

INSTRUÇÕES DE USO

MEIO TIOGLICOLATO

Meio recomendado para teste de sensibilidade e cultivo de *Clostridium perfringens*.

Descrição

O MEIO TIOGLICOLATO é recomendado para realização de testes de sensibilidade, segundo a Farmacopeia Americana (USP), e para cultivo de *Clostridium perfringens*, segundo a ISO 7937.

Composição

Fórmula em g/L	
Digestivo enzimático de caseína	15,00
Dextrose anidra	5,00
Extrato de levedura	5,00
Cloreto de sódio	2,50
Tioglicolato de sódio	0,50
L-cistina	0,50
Resazurina	0,001
Agar bacteriológico	0,75
pH Final 7,1 ± 0,2 a 25°C	

Preparação

Suspender 29.3 gramas do meio em um litro de água destilada. Misturar bem e dissolver sob aquecimento com agitação frequente. Ferver por um minuto até completa dissolução. Dispensar em recipientes apropriados e esterilizar em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Resfriar a temperatura ambiente (25°C). Se o meio armazenado apresentar mais que 20% de coloração rosa (devido a oxidação), os tubos devem ser reaquecidos em banho maria para eliminar o oxigênio. Não reaquecer mais que uma vez. O meio preparado deve ser armazenado entre 2 – 8°C. A coloração é âmbar claro com uma camada superior rosa. O meio desidratado deve ser homogêneo, de fluxo livre e de coloração bege. Se houver qualquer alteração física, descartar o meio.

Usos

O MEIO TIOGLICOLATO (USP e ISO 7937) é preparado de acordo com a Farmacopeia Americana para realizar testes de esterilidade em produtos farmacêuticos e outros dispositivos. Este meio é excelente para o cultivo de microorganismos aeróbios e anaeróbios sem a necessidade de um frasco anaeróbio, parafina ou selagem especial. O meio é bem tamponado, para que inoculos ácidos ou alcalinos dificilmente alterem a reação do meio. O meio tioglicolato é também recomendado para o cultivo de *Clostridium* e *Desulfotomaculum nigrificans*. O tioglicolato de sódio presente no meio neutraliza os efeitos bacteriostáticos produzidos por compostos de mercúrio utilizados como conservantes em soluções farmacêuticas, tornando este meio útil para testes de materiais que contém metais pesados em sua composição. É necessário estabelecer a atividade bacteriostática do produto através de métodos descritos na USP (1970) com a finalidade de evitar resultados falso negativos. A pequena quantidade de ágar auxilia na detecção de contaminantes durante testes de esterilidade, uma vez que retarda a dispersão de CO₂, a difusão de O₂ e promove a redução de substâncias. A fonte de nitrogênio é fornecida pelo digestivo enzimático de caseína, enquanto as vitaminas pelo extrato de levedura. O tioglicolato de sódio e a L-cistina diminuem o potencial de oxidação-redução do meio removendo O₂ para manter um baixo Eh, evitando assim o acúmulo de peróxidos que podem ser tóxicos para alguns organismos. A resazurina atua como indicador de oxidação através da coloração rosa. A dextrose é o carboidrato fermentável e fornece carbono e energia. O cloreto de sódio fornece os eletrólitos essenciais para o transporte e balanço osmótico. O meio é utilizado no estado líquido e disposto em tubos ou como um meio sólido inclinado quando adicionado ágar (1,5%). O meio ou o tubo com ágar inclinado pode ser inoculado diretamente e incubado a 35 ± 2°C por 18 – 24 horas.

O meio é recomendado pela normativa ISO 7937 para contagem de *Clostridium perfringens* utilizando a técnica de contagem de colônias. Antes de usar os tubos estes devem ser deixados ao ar. Incubar sob condições anaeróbias a 37°C durante 18 – 24 horas. A turbidez deve ser entre 1 – 2 F.T.U.

Teste Microbiológico

Os resultados abaixo foram obtidos do desempenho do meio frente a cultura das espécies, após incubação a uma temperatura de 35 ± 2°C e observado após 18 - 24 horas.

Microorganismo	ATCC	Crescimento
<i>Bacillus subtilis</i>	6633	Bom
<i>Candida albicans</i>	10231	Bom
<i>Clostridium sporogenes</i>	11437	Bom
* <i>Clostridium perfringens</i>	131124	Bom
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Bom
<i>Bacillus fragilis</i>	25285	Bom
<i>Escherichia coli</i>	25922	Bom

*De acordo com a ISO 7937, incubar sob condições anaeróbias a 37°C por 18 – 24 horas.

De acordo com a ISO 11133: 21 ± 3 h / 37 ± 1°C:

Microorganismo	ATCC	Inóculo (UFC/mL)	Produtividade qualitativa
<i>Clostridium perfringens</i>	13124	10 ³ - 10 ⁴	Turbidez (2)

Armazenamento

Uma vez aberto manter o meio em pó fechado para evitar a hidratação.

Referências

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

Tabela de Símbolos

 Certificação ISO	 Recomendado pela Farmacopeia Americana	 Proteger contra umidade	 Proteger contra luz	 Limites de temperatura
---	---	--	---	---

Para maiores informações

Telefone: (41) 3535-0900

Fax: (41) 3535-0901

E-mail: kasvi@kasvi.com.br

URL: www.kasvi.com.br