



## Fluid Thioglycollate Medium

Liquid medium for sterility test and cultivation of fastidious anaerobic and aerobic microorganisms, according to Harmonized USP/EP/JP and ISO 7937.

### DESCRIPTION

Fluid Thioglycollate Medium is a general purpose liquid enrichment medium used for sterility control of pharmaceutical products and for cultivation and isolation of fastidious anaerobic and aerobic microorganisms. The composition is in accordance with the requirements of the Harmonized US, European and Japanese Pharmacopoeia as well as with ISO 7937 for isolation of *Clostridium perfringens*.

### TYPICAL FORMULA

	(g/l)
Enzymatic Digest of Casein	15.0
Yeast Extract	5.0
Glucose	5.5
Sodium Chloride	2.5
Sodium Thioglycollate	0.5
L-Cystine	0.5
Resazurin	0.001
Agar	0.75

Final pH 7.1 ± 0.2 at 25°C

### METHOD PRINCIPLE

Enzymatic digest of casein provides amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-group. Glucose is a source of energy. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. Sodium thioglycollate and L-cystine are included to reduce the redox potential of the medium and create an anaerobic atmosphere. These reducing agents also neutralize the bacteriostatic effects of mercury and other heavy metal compounds in the preparation to be tested for sterility. Resazurin is an oxidation-reduction indicator being pink when oxidized and colorless when reduced. The small amount of agar assists in the maintenance of a low redox potential by stabilizing the medium against convection currents, thereby maintaining anaerobiosis in the lower depths of the medium.

### PREPARATION

Dehydrated medium Suspend 29.8 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. Dispense into appropriate containers. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.

Medium in tubes/bottles If the medium exhibits more than 20% pink color (due to oxidation), the medium may be reheated once for 5 minutes with cap slightly loosened in steam or boiling water in order to expel the oxygen.

### TEST PROCEDURE

The medium can be directly inoculated with the test sample (the amount of the inoculated sample material should not be exceed 10% volume of the medium). Incubate at 30-35°C for up to 14 days. Growth of strictly aerobic bacteria can be improved by slightly loosening the cap.

According to ISO 7937 for confirmation of *Clostridium perfringens* inoculate each black colony from Sulfite Cycloserine Agar (ref. 402700) into Fluid Thioglycollate Medium. Incubate at 37 ± 1°C for 18-24 hours. Subsequently, transfer 5 drops of the enrichment culture into Lactose Sulfite Medium (ref. 610358) and incubate at 46 ± 1°C for 18-24 hours.

### INTERPRETING RESULTS

Turbidity of the medium indicates microbial growth. Obligate anaerobic microorganisms such as *Clostridium sporogenes* are growing in the lower, yellowish part of the broth medium. The growth of facultative anaerobic microorganisms such as *Staphylococcus aureus* is distributed throughout all the medium. Aerobic microorganisms such as *Pseudomonas aeruginosa* are able to grow in the upper slightly pink layer (oxidized part) of the medium.

### APPEARANCE

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, light beige.

Prepared medium: slightly opalescent, light amber (20% or less of upper layer may be pink).

**STORAGE**

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles and tubes at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

**SHELF LIFE**

Dehydrated medium: 4 years.

Medium in bottles: 2 years.

Medium in tubes: 1 year.

**QUALITY CONTROL**

Fluid Thioglycollate Medium is inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: ≤ 100 CFU.

Incubation conditions: 24 h at 30-35°C for bacteria, 48 h at 20-25°C for yeasts, 72 h at 20-25°C for moulds (Pharmacopoeia growth promotion);  
18-24 at 37 ± 1°C for *Clostridium perfringens* (ISO 11133).

**QC Table.**

Microorganism		Specification
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC® 6633	Visible turbidity
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC® 19404	Visible turbidity
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Visible turbidity
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 9027	Visible turbidity
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 6538	Visible turbidity
<i>Candida albicans</i>	ATCC® 10231	Visible turbidity
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC® 16404	Visible turbidity
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00007	Slight to good turbidity

**WARNING AND PRECAUTIONS**

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for *in vitro* diagnostic use and must be used only by properly trained operators.

**DISPOSAL OF WASTE**

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

**BIBLIOGRAPHY**

See the references at the end of this document.

**TABLE OF SYMBOLS**

See the table of symbols at the end of this document.

**The product is available in the various configurations listed on the next page.** There may be additional product ref. numbers as well. For an updated listing of available products, visit [liofilchem.com](http://liofilchem.com)

Product Description	Format	Packaging	Ref.
Fluid Thioglycollate Medium	Tube	20 x 10 ml tubes	24124
Fluid Thioglycollate Medium	Tube	100 x 10 ml tubes	26124
Fluid Thioglycollate Medium	Tube	10 x 15 ml tubes	21242
Fluid Thioglycollate Medium	Tube	10 x 20 ml tubes	21241
Fluid Thioglycollate Medium	Tube	20 x 20 ml tubes	24241
Fluid Thioglycollate Medium	Bottle	6 x 100 ml bottles (flip-off cap)	400020
Fluid Thioglycollate Medium	Bottle	6 x 100 ml bottles (screw cap)	452060
Fluid Thioglycollate Medium	Bottle	25 x 100 ml bottles (flip-off cap)	453020
Fluid Thioglycollate Medium	Bottle	6 x 100 ml bottles (crimp cap)	495020
Fluid Thioglycollate Medium	Bottle	6 x 100 ml bottles (perforable cap)	493000
Fluid Thioglycollate Medium	Bottle	25 x 100 ml bottles (screw cap)	453060
Fluid Thioglycollate Medium	Bottle	6 x 500 ml bottles (wide neck)	470300
Fluid Thioglycollate Medium	Bottle	6 x 900 ml bottles (screw cap)	463100
Fluid Thioglycollate Medium	Dehydrated medium	100 g of powder	620050
Fluid Thioglycollate Medium	Dehydrated medium	500 g of powder	610050
Fluid Thioglycollate Medium	Dehydrated medium	5 kg of powder	6100505

This document is available from the online Support Center:

[liofilchem.com/ifu-sds](http://liofilchem.com/ifu-sds)



## Fluid Thioglycollate Medium

Terreno liquido per i test di sterilità e la coltivazione di microrganismi esigenti anaerobi ed aerobi, secondo USP/EP/JP armonizzata ed ISO 7937.

### DESCRIZIONE

Fluid Thioglycollate Medium è un terreno di arricchimento liquido utilizzato per il controllo della sterilità dei prodotti farmaceutici e la coltivazione e l'isolamento dei microrganismi esigenti aerobi ed anaerobi.

La composizione è in conformità con i requisiti dettati della Farmacopea armonizzata Statunitense, Europea, e Giapponese. Il terreno è raccomandato dalla ISO 7937 per l'isolamento di *Clostridium perfringens*.

### FORMULA TIPICA

	(g/l)
Digerito Enzimatico di Caseina	15.0
Estratto di Lievito	5.0
Glucosio	5.5
Sodio Cloruro	2.5
Sodio Tioglicollato	0.5
L-Cistina	0.5
Resazurina	0.001
Agar	0.75
pH Finale 7.1 ± 0.2 a 25°C	

### PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito enzimatico di caseina fornisce aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita degli organismi. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, soprattutto del gruppo-B. Il glucosio è il carboidrato fermentabile. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. Sodio tioglicollato e L-cistina sono inclusi per ridurre il potenziale redox del terreno e creare un ambiente anaerobico. Questi agenti riducenti neutralizzano anche gli effetti batteriostatici del mercurio e di altri metalli pesanti eventualmente presenti nella preparazione oggetto del controllo di sterilità. L'agar è l'agente solidificante. La resazurina è un indicatore di ossido-riduzione che di colore rosa quando ossidato ed incolore ed incolore nello stato ridotto. Il piccolo quantitativo di agar contribuisce a tenere basso il potenziale di ossido-riduzione, stabilizzando il terreno rispetto alle correnti convettive e mantenendo quindi l'anaerobiosi negli strati più profondi del terreno.

### PREPARAZIONE

<u>Terreno disidratato</u>	Sospendere 29.8 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.
<u>Terreno in provette/ flaconi</u>	Se il terreno appare di colore rosa per più del 20% (dovuto all'ossidazione), lo si può riscaldare una volta in acqua bollente o vapore per 5 minuti con il tappo leggermente svitato per espellere l'ossigeno.

### PROCEDURA DEL TEST

Il terreno può essere inoculato direttamente con il campione da testare (la quantità di campione da inoculare non dovrebbe superare il 10% del volume del terreno). Incubare a 30-35°C fino a 14 giorni. La crescita dei batteri strettamente aerobi può essere migliorata svitando leggermente il tappo.

La ISO 7937 raccomanda di confermare *Clostridium perfringens* inoculando Fluid Thioglycollate Medium con ciascuna colonia nera cresciuta su Sulfite Cycloserine Agar (ref. 402700). Incubare a 37 ± 1°C per 18-24 ore. Quindi, trasferire 5 gocce della coltura di arricchimento in Lactose Sulfite Medium (ref. 610358) ed incubare a 46 ± 1°C per 18-24 ore.

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La torbidità del terreno è indice di crescita microbica. I microrganismi anaerobi obbligati come il *Clostridium sporogenes* crescono nella parte bassa giallastra del terreno. La crescita dei microrganismi anaerobi facoltativi come lo *Staphylococcus aureus* è diffusa in tutto il terreno. I microrganismi aerobi come *Pseudomonas aeruginosa* crescono nello strato superficiale e leggermente rosa (parte ossidata) del terreno.

### ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, beige chiaro.

Terreno preparato: ambra chiaro, leggermente opalescente (il 20% o meno dello strato superficiale può essere rosa).

**CONSERVAZIONE**

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare i flaconi e le provette a 10-25°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

**VALIDITÀ**

Terreno disidratato: 4 anni.

Terreno in flaconi: 2 anni.

Terreno in provette: 1 anno.

**CONTROLLO DI QUALITÀ**

Il terreno viene inoculato con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività: ≤ 100 UFC.

Condizioni di incubazione: 24 ore a 30-35°C per batteri, 48 ore a 20-25°C per lieviti, 72 ore a 20-25°C per muffe (Pharmacopoeia growth promotion);  
18-24 ore a 37 ± 1°C per *Clostridium perfringens* (ISO 11133).

**Tabella CQ.**

Microrganismo		Specifiche
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC® 6633	Torbidità visibile
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC® 19404	Torbidità visibile
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Torbidità visibile
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 9027	Torbidità visibile
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 6538	Torbidità visibile
<i>Candida albicans</i>	ATCC® 10231	Torbidità visibile
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC® 16404	Torbidità visibile
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00007	Torbidità da leggera a buona

**AVVERTENZE E PRECAUZIONI**

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

**SMALTIMENTO DEI RIFIUTI**

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

**BIBLIOGRAFIA**

Vedere i riferimenti alla fine di questo documento.

**TABELLA DEI SIMBOLI**

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento.









**Il prodotto è disponibile in diverse configurazioni. Vedere l'elenco nella lingua inglese.**

Questo documento è disponibile dal Support Center online:  
[liofilchem.com/ifu-sds](http://liofilchem.com/ifu-sds)

**BIBLIOGRAPHY / BIBLIOGRAFIA**

1. EN ISO 11133:2014+Amd1:2018. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. United States Pharmacopoeia 41 NF 33 (2018) <61> Microbiological examination of non-sterile products: Microbial enumeration tests; <1116> Microbiological control and monitoring of aseptic processing environments.
3. European Pharmacopoeia 9.0 (2016) 2.6.12. Microbiological examination of non-sterile products: Microbial enumeration tests.
4. Japanese Pharmacopoeia 16th ed. (2011): 4.05 Microbial limit test.
5. ISO 7937:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* – Colony count technique.
6. Brewer J.H. (1940) Clear liquid medium for the aerobic "cultivation" of anaerobes. J. Am. Med. Assoc. 115:598-600.

**TABLE OF SYMBOLS / TABELLA DEI SIMBOLI**

<b>LOT</b>	Batch code / Codice del lotto
<b>REF</b>	Catalogue number / Numero di catalogo
<b>IVD</b>	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico <i>in Vitro</i>
	Manufacturer / Fabbricante
	Use by / Utilizzare entro
	Fragile, handle with care / Fragile, maneggiare con cura
	Temperature limitation / Limiti di temperatura
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi
	Caution, consult Instruction For Use / Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso
	Do not reuse / Non riutilizzare
	Keep away from sunlight / Tenere al riparo dalla luce

**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy

Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330

www.liofilchem.com

liofilchem@liofilchem.com

