



BBL TSI Agar Slants

L007520 • Rev. 10 • Octubre 2015



PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD (Opcionales)

I. INTRODUCCION

TSI Agar (Triple Sugar Iron Agar) (agar triple azúcar hierro) es un medio de diferenciación para organismos entéricos gram negativos basada en su capacidad para fermentar dextrosa, lactosa y sacarosa y para producir sulfuro.

II. REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Inocular en los tubos cultivos de agar inclinado de soja **Trypticase** de 18 – 24 h, con una aguja de inoculación insertada en la base del tubo y extendiendo la muestra en ambas direcciones por la superficie del agar inclinado.
 - b. Incubar los tubos con las tapas flojas a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia.
2. Examinar si los tubos después de 18 – 24 h muestran indicios de crecimiento y reacciones.
3. Resultados previstos

	Agar inclinado	Base del tubo	Gas	H ₂ S
* <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Acida	Acida	+	–
* <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotipo Typhimurium ATCC 14028	Alcalina	Ácida	+/-	+
* <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Alcalina	Ácida	–	–
* <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Alcalina	Alcalina	–	–

*Cepa de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

NOTA: Según CLSI M22-A3, no es necesario que el usuario realice un control de la calidad de este medio.

III. CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar los tubos como se describe en la sección "Deterioro del Producto".
2. Examinar visualmente los tubos representativos para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Determinar el pH potenciométricamente a temperatura ambiente para verificar el cumplimiento de la especificación de $7,3 \pm 0,2$.
4. Incubar los tubos representativos sin inocular a 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar después de 7 días en busca de contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV. USO PREVISTO

TSI Agar se utiliza para diferenciación de bacilos entéricos gram negativos sobre la base de la fermentación de carbohidratos y la producción de ácido sulfhídrico.

V. RESUMEN Y EXPLICACION

TSI Agar se utiliza para la determinación de carbohidratos y producción de ácido sulfhídrico para la identificación de bacilos gram negativos^{1,2}.

Hajna desarrolló la fórmula de TSI Agar añadiendo sucrosa a la fórmula de doble azúcar (dextrosa y lactosa) del Agar Hierro de Kligler³. La adición de sucrosa aumentó la sensibilidad del medio facilitando la detección de bacilos fermentadores de sucrosa, además de los fermentadores de lactosa y/o dextrosa.

La fermentación de carbohidratos se detecta mediante la presencia de gas y un cambio de color visible (de rojo a amarillo) del indicador de pH, rojo fenol. La producción de ácido sulfhídrico se indica mediante la presencia de un precipitado que oscurece el medio en la base del tubo.

VI. PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

TSI Agar contiene tres azúcares (dextrosa, lactosa y sucrosa), rojo fenol para detectar la fermentación de carbohidratos, y sulfato ferroso para la detección de producción de ácido sulfhídrico (indicado por el oscurecimiento de la base del tubo).

La fermentación de carbohidratos se indica mediante la producción de gas y un cambio en el color del indicador de pH de rojo a amarillo. Para facilitar la detección de organismos que fermenten dextrosa solamente, la concentración de dextrosa, es un décimo de la concentración de lactosa o sucrosa. La cantidad pequeña de ácido producida en el agar inclinado del tubo durante la fermentación de dextrosa se oxida rápidamente, lo que hace que el medio permanezca de un color rojo o cambie a un pH alcalino. En comparación, la reacción ácida (amarillo) se mantiene en la base del tubo si se encuentra bajo una tensión de oxígeno menor.

Después de agotar la cantidad limitada de dextrosa, los organismos capaces de hacerlo comenzarán a utilizar la lactosa o sucrosa⁴.

Para aumentar la condición alcalina del agar inclinado, se debe permitir la libre circulación de aire, dejando floja la tapa del tubo. Si el tubo está con la tapa ajustada, una reacción ácida (causada exclusivamente por la fermentación de dextrosa) también va a afectar al agar inclinado.

VII. REACTIVOS

TSI Agar

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína	10,0	g
Digerido péptico de tejido animal	10,0	g
Cloruro sódico	5,0	g
Lactosa	10,0	g
sacarosa	10,0	g
Dextrosa	1,0	g
Sulfato ferroso de amonio	0,2	g
Tiosulfato sódico	0,2	g
Rojo fenol	0,025	g
Agar	13,0	g

*Ajustada y/o suplementada según requisitos para satisfacer los criterios de rendimiento.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los tubos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

Observar las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos durante todos los procedimientos. Antes de desecharlos, esterilizar en autoclave los tubos preparados, los recipientes para muestras y cualquier otro material contaminado.

Instrucciones para el almacenamiento

Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 8 °C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que vayan a utilizarse. Reducir al mínimo la exposición a la luz. Los medios en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante los períodos recomendados de incubación. Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

Deterioro del producto

No utilizar los tubos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII. RECOGIDA Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consultar los textos correspondientes^{2,5}. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben adoptarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX. PROCEDIMIENTO

Material suministrado

TSI Agar Slants

Materiales necesarios pero no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas.

Para inocular, tocar con cuidado sólo el centro de una colonia aislada en un medio en placa entérico con una aguja estéril fría, insertarla en el medio en la base del tubo y luego extender la muestra en ambas direcciones por la superficie del agar inclinado. Se deben estudiar por separado varias colonias de cada placa primaria dado que es posible que se produzcan infecciones mixtas.

Incubar con las tapas flojas a 35 °C y examinar después de 18 – 24 h para detectar fermentación de carbohidrato, producción de gas y producción de ácido sulfhídrico. Es posible observar una combinación de cualquiera de estas reacciones. No incubar durante un período más prolongado que 24 h porque la reacción ácida en el agar inclinado de los organismos fermentadores de lactosa y sucrosa pueden convertirse a una reacción alcalina.

Control de calidad del usuario

Véase "Procedimientos de control de calidad".

Cada lote de medios se ha probado con los microorganismos de control de calidad adecuados mediante una prueba que cumple las especificaciones del producto y los criterios aplicables del CLSI. Como siempre, las pruebas de control de calidad se deben llevar a cabo conforme a la normativa local, estatal, federal o nacional aplicable, a los requisitos de los organismos de acreditación y/o a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.

X. RESULTADOS

Después de la incubación, comparar las reacciones producidas por los aislados desconocidos con las producidas por los organismos de control conocidos.

La fermentación de carbohidratos se indica mediante una coloración amarilla del medio. Si el medio en la base del tubo se torna amarillo (ácido), pero el medio en el agar inclinado adquiere un color rojo (alcalino), el organismo de prueba fermenta solamente dextrosa (glucosa).

Un color amarillo (ácido) en el agar inclinado y la base del tubo indica que el organismo de prueba fermenta dextrosa, lactosa y/o sucrosa.

Un color rojo (alcalino) en el agar inclinado y la base del tubo indica que el organismo de prueba no es fermentador.

La producción de ácido sulfhídrico causa un precipitado negro en la base del tubo.

La producción de gas se indica mediante la división o craqueo del medio.

Consultar las referencias correspondientes para mayor información^{2,5-7}.

XI. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Algunos organismos pueden demostrar producción de ácido sulfhídrico en Agar Hierro de Kligler, pero no en TSI Agar debido a la utilización de sucrosa a TSI Agar elimina el mecanismo enzimático que genera la producción de H₂S. Específicamente, la *Salmonella* productora de H₂S y algunos miembros de *Enterobacteriaceae* tal vez no den resultado positivo a H₂S en TSI Agar¹.

De igual manera que con el agar hierro de Kligler, los organismos productores de ácido sulfhídrico en TSI Agar pueden producir una cantidad tan grande de precipitado negro, sulfuro ferroso, que la acidez producida en la base del tubo se ve completamente enmascarado. Sin embargo, si se reduce H₂S, la condición de ácido existe en la base del tubo aunque no se pueda observar y registrarse como tal¹.

Para su identificación, los organismos deben encontrarse en un cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y los procedimientos recomendados^{2,5-7}.

XII. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento, todos los lotes de TSI Agar slants se someten a prueba para determinar sus características de rendimiento. Se analizan muestras representativas del lote con cultivos de agar de soja **Trypticase** de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028) y *Shigella flexneri* (ATCC 12022) extendiendo la muestra en el agar inclinado e insertando una aguja de inoculación en la base del tubo. Los tubos se inoculan con las tapas flojas a 35 ± 2 °C y se efectúa la lectura después de 18 – 24 h para detectar crecimiento y reacciones. El crecimiento de todos los organismos es de moderado a denso. El agar inclinado del tubo inoculado con

E. coli demuestra una reacción ácida mientras que los agares inclinados de todos los otros tubos inoculados muestran una reacción alcalina. *S. flexneri* produce una reacción ácida en la base del tubo, *P. aeruginosa* una reacción alcalina. *E. coli* produce ácido y gas en la base del tubo. *Salmonella* Typhimurium produce una reacción ácida en la base del tubo junto con un oscurecimiento del medio; es posible que haya o no presencia de gas.

XIII. DISPONIBILIDAD

N° de cat.	Descripción
221038	BD BBL TSI Agar Slants, pqt. de 10 tubos de tamaño K
221039	BD BBL TSI Agar Slants, caja de 100 tubos de tamaño K

XIV. REFERENCIAS

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
3. Hajna, A.A. 1945. Triple-sugar iron agar medium for the identification of the intestinal group of bacteria. J. Bacteriol. 49:516-517.
4. Baron, E.J., L.R. Peterson and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc.
5. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Ewing, W.H. 1985. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
7. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD