

ÁGAR TSI – TRIPLE SUGAR IRON AGAR (7162)

Uso Previsto

O **Ágar TSI** é utilizado para a diferenciação de micro-organismos baseada na fermentação de dextrose, lactose e sacarose e produção de sulfeto de hidrogênio.

Sumário e Explicação do Produto

Em 1911, Russell descreveu o uso de dois açúcares em um meio para diferenciar organismos Gram-negativos de origem intestinal.¹ Chumbo ou sais de ferro foram adicionados ao meio de Russell para detectar a presença de sulfeto de hidrogênio. Kligler adicionou acetato de chumbo ao Ágar de Açúcar Duplo (Double Sugar Agar), o que resultou em um meio capaz de diferenciar tifoide, paratifoide e desintéria.^{2,3} Uma modificação a esse meio, chamado de Ágar Ferro Kligler, foi feita com o uso de Vermelho de Fenol como um indicador e sais de ferro para a detecção da produção de sulfeto de hidrogênio. Em 1940, Sulkin e Willett descreveram o meio sulfato ferroso triplo açúcar para o uso na identificação de organismos entéricos.⁴ O Ágar TSI é essencialmente a fórmula original descrita por Sulkin e Willett.⁴

O Ágar TSI é recomendado para a diferenciação de bacilo entéricos, Gram-negativos em espécimes clínicos, amostras de produtos lácteos e alimentos.⁵⁻⁷

Princípios do Procedimento

Digestão Enzimática de Caseína, Digestão Enzimática de Tecido Animal e Levedura enriquecida com Peptona, fornecem nitrogênio, carbono e vitaminas que são necessárias para o crescimento do organismo. O Ágar TSI contém três carboidratos: Dextrose, Lactose e Sacarose. Quando os carboidratos são fermentados, a produção de ácido é detectada pelo indicador de pH Vermelho de Fenol. O tiosulfato de sódio é reduzido para sulfeto de hidrogênio e o sulfeto de hidrogênio reage com os sais de ferro formando o típico sulfeto de ferro preto. O citrato férrico amoniacal é o indicador do sulfeto de hidrogênio (H₂S). O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico do meio. O Ágar é o agente solidificante.

Fórmula / Litro

Digestão Enzimática de Caseína.....	5 g
Digestão Enzimática de Tecido Animal	5 g
Levedura enriquecida com Peptona	10 g
Dextrose.....	1 g
Lactose	10 g
Sacarose.....	10 g
Citrato Férrico Amoniacal	0,2 g
Cloreto de Sódio	5 g
Tiosulfato de Sódio	0,3 g
Vermelho de Fenol.....	0,025 g
Ágar	13,5 g

pH Final: 7,3 ± 0,2 a 25°C

A fórmula pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para atender as especificações de desempenho.

Precauções

1. Somente para o uso em laboratório
2. IRRITANTE. Irritante para os olhos, sistema respiratório e pele.

Modo de Preparo

1. Suspenda 60 g do meio em 1 L de água purificada.
2. Aqueça, agitando frequentemente e ferva por 1 minuto para dissolver completamente o meio.
3. Dispense em tubos e autoclave a 121°C por 15 minutos.
4. Após autoclave, deixe o meio solidificar em posição inclinada.

Especificações de Controle de Qualidade

Aparência Desidratado: Pó é homogêneo, fluxo livre, bege rosado claro a bege.

Aparência Preparado: O meio preparado é laranja avermelhado e ligeiramente turvo.

Resposta Esperada de Cultura: Resposta esperada de cultura em Ágar TSI a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ após 18 – 24 horas de incubação.

Micro-organismo	Inóculo Aproximado (UFC)	Resultados Esperados				
		Recuperação	Parte Superior	Parte Inferior	Gás	H ₂ S
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Pesado	Crescimento	Ácido	Ácido	+	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 12453	Pesado	Crescimento	Alcalino	Ácido	-	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Pesado	Crescimento	Alcalino	Alcalino	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC® 14028	Pesado	Crescimento	Alcalino	Ácido	+/-	+
<i>Shigella flexneri</i> ATCC® 12022	Pesado	Crescimento	Alcalino	Ácido	-	-

Os organismos listados são os mínimos que devem ser avaliados para testes de controle de qualidade.

Procedimento do Teste

Para procedimentos específicos na utilização do Ágar TSI, refira-se às referências apropriadas.

Nota: Deve-se semear somente a metade do meio preparado para evitar a reversão do açúcar em reação alcalina (rosa/vermelho) na extremidade superior do ágar.

Resultados

Uma reação alcalina na parte superior do ágar e ácida na parte inferior (vermelho/amarelo) indica somente a fermentação da dextrose. Uma reação ácida na parte superior e inferior (amarelo/amarelo) indica a fermentação da dextrose, lactose e/ou sacarose. Uma reação alcalina na parte superior e inferior (vermelho/vermelho) indica que a dextrose ou lactose não foram fermentadas (não é fermentador). A presença de fissuras, rupturas ou bolhas no meio indica a produção de gás. Um precipitado preto na parte inferior do ágar, indica a produção de sulfeto de hidrogênio.

Armazenamento

Armazene o frasco contendo o meio desidratado devidamente fechado entre 2 - 30°C. Uma vez aberto e fechado novamente, coloque o frasco em um ambiente de baixa umidade e na mesma temperatura de armazenamento. Proteja contra a umidade e luz mantendo o frasco firmemente fechado.

Validade

Refira-se à data de validade no frasco. O meio desidratado deve ser descartado se não fluir livremente ou se houver mudança na coloração original. A validade se aplica ao meio em sua embalagem intacta quando armazenado como indicado.

Limitações do Procedimento

1. Padron e Dockstader⁸ identificaram que nem toda *Salmonella* H₂S positiva é positiva no Ágar TSI.
2. Sacarose é adicionada ao TSI para eliminar alguns fermentadores de sacarose mas não de lactose, tais como *Proteus* e *Citrobacter* spp.⁹
3. Não utilize uma alça para inocular um tubo de Ágar TSI. Esta ação na parte inferior do ágar causa uma divisão mecânica, resultando em um resultado falso positivo para a produção de gás.⁹
4. Deve-se semear somente a metade do meio preparado para evitar a reversão do açúcar em reação alcalina (rosa/vermelho).

Embalagem

Ágar TSI	N° Código	7162A	500 g
		7162B	2 kg

Referências

1. **Russell, F. F.** 1911. The isolation of typhoid bacilli from urine and feces with the description of a new double sugar tube medium. J. Med. Res. **25**:217.
2. **Kligler, I. J.** 1917. A simple medium for the differentiation of members of the typhoid-paratyphoid group. Am. J. Public Health **7**:1042-1044.
3. **Kligler, I. J.** 1918. Modifications of culture media used in the isolation and differentiation of typhoid, dysentery, and allied bacilli. J. Exp. Med. **28**:319-322.
4. **Sulkin, S. E., and J. C. Willett.** 1940. A triple sugar-ferrous sulfate medium for use in identification of enteric organisms. J. Lab. Clin. Med. **25**:649-653.
5. **P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (eds.).** Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
6. **Marshall, R. T. (ed.).** Standard methods for the examination of dairy products, 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
7. **Bacteriological Analytical Manual**, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, M.D.
8. **Padron, A. P. and W. B. Dockstader.** 1972. Selective medium for hydrogen sulfide production. Appl. Microbiol. **23**:1107.
9. **MacFaddin, J. F.** Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

Informação Técnica

Contate a Neogen do Brasil para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone 19.3935-3727.

Contate a Acumedia Manufacturers, Inc. para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone +1 (517)372-9200 ou fax +1 (517)372-2006.