



BBL TSI Agar Slants

L007520 • Rev. 10 • Outubro 2015



PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE (Opcional)

I INTRODUÇÃO

O Ágar TSI (Ágar de ferro com três açúcares) é um meio diferencial para microrganismos entéricos Gram-negativos com base na sua capacidade de fermentação da dextrose, lactose e sacarose e na produção de sulfuretos.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. Utilizando uma agulha de inoculação, inocule os tubos, fazendo riscas na superfície do ágar inclinado, para trás e para a frente, e perfurando o fundo do ágar, com culturas em **Trypticase Soy Agar inclinado** com 18 a 24 h.
 - b. Incube os tubos com as tampas desapertadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, numa atmosfera aeróbia.
2. Examine os tubos após 18 a 24 h, verificando se existe crescimento e se ocorreram reacções.
3. Resultados esperados

	Superfície inclinada do ágar	Fundo do ágar	Gás	H ₂ S
* <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Ácida	Ácida	+	–
* <i>Salmonella enterica</i> subespécie <i>enterica</i> serótipo Typhimurium ATCC 14028	Alcalina	Ácida	+/-	+
* <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Alcalina	Ácida	–	–
* <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Alcalina	Alcalina	–	–

*Estirpe do microrganismo recomendada para o controlo de qualidade do utilizador.

NOTA: Este meio está isento de testes de controlo da qualidade realizados pelo utilizador, em conformidade com CLSI M22-A3.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examine os tubos, conforme descrito na secção "Deterioração do produto".
2. Examine visualmente os tubos representativos, para assegurar que eventuais defeitos físicos não irão interferir com a utilização.
3. Determine o pH, através de potenciometria, à temperatura ambiente, para cumprimento da especificação de pH de $7,3 \pm 0,2$.
4. Incube os tubos representativos não inoculados entre 20 a 25°C e 30 a 35°C, e examine-os após 7 dias, verificando se existe contaminação microbiana.

INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO

IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O Ágar TSI é utilizado para diferenciação de bacilos entéricos Gram-negativos com base na fermentação de hidratos de carbono e na produção de ácido sulfídrico.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

O Ágar TSI é utilizado na determinação da fermentação de hidratos de carbono e da produção de ácido sulfídrico, para identificação de bacilos Gram-negativos.^{1,2}

Hajna desenvolveu a formulação do Ágar TSI através da adição de sacarose à formulação com dois açúcares (dextrose e lactose) do Ágar de ferro de Kligler.³ A adição de sacarose aumentou a sensibilidade do meio, facilitando a detecção de bacilos fermentadores da sacarose, bem como de bactérias fermentadoras da lactose e/ou dextrose.

A fermentação dos hidratos de carbono é detectada pela presença de gás e por uma alteração de cor visível (de vermelho para amarelo) do indicador de pH, vermelho de fenol. A produção de ácido sulfídrico é indicada pela presença de um precipitado que escurece o meio do ágar do fundo do tubo.

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O Ágar TSI contém três açúcares (dextrose, lactose e sacarose), vermelho de fenol para detecção da fermentação de hidratos de carbono e sulfato ferroso para detecção da produção de ácido sulfídrico (indicado pelo escurecimento do ágar do fundo do tubo).

A fermentação dos hidratos de carbono é indicada pela produção de gás e por uma alteração de cor do indicador de pH, de vermelho para amarelo. Para facilitar a detecção de microrganismo que apenas fermentem a dextrose, a concentração da dextrose corresponde a um décimo da concentração da lactose ou sacarose. A pequena quantidade de ácido produzida na superfície inclinada do ágar durante a fermentação da dextrose é rapidamente oxidada, fazendo com que o meio se mantenha vermelho ou mude para um pH alcalino. Pelo contrário, a reacção ácida (amarelo) mantém-se no ágar do fundo do tubo, uma vez que a tensão de oxigénio é mais baixa.

Após a depleção da dextrose, os microrganismos com capacidade para tal começarão a utilizar a lactose ou a sacarose.⁴

Para aumentar a alcalinidade da superfície inclinada do ágar, deverá permitir a livre circulação de ar, não apertando totalmente a tampa dos frascos. Se a tampa do tubo estiver muito apertada, ocorrerá também uma reacção ácida (causada unicamente pela fermentação da dextrose).

VII REAGENTES

TSI Agar

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Digerido pancreático de caseína	10,0	g
Digerido péptico de tecidos animais	10,0	g
Cloreto de sódio	5,0	g
Lactose	10,0	g
Sacarose	10,0	g
Dextrose	1,0	g
Sulfato de amónio ferroso	0,2	g
Tiosulfato de sódio	0,2	g
Vermelho de fenol	0,025	g
Ágar	13,0	g

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

Advertências e Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Os tubos com tampas apertadas devem ser abertos com cuidado, para evitar lesões devido a quebra do vidro.

Em todos os procedimentos, cumpra as precauções estabelecidas contra perigos microbiológicos. Antes de serem eliminados, esterilizar em autoclave os tubos preparados, os recipientes de amostras e outros materiais contaminados.

Instruções de armazenamento

Após a recepção, armazenar os tubos em local escuro entre 2 e 8°C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Minimizar a exposição à luz. Os tubos com meio que forem armazenados conforme indicado no rótulo até ao momento imediatamente anterior à sua utilização, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante os períodos de incubação recomendados. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

Deterioração do produto

Não utilizar tubos que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secagem ou outros sinais de deterioração.

VIII COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras adequadas para cultura podem ser preparadas utilizando várias técnicas. Para obter informações pormenorizadas, consulte os textos apropriados.^{2,5} As amostras devem ser obtidas antes de serem administrados agentes antimicrobianos. Devem tomar-se as providências necessárias para a entrega imediata no laboratório.

IX PROCEDIMENTO

Material fornecido

TSI Agar Slants

Material necessário mas não fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes, microrganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Procedimento do teste

Utilize técnicas assépticas.

Para inocular, toque com cuidado apenas no centro de uma colónia isolada num meio em placa para bactérias entéricas com uma agulha fria estéril; perfure o fundo do ágar e, em seguida, faça riscas, para a frente e para trás, na superfície inclinada do ágar. Em cada uma das placas primárias devem ser estudadas em separado várias colónias, uma vez que poderão ocorrer infecções mistas.

Incube com as tampas desapertadas a 35°C, e examine após 18 a 24 h, verificando se ocorreu fermentação de hidratos de carbono, produção de gás ou produção de ácido sulfídrico. Poderá observar-se qualquer combinação destas reacções. Não incube durante um período superior a 24 h, pois a reacção ácida dos fermentadores da lactose e da sacarose na superfície inclinada do ágar poderá reverter para uma reacção alcalina.

Controlo de qualidade pelo utilizador

Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Cada lote de meio foi testado com microrganismos de controlo de qualidade adequados e estes testes cumprem as especificações do produto e as normas CLSI, quando aplicáveis. Como é norma, os testes de CQ devem ser realizados de acordo com os regulamentos locais, distritais, federais ou nacionais, os requisitos de acreditação e/ou os procedimentos padrão de controlo de qualidade do laboratório.

X RESULTADOS

Compare as reacções produzidas pelo isolado desconhecido com as reacções produzidas por microrganismos de controlo conhecidos.

A fermentação dos hidratos de carbono é indicada por uma coloração amarela do meio. Se o meio no fundo do ágar ficar amarelo (ácido), mas o meio na superfície inclinada do ágar ficar vermelha (alcalina), o microrganismo que está a ser testado apenas fermenta a dextrose (glicose).

Uma cor amarela (ácido) na superfície inclinada e no fundo do ágar indica que o microrganismo que está a ser testado fermenta a dextrose, a lactose e/ou a sacarose.

Uma cor vermelha (alcalina) na superfície inclinada e no fundo do ágar indica que o microrganismo que está a ser testado não é uma bactéria fermentadora.

A produção de ácido sulfídrico resulta na produção de um precipitado negro no ágar do fundo do tubo.

A produção de gás é indicada pela separação e fractura do meio.

Consulte as referências bibliográficas apropriadas para obter mais informações.^{2,5-7}

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Alguns microrganismos podem demonstrar produção de ácido sulfídrico no Ágar de ferro de Kligler, mas não no Ágar TSI, uma vez que a utilização de sacarose no Ágar TSI suprime o mecanismo enzimático que resulta na produção de H₂S. Especificamente, as *Salmonella* produtoras de H₂S e alguns membros da família *Enterobacteriaceae* poderão não ser H₂S-positivos no Ágar TSI.¹

Tal como com o Ágar de ferro de Kligler, no Ágar TSI os microrganismos produtores de ácido sulfídrico podem produzir uma quantidade tão elevada de precipitado negro, sulfureto ferroso, ao ponto de a acidez produzida no fundo do ágar ser completamente mascarada. No entanto, se

o H₂S for reduzido, ocorrerá uma reacção ácida no fundo do ágar, mesmo que não seja observável, e deve ser registada como tal.¹

Para a identificação, os microrganismos devem ser uma cultura pura. Para uma identificação final, devem ser efectuados testes morfológicos, bioquímicos e/ou serológicos. Para obter informações pormenorizadas e sobre os procedimentos recomendados, consulte os textos apropriados.^{2,5-7}

XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Antes de serem comercializados, todos os lotes de TSI Agar Slants são testados relativamente às características do desempenho. As amostras representativas do lote são testadas através da inoculação, fazendo riscas sobre o ágar inclinado e perfurando o fundo com uma agulha de inoculação, com culturas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028) e *Shigella flexneri* (ATCC 12022) em **Trypticase** Soy Agar. Os tubos são incubados com as tampas desapertadas a 35 ± 2°C e devem ser lidos após 18 a 24 h, verificando se existe crescimento e se ocorreram reacções. O crescimento de todos os microrganismos é moderado a intenso. A superfície inclinada do ágar do tubo inoculado com *E. coli* mostra uma reacção ácida, enquanto que as superfícies de todos os outros tubos inclinados são alcalinas. O *S. flexneri* produz uma reacção ácida no fundo do ágar, mas a *P. aeruginosa* produz uma reacção alcalina. A *E. coli* produz uma reacção ácida e gás no fundo do ágar. A *Salmonella Typhimurium* produz uma reacção ácida no fundo do ágar associada ao escurecimento do meio; o gás poderá ou não estar presente.

XIII APRESENTAÇÃO

N.º de cat.	Descrição
221038	BD BBL TSI Agar Slants, emb. com 10 tubos K
221039	BD BBL TSI Agar Slants, caixa com 100 tubos K

XIV BIBLIOGRAFIA

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.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou 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