



## AGAR TIOSSULFATO CITRATO BILE SACAROSE (TCBS)

DETECÇÃO E ISOLAMENTO DE *VIBRIO*

### **USO PRETENDIDO**

O Agar Tioossulfato Citrato Bile Sacarose é um meio seletivo para o isolamento de *Vibrio cholerae* e outros *Vibrio* enteropatológicos (em particular o *Vibrio parahaemolyticus*) em peixes, frutos do mar e amostras biológicas de origem animal.

A composição típica corresponde à definida na norma NF EN ISO 21872-1.

### **HISTÓRIA**

A fórmula original desenvolvida por Nakanishi foi posteriormente modificada por Kobayashi *et al.* para o isolamento seletivo de espécies patogênicas de *Vibrio*.

### **PRINCÍPIOS**

As altas concentrações de tioossulfato e citrato de sódio, bem como a alcalinidade do meio, inibem consideravelmente o crescimento de enterobactérias.

A bile de boi e o colato de sódio retardam o crescimento de enterococos e inibem o desenvolvimento de bactérias Gram positivas.

A acidificação do meio resultante da fermentação da sacarose pelo *Vibrio* torna o azul de bromotimol amarelo.

Usando tioossulfato como fonte de enxofre, a produção de sulfeto de hidrogênio é visualizada na presença de citrato férrico. Todos os *Vibrio* são H<sub>2</sub>S negativos.

### **COMPOSIÇÃO TÍPICA**

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

Para 1 litro de meio:

- Polipeptona.....	10,0 g
- Extrato de levedura.....	5,0 g
- Sacarose.....	20,0 g
- Bile de boi bacteriológica.....	5,0 g
- Colato de sódio.....	3,0 g
- Citrato de sódio .....	10,0 g
- Tioossulfato de sódio.....	10,0 g
- Cloreto de sódio.....	10,0 g
- Citrato de amônio férrico.....	1,0 g



- Azul de bromotimol ..... 40,0 mg
- Azul timol ..... 40,0 mg
- Ágar bacteriológico..... 14,0 g

pH do meio pronto para uso a 25°C: 8,6 ± 0,2.

### **PREPARAÇÃO**

- Dissolver 88,1 g de meio desidratado (B040) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Levar lentamente à ebulição, mexendo com agitação constante até a dissolução completa.
- Não autoclavar.
- Resfriar e manter o meio a 44 – 47°C.
- Despejar em placas de Petri estéreis e deixar solidificar em uma superfície fria e plana.
- Secar as placas em uma incubadora com as tampas parcialmente removidas.

- ✓ Reconstituição:  
88,1 g/L
- ✓ Esterilização:  
Trazer para fervura

### **INSTRUÇÕES DE USO**

- Inocular e isolar, com alça bacteriológica a partir do caldo de enriquecimento, na superfície das placas com ágar preparado como acima e em um segundo meio de sua escolha.
- Incubar a 37 ± 1°C durante 24 ± 3 horas.

- ✓ Inoculação:  
Na superfície das placas
- ✓ Incubação:  
24 ± 3 h a 37°C

### **RESULTADOS**

As colônias apresentam os seguintes aspectos:

<b>Características</b>	<b>Microrganismos</b>
Colônias planas amarelas, de 2 a 3 mm de diâmetro	<i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio fluvialis</i> <i>Vibrio furnissii</i>
Colônias planas e verdes, de 2 a 3 mm de diâmetro	<i>Vibrio vulnificus</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Vibrio mimicus</i>
Colônias azuis	<i>Pseudomonas</i> , <i>Aeromonas</i>
Colônias minúsculas e transparentes	<i>Enterobacteriaceae</i> e outras



## **CONTROLE DE QUALIDADE**

**Meio desidratado:** pó bege-esverdeado e homogêneo.

**Meios preparados:** ágar verde escuro.

Resultado do cultivo após 24 horas de incubação a 37°C (NF EN ISO 11133):

<b>Microrganismos</b>	<b>Crescimento</b>	<b>Características</b>
<i>Vibrio furnissii</i> WDCM 00186	Bom	Colônias amarelas
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> WDCM 00185	Bom	Colônias verdes
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	Inibido	-

## **ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA**

**Meio desidratado:** 2 – 30°C.

A data de validade está indicada no rótulo.

**Meios preparados em frascos (\*):** Não recomendado.

**Meios preparados em placas (\*):** 8 dias a 2-8°C.

(\*) Valor de referência determinado em condições padrão de preparação, seguindo as instruções do fabricante.

## **EMBALAGEM**

**Meios desidratados:**

Frasco de 500 g .....BK040HA

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Nakanishi, Y. 1963. An isolation agar medium for cholera and enteropathogenic halophilic vibrios. *Modern media*, 9:246.

Kobayashi, T., Enomoto, S., Sakazaki, R., and Kuwahara, S. 1963. A new selective isolation medium for pathogenic vibrios: TCBS-agar. *Japanese Journal of Bacteriology*, 18:387-391.

Kampelmacher, E.H., Mossel, D.A.A., van Noorle-Jansn, L.M., and Vincentie, H. 1970. A survey on the occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* on fish and shellfish marketed in the Netherlands. *The Journal of Hygiene*, 68:189-196.



Lennette, E.H., Balows, A., Hausler Jr., W.J., and Shadomy, H.J.1985. Manual of Clinical Microbiology, 4 th Ed. American Society for Microbiology. Washington D.C.

Circulaire DGAL/SVHA/C88/N° 8003 du 28 avril 1988. Méthodes d'analyses bactériologiques pour le contrôle des coquillages.

NF EN ISO 21872-1. Septembre 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire. Méthode horizontale pour la détermination des Vibrio spp. Partie 1: Recherche des espèces de Vibrio parahaemolyticus et Vibrio cholerae et Vibrio vulnificus potentiellement entéro-pathogènes.

### **INFORMAÇÕES ADICIONAIS**

As informações fornecidas nos rótulos têm precedência sobre as formulações ou instruções descritas neste documento e são suscetíveis de modificação a qualquer momento, sem aviso prévio.

Código do documento: TCBS AGAR\_ENv8

Data de criação: 11 – 2000.

Data de revisão: 01 – 2018.

Motivo da revisão: Referências bibliográficas.