



AGAR TIOSSULFATO CITRATO BILE SACAROSE (TCBS)

DETECÇÃO E ISOLAMENTO DE *VIBRIO*

USO PRETENDIDO

O Agar Tiosulfato 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 Kobayashy *et al.* para o isolamento seletivo de espécies patogênicas de *Vibrio*.

PRINCÍPIOS

As altas concentrações de tiosulfato 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 tiosulfato como fonte de enxofre, a produção de sulfeto de hidrogênio é visualizada na presença de citrato férrico. Todos os *Vibrio* são H₂S 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
- Tiosulfato 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:

Características	Microrganismos
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):

Microrganismos	Crescimento	Características
<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 gBK040HA

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.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B. P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – França
Tel: + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax: + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.com



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 entéropathogènes.

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.