

## BD TCBS Agar

### USO PREVISTO

**BD TCBS Agar** (agar tiosulfato citrato bilis sacarosa) es un medio selectivo de diferenciación para el aislamiento y cultivo de *Vibrio cholerae* y otras especies *Vibrio* a partir de muestras clínicas y de otras clases.

### PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

Los vibrios son habitantes naturales del agua salobre y salada en todo el mundo<sup>1,2</sup>. La enfermedad intestinal humana se ha asociado con el consumo de agua y mariscos contaminados. *Vibrio cholerae* es el agente etiológico de una diarrea secretora (cólera), propagada mediante la ingestión de agua y alimentos contaminados y por la vía fecal-oral<sup>2</sup>. Otras varias especies de *Vibrio*, por ejemplo, *V. parahaemolyticus* y *V. fluvialis*, son la causa de la gastroenteritis aguda. Además, varias especies de *Vibrio*, por ejemplo, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* y *V. damsela* se asocian con las infecciones extraintestinales, tales como infecciones de lesiones, septicemia, meningitis y otras<sup>1-3</sup>. Se ha demostrado que las infecciones de lesiones con *Vibrio* ocurren en especial si los pacientes tuvieron contacto con agua salada y salobre<sup>2,3</sup>.

**BD TCBS Agar**, preparado según la fórmula de Kobayashi et al, es una modificación del medio selectivo de Nakanishi<sup>4,5</sup>. Todas las especies de *Vibrio* patógenas para los seres humanos, excepto *V. hollisae*, crecen en este medio. Este medio se recomienda para el aislamiento de las especies de *Vibrio* a partir de las muestras fecales<sup>1,2,6</sup> y se menciona en los métodos estándar para el análisis de alimentos<sup>7,8</sup>. Es altamente selectivo, cumple con los requisitos nutritivos de las especies de *Vibrio* y permite que los vibrios compitan con la flora intestinal. Todos los miembros del género tienen la capacidad de crecer en los medios con mayores concentraciones de sal y algunas especies son halofílicas<sup>6</sup>.

En **BD TCBS Agar**, el extracto de levadura y la peptona proporcionan el nitrógeno y las vitaminas. El citrato sódico, el tiosulfato sódico, la bilis de buey y el colato son agentes selectivos que proporcionan un pH alcalino para inhibir los organismos gram positivos y suprimir los organismos coliformes. El pH del medio se incrementa para favorecer el crecimiento de *Vibrio cholerae* porque este organismo es sensible a los entornos ácidos. La alta concentración de sodio favorece el crecimiento de *Vibrio cholerae* que es halotolerante y de otras especies de *Vibrio*, cuya mayoría es halofílica. La sacarosa es un carbohidrato fermentable, y el cloruro sódico estimula el crecimiento. El tiosulfato sódico es una fuente de azufre y actúa con el citrato férrico como indicador para detectar la producción de ácido sulfhídrico. El azul de bromotimol y el azul de timol son indicadores de pH.

### REACTIVOS

#### BD TCBS Agar

Fórmula\* por litro de agua purificada

Extracto de levadura	5,0 g	Sacarosa	20,0 g
Digerido pancreático de caseína	5,0	Cloruro sódico	10,0
Digerido péptico de tejido animal	5,0	Citrato férrico	1,0
Citrato sódico	10,0	Azul de bromotimol	0,04
Tiosulfato sódico	10,0	Azul de timol	0,04
Bilis de buey	5,0	Agar	14,0
Colato de sodio	3,0		

pH 8,6 ± 0,2

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

## PRECAUCIONES

**IVD** . Solamente para uso profesional.

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, rajaduras o cualquier otro signo de deterioro.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

## ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura de 2 – 8 °C, en su envase original hasta momentos antes de su utilización. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Las placas pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados.

Las placas de pilas abiertas de 10 unidades pueden utilizarse durante una semana cuando se almacenan en un área limpia a una temperatura de 2 – 8 °C.

## CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar durante 18 - 24 h en atmósfera aerobia a 35 - 37 °C.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>V. cholerae</i> NCTC 8021 o ATCC 9459	Crecimiento de regular a excelente; zonas amarillas alrededor de las colonias
<i>V. parahaemolyticus</i> ATCC 17802	Crecimiento de regular a excelente; colonias de color de verde a verde azulado; medio prácticamente sin cambios
<i>V. alginolyticus</i> ATCC 17749	Crecimiento de regular a excelente; zonas amarillas alrededor de las colonias
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	Inhibición de parcial a completa; colonias pequeñas de color amarillo
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Inhibición de parcial a completa; colonias pequeñas y translúcidas
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853	Inhibición de parcial a completa; colonias de color azul
Sin inocular	Color verde a azul verdoso

## PROCEDIMIENTO

### Materiales suministrados

**BD TCBS Agar** (placas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

### Material no suministrado

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

### Tipos y transporte de las muestras

Este medio se utiliza para el aislamiento de las especies *Vibrio* a partir de muestras fecales (en especial si los pacientes han consumido mariscos) o de muestras clínicas extraintestinales si se sospecha la presencia de alguna especie *Vibrio* (véase también **CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**). También se pueden utilizar muestras tales como torundas rectales, vómito y muestras de alimentos, en especial mariscos. Las torundas deben transportarse en medio de transporte Cary y Blair porque las especies de *Vibrio* son particularmente sensibles a la deshidratación<sup>2</sup>. Todas las muestras intestinales y muestras de alimentos pueden colocarse en tubos con agua de peptona alcalina para evitar la deshidratación de los materiales y deben transportarse al laboratorio sin demora. Los tiempos de transporte de más de 8 horas reducen la viabilidad. ¡No congelar las muestras!

## PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

Mediante una técnica de extensión aprobada, extender la muestra en **BD TCBS Agar** directamente después de recibirla en el laboratorio, . Las muestras de pacientes y las de

alimentos pueden extenderse con torunda directamente o después de una cuidadosa homogeneización (en especial cuando se analizan mariscos). Evitar la deshidratación durante la manipulación. Se recomienda incluir un medio menos selectivo, tal como **BD DCLS Agar** que es superior al agar MacConkey para el aislamiento de las especies de *Vibrio*. Todas las muestras intestinales (por ejemplo, las muestras de lesiones, etc.) también deben extenderse en placas con medio de agar sangre no selectivo, por ejemplo, **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, y en una placa de **BD MacConkey II Agar**, con el fin de proporcionar detección de otros patógenos posiblemente involucrados en la infección. Incubar las placas en condiciones aerobias a una temperatura entre 35 y 37 °C, por un período de 18 a 24 horas. Si el resultado es negativo, incubar durante 24 horas más.

Las muestras en general y las muestras clínicas con recuentos bajos presuntivos de *Vibrio* primero pueden suplementarse incubando una alícuota de la muestra en agua de peptona alcalina a  $35 \pm 2$  °C<sup>2,8</sup>. Los subcultivos se realizan en TCBS y agar sangre después de 8 h y nuevamente después de 18 h de incubación.

### Resultados

En **BD TCBS Agar**, los vibrios fermentadores de sacarosa (*V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. cincinnatiensis*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. metschnikovii*) presentan un aspecto de colonias de tamaño mediano, lisas, opacas y amarillas. La mayoría de los demás vibrios de importancia clínica, incluido *V. parahaemolyticus*, no fermentan sacarosa y presentan colonias de color verde<sup>2</sup>. Se requieren pruebas bioquímicas y/o serológicas adicionales para lograr una identificación final y la diferenciación de las especies fermentadoras de las no fermentadoras de sacarosa<sup>1,2,7,8</sup>.

### CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

**BD TCBS Agar** es un medio estándar para el aislamiento de *Vibrio cholera* u otras especies de *Vibrio* a partir de muestras fecales de pacientes con diarrea, especialmente después de consumir mariscos, o si se sospechan brotes de cólera<sup>1,2,6,7</sup>. También se puede utilizar para detectar *Vibrio* en muestras extraintestinales.

**BD TCBS Agar** también es un medio estándar para el aislamiento de *Vibrio* a partir de los alimentos<sup>8,9</sup>.

Dado que los requisitos nutritivos de los organismos varían, algunas cepas pueden crecer poco en este medio. Por tanto, también deben incluirse medios menos selectivos que permiten la detección de las especies de *Vibrio* y de otros patógenos intestinales (por ejemplo, *Salmonella* y *Shigella*); **BD DCLS Agar** puede recomendarse con tal propósito.

En **BD TCBS Agar**, *V. parahaemolyticus* puede asemejarse a las especies de *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloides* y *Pseudomonas*. Las especies *Proteus* fermentadoras de sacarosa producen colonias amarillas que pueden ser similares a las de *Vibrio*. Algunas cepas de *V. cholerae* son verdes o incoloras en **BD TCBS Agar** debido a la fermentación demorada de sacarosa.

Los medios TCBS no son satisfactorios para las pruebas de oxidasa de las especies *Vibrio*<sup>2</sup>. Se requieren más pruebas para lograr una identificación completa y confirmación de las especies de *Vibrio* aisladas en este medio. Consultar las referencias<sup>2,6-9</sup>.

### REFERENCIAS

1. Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Finegold. 1994. *Vibrio* and related species, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, and others, p. 429-444. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.
2. Farmer III, J.J., J.M. Janda, and K. Birkhead. *Vibrio*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Tenover, and M. A. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Pavia, A.T., et al. 1989. *Vibrio carchariae* infection after a shark bite. Ann. Intern. Med. 111: 85-86.
4. Kobayashi, T., S. Enomoto, R. Sakazaki, and S. Kuwahara. 1963. A new selective medium for pathogenic vibrios, TCBS (modified Nakanishi's agar). Jpn. J. Bacteriol. 18:387.

5. Nakanishi, Y. 1963. An isolation agar medium for cholerae and enteropathogenic halophilic vibrios. *Modern Media* 9:246.
6. Grasmick, A. 1992. Processing and Interpretation of bacterial fecal cultures. *In: Isenberg D (ed): Clinical microbiology procedures handbook, Volume 1. Aerobic bacteriology (section editor: Pezzlo M).* pp. 1.10.1-1.10.21. American Society for Microbiology, Washington, DC.
7. Kist, M., et al. 2000. Infektionen des Darmes. *In: Mauch, H., Lüttiken, R., and S. Gatermann (eds.): MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 9.* Urban & Fischer, Munich, Germany.
8. Association of Official Analytical Chemists. 1995. Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
9. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4<sup>th</sup> edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.

## **ENVASE/DISPONIBILIDAD**

### **BD TCBS Agar**

Nº de cat. 254432

Medios en placa listos para usar, 20 placas

## **INFORMACIÓN ADICIONAL**

Para obtener más información, diríjase a su representante local de BD.



### **BD Diagnostic Systems**

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception\_Germany@europe.bd.com

### **BD Diagnostic Systems Europe**

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company