



ÁGAR TRIPTONA SULFITO NEOMICINA (TSN)

ENUMERAÇÃO DE MICRORGANISMOS REDUTORES DE SULFITO

USO

O Ágar Triptona Sulfito Neomicina (TSN) destina-se principalmente à enumeração de anaeróbios redutores de sulfito em alimentos.

HISTÓRIA

O Ágar Triptona Sulfito Neomicina (TSN) foi recomendado por Mossel e desenvolvido por Marshall *et al.*, em 1965 para o isolamento seletivo e enumeração de *Clostridium perfringens* em alimentos e outras amostras, principalmente amostras contaminadas por uma microbiota secundária. A detecção de *Clostridium perfringens* foi baseada nas seguintes características:

- Crescimento ideal a 46°C,
- Tolerância à Neomicina e Polimixina,
- Forte capacidade de reduzir o sulfito.

PRINCÍPIOS

A presença simultânea de neomicina e polimixina B torna o meio inibitório para *Enterobacteriaceae*.

A neomicina inibe o crescimento da maioria das cepas de *Clostridium bifermentans*.

Os microrganismos redutores de sulfito reduzem o sulfito a sulfeto formando, com o citrato férrico, um precipitado sulfureto de ferro preto em torno das colônias.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

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

Para 1 litro de meio:

- | | |
|--|--------|
| - Triptona | 15,0 g |
| - Extrato de levedura autolítica | 10,0 g |
| - Sulfito de sódio | 1,0 g |
| - Citrato férrico amoniacal | 0,5 g |
| - Sulfato de neomicina | 50 mg |
| - Sulfato de polimixina B | 20 mg |
| - Ágar bacteriológico | 13,5 g |

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

PREPARAÇÃO

- Suspender 40,0 g de meio desidratado (BK001) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente, leve o meio para ferver com agitação constante até sua completa dissolução.
- Distribuir em tubos ou frascos.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfriar e manter o meio a 44-47°C.

-
Reconstituição:

40,0 g/L

- Esterilização:
15 min a 121 °C



INSTRUÇÃO DE USO

Uso em tubos:

- Aquecer a amostra a ser analisada para destruir as formas vegetativas e ativar os esporos.
- Transferir 1 mL do inóculo e suas sucessivas diluições decimais para os tubos, evitando ao máximo incorporar ar ao meio.
- Homogeneizar perfeitamente por inversão completa.
- Resfriar em banho de água gelada.
- Incubar a $46 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 horas.

- Semeando:

Em
profundidade

- Incubação:
24 h a 46°C

Nota: Não superaquecer o meio.

Use em placas:

- Transferir 1 mL do inóculo e suas sucessivas diluições decimais para placas de Petri estéreis.
- Despejar aproximadamente 15 mL de meio por placa.
- Homogeneizar perfeitamente e deixar solidificar sobre uma superfície fria.
- Incubar as placas em uma jarra de anaerobiose na presença de uma mistura de gás de hidrogênio e carbono.

RESULTADO

Para as placas, faça as leituras imediatamente após abri-las, caso contrário, as colônias podem ficar pálidas devido à oxidação do sulfeto de ferro.
Conte as colônias que apresentarem halo preto.

Consulte o ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio desidratado: pó bege e homogêneo.

Meio preparado: ágar âmbar.

Resultado do cultivo após 24 horas de incubação anaeróbia a 46°C :

Microrganismos		Crescimento (Razão de produtividade: P_R)	Características
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00007	$F_R \geq 70\%$	Colônias pretas
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00080	$F_R \geq 70\%$	Colônias pretas
<i>Bacillus cereus</i>	WDCM 00001	Inibido	-
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inibido	-

ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA

Meio desidratado: $2-30^\circ\text{C}$.

A data de validade é mencionada no rótulo.

Meio preparado: Não recomendado, use imediatamente após a preparação.

APRESENTAÇÃO



Meio desidratado:

Frasco de 500 g BK001HA

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Mossel, D.A.A. 1959. Enumeration of sulphite-reducing clostridia occurring in foods. Journal of the Science of Food and Agriculture, **10** :662-669.

Arbuckle, R. E. 1960. The influence of temperature on the growth of *Clostridium perfringens*. M.A. Thesis, Indiana Univ., Bloomington.

Collee, J.G., Knowlton, J.A., and Hobbs, B.C. 1961. Studies on the growth, sporulation and carriage of *Clostridium welchii* with special reference to food poisoning strains. Journal of Applied Bacteriology, **24** : 326-339.

Marschall, R.S., Steenbergen, J.F., and McClung, L.S. 1965. Rapide technique for the enumeration of *Clostridium perfringens*. Applied Microbiology, **13(4)**: 559-563.

RODIER, J. 1984. L'analyse de l'eau. Recherche et dénombrement des *Clostridium perfringens*. Dunod 7ème Ed., 855-857.

OUTRAS INFORMAÇÕES

As declarações feitas nos rótulos predominam sobre as fórmulas ou instruções descritas neste documento e estão sujeitos a alterações a qualquer momento sem aviso prévio.

Código do documento: GELOSE TSN_FR_V10.

Data de criação: 04-2003

Data de revisão: 10-2015

Motivo da revisão: Revisão geral

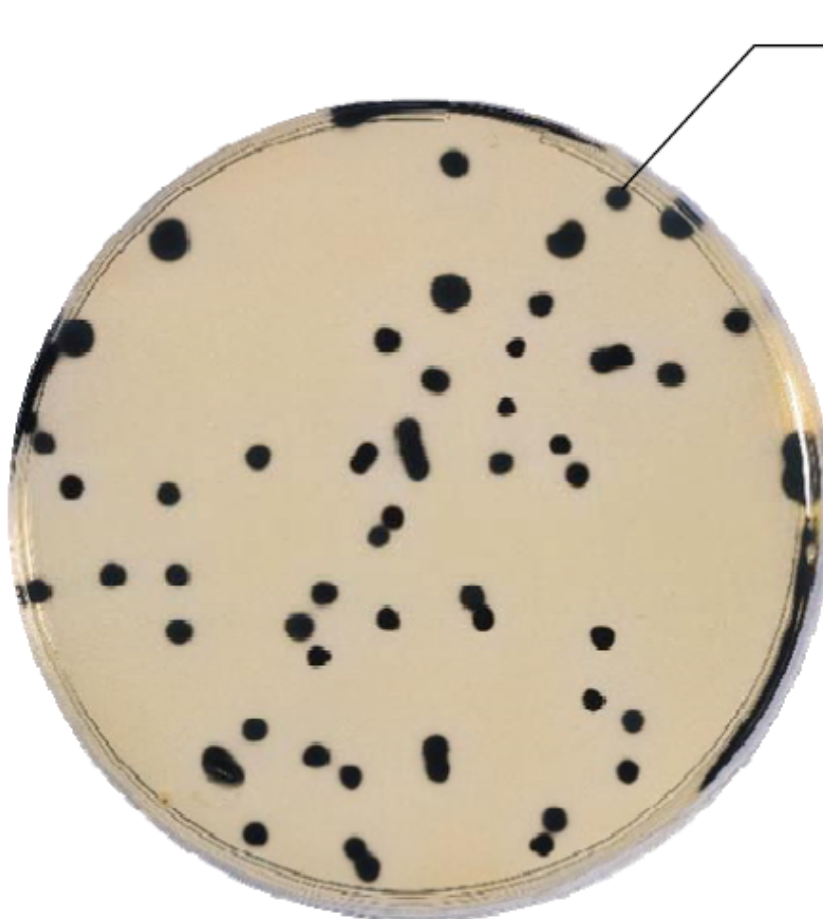
ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO.

Ágar TSN

Enumeração de microrganismos redutores de sulfito

Leitura:

Crescimento obtido após 24 horas de incubação a 46°C.



Clostridium spp.

Colônia característica:
cor preta