



ÁGAR TSI (ISO 6579-1)

IDENTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIA

USO

O Ágar Triplo Açúcar de Ferro (TSI Agar) é usado para a confirmação e identificação de *Enterobacteriaceae*. Este meio permite a diferenciação dos fermentadores da dextrose, lactose, e/ou sacarose e a detecção da produção de sulfeto de hidrogênio.

A fórmula padrão atende à composição de ágar TSI definida nas normas NF ISO 6579-1 e NF ISO 19250 para a detecção de *Salmonella* spp.

HISTÓRIA

Hajna desenvolveu a formulação para este ágar com adição de sacarose ao meio de Kligler (que contem lactose e glicose). A adição de sacarose aumenta a sensibilidade do meio, permitindo a detecção de Coliformes que fermentam a lactose lentamente e degradam a sacarose mais rapidamente. O meio também promove a diferenciação de certas cepas de *Proteus* (lactose-negativa) que fermentam a sacarose em 24 horas de incubação.

PRINCÍPIOS

Fermentações de açúcares resultam em acidificação que torna o fenol vermelho (indicador de pH) amarelo.

Para facilitar a detecção de microrganismos que fermentam apenas glicose, a concentração deste açúcar foi reduzida para 1/10 da lactose ou sacarose, de modo que a pequena quantidade de ácido produzida durante a fermentação oxida rapidamente, resultando em um rápido retorno à coloração vermelha. Por outro lado, a reação ácida (cor amarela) é mantida em profundidade do tubo.

Os microrganismos que fermentam a lactose ou a sacarose fazem com que a inclinação do tubo fique amarela.

Os microrganismos que não fermentam nenhum dos três açúcares não alteram a cor do meio.

A produção de sulfeto de hidrogênio se manifesta no *pellet* pelo aparecimento de uma cor preta de sulfeto de ferro, que é devido à redução do tiossulfato na presença de citrato férrico.

A produção de gás (hidrogênio, dióxido de carbono) resultante das fermentações dos açúcares resulta no aparecimento de bolhas ou na fragmentação do ágar.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para obter um desempenho ideal).

Para 1 litro de meio:

- | | |
|--|--------|
| - Extrato de levedura autolítica | 3,0 g |
| - Extrato de carne | 3,0 g |
| - Peptona..... | 20,0 g |
| - Cloreto de Sódio..... | 5,0 g |
| - Lactose | 10,0 g |
| - Sacarose | 10,0 g |
| - Glicose | 1,0 g |
| - Tiossulfato de sódio..... | 0,3 g |
| - Citrato de ferro (III) | 0,3 g |



- Vermelho de fenol 24,0 mg
- Ágar bacteriológico 9,0 g

pH do meio pronto a usar a 25°C: 7,4 ± 0,2.

PREPARAÇÃO

- Suspende 61,6 g de meio desidratado (BK221) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente, leve o meio para ferver com agitação constante até sua completa dissolução.
- Distribuir em tubos.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Inclinar os tubos e aguardar solidificar.

- Reconstituição:

61,6 g/L

- Esterilização:
15 min a 121°C

NOTA: Quando o meio não é usado dentro de 8 dias de preparação, é recomendado regenerar em banho-maria e solidificar novamente na posição correta.

INSTRUÇÃO DE USO

- Retirar uma alçada de uma colônia suspeita, presente no meio de isolamento seletivo, e inocular no TSI realizando estria na superfície.
- Incubar a 37 ± 1°C por 24 ± 3 horas

- Semeando:

Estriar com alça em superfície

- Incubação:

24 h a 37°C

NOTA: Para análise de amostras de água, incube a 36 ± 2°C por 24 ± 3 horas.

RESULTADO

O uso de um dos açúcares contidos no meio resulta na acidificação (viragem amarela do vermelho de fenol). A alcalinização é revelada por uma cor vermelho escuro. A produção de sulfeto de hidrogênio a partir do tiosulfato é evidenciada pela formação de uma cor preta.

O Ágar TSI fornece quatro informações principais:

Fermentação de glicose:

- Base vermelha: glicose não fermentada
- Base amarela: glicose fermentada

Fermentação de lactose e / ou sacarose:

- Declive vermelho: lactose e sacarose não fermentadas
- Declive amarelo: lactose e/ ou sacarose fermentadas

Produção de gás:

- Aparência de gás na base

Formação de H₂S:

- Formação de uma cor preta entre o *pellet* e o declive ou ao longo da picada

As reações típicas obtidas são apresentadas na tabela a seguir:

Microrganismos	Inclinação	Base		H ₂ S
	Lactose / Sacarose	Glicose	Gás	
<i>Salmonella Typhi</i> ⁽²⁾	-	+	-	+
<i>Salmonella Paratyphi A</i> ⁽²⁾	-	+	+	-
<i>Salmonella Choleraesuis</i> ⁽²⁾	-	+	+	-
<i>Salmonella Pullorum</i> ⁽²⁾	-	+	+	+
<i>Salmonella Paratyphi B</i> ⁽²⁾	-	+	+	+
<i>Salmonella Typhimurium</i> ⁽²⁾	-	+	+	+
<i>Salmonella Enteritidis</i> ⁽²⁾	-	+	+	+
<i>Salmonella Gallinarum</i> ⁽²⁾	-	+	-	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	-	+	-	-
<i>Shigella flexneri</i>	-	+	-	-
<i>Shigella sonnei</i>	-	+	-	-
<i>Shigella boydii</i>	-	+	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	[-]	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	+	+
<i>Proteus morganii</i>	-	+	+	-
<i>Proteus rettgeri</i>	-	+	-	-

Microrganismos	Inclinação	Base		H ₂ S
	Lactose / Sacarose	Glicose	Gás	
<i>Serratia marcescens</i>	-	+	-	-
<i>Enterobacter hafniae</i>	-	+	+	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	+	+	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	-
<i>Escherichia coli</i> ⁽¹⁾	+	+	+	-
<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	-
<i>Alcaligenes faecalis</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	-

⁽¹⁾ Certas cepas de *Escherichia coli* não fermentam a lactose até 24h.

⁽²⁾ Se a interpretação sugerir a presença de *Salmonella*, é possível testar para β-galactosidase, urease e lisina descarboxilase de culturas em meio TSI.

Consulte o ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio desidratado: pó rosa e homogêneo.

Meio preparado: ágar vermelho-laranja.

Resposta de cultivo após 24 horas de incubação a 36°C (FD T 90-461)



Microrganismos	Crescimento	Inclinação	Base	H ₂ S	Gás
<i>Salmonella</i> Enteritidis WDCM 00030	Bom	Vermelho	Amarelo	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> WDCM 00026	Bom	Vermelho	Vermelho	-	-

ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA

Meio desidratado: 2-30°C.

A data de validade é mencionada no rótulo.

APRESENTAÇÃO

Meio desidratado:

Frasco de 500 g.....BK221HA

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Sulkin, E.S., and Willet, J.C. 1940. A Triple Sugar Ferrous Sulfate Medium for use in Identification of Enteric Organisms. J. Lab. Clin. Med., 25: 649-653.

Hajna, A.A. 1945. Triple Sugar Iron Medium for the Identification of the Intestinal groups of Bacteria. J. Bact. 49: 516-517.

NF EN ISO 21567. Mai 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche de *Shigella* spp.

NF ISO 19250. Juin 2013. Qualité de l'eau. Recherche de *Salmonella* spp.

FD T90-461. Août 2016. Qualité de l'eau - Microbiologie - Contrôle qualité des milieux de culture.

NF EN ISO 6579-1. Avril 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1: recherche des *Salmonella* spp.

OUTRAS INFORMAÇÕES

As declarações feitas nas etiquetas têm precedência sobre as fórmulas ou instruções descritas neste documento e estão sujeitos a alterações a qualquer momento sem aviso prévio.

Código do documento: TSI AGAR ISO 6579-1_FR_V1.

Data de criação: 06-2018

ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO

Ágar TSI (NF EN ISO 6579-1)

Identificação de *Enterobacteriaceae*

Leitura:

Crescimento obtido após 24 horas de incubação a 37°C.

