almacenamiento

Temp. Min.:2 °C

Temp. Max.:25 °C

Bibliografía

Brewer, J. Bact. 39:10. 1940. Hansen, Price, and 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 and Petran.

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

The United States Pharmacopoeial Convention, 1995. 23th ed.

International Standard ISO 7937: Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal Method for the enumeration of *Clostridium perfringens* – Colony-count technique