

T.S.I. Agar (Triple Sugar Iron Agar)

IVD

USO

Medio universalmente empleado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la fermentación de los hidratos de carbono glucosa, lactosa y sacarosa y a la producción de ácido sulfhídrico.

FUNDAMENTO

En el medio de cultivo, el extracto de carne y la pluripeptona, aportan los nutrientes adecuados para el desarrollo bacteriano.

La lactosa, sacarosa y glucosa son los hidratos de carbono fermentables. El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el sulfato de hierro y amonio, es la fuente de iones Fe^{3+} , los cuales se combinan con el ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro, de color negro. El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. El agar es el agente solidificante.

Por fermentación de azúcares, se producen ácidos, que se detectan por medio del indicador rojo de fenol, el cual vira al color amarillo en medio ácido. El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0213405: envase x 100 g.

Código B0213406: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

EXTRACTO DE CARNE.....	3.0
PLURIPÉPTONA.....	20.0
CLORURO DE SODIO.....	5.0
LACTOSA.....	10.0
SACAROSA.....	10.0
GLUCOSA.....	1.0
SULFATO DE HIERRO Y AMONIO.....	0.2
TIOSULFATO DE SODIO.....	0.2
ROJO DE FENOL.....	0.025
AGAR.....	13.0
pH FINAL: 7.3 ± 0.2	

INSTRUCCIONES

Suspender 62,5 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Dejar reposar 5 minutos. Mezclar bien, calentar con agitación frecuente y hervir 1 o 2 minutos hasta disolución total. Distribuir en tubos, llenándolos con un volumen que ocupe hasta la tercera parte de los mismos. Esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos. Enfriar y dejar solidificar el agar en pico de flauta profundo.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo deshidratado: color beige claro, homogéneo, libre deslizamiento.

Medio de cultivo preparado: color rojo.

ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo deshidratado a 10-35 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

Siembra

A partir de un cultivo puro del microorganismo en estudio, con aguja de inoculación inocular el medio de cultivo, picando el fondo y extendiendo sobre la superficie del mismo.

Incubación

En aerobiosis, a 35-37°C durante 18 a 24 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Observar el color del medio de cultivo y la producción de gas.

1- Superficie alcalina/profundidad ácida (pico rojo/fondo amarillo): el microorganismo solamente fermenta la glucosa.

2- Superficie ácida/Profundidad ácida (pico amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa.

3- Superficie alcalina/Profundidad alcalina (pico rojo/fondo rojo): el microorganismo es no fermentador de azúcares.

4- La presencia de burbujas o la ruptura del medio de cultivo indican que el microorganismo produce gas.

T.S.I. Agar (Triple Sugar Iron Agar)

5- El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico.

CONTROL DE CALIDAD

MICROORGANISMOS	SUPERFICIE/ PROFUNDIDAD	PRODUCCIÓN DE GAS	PRODUCCION DE SH ₂
Escherichia coli ATCC 25922	A/A	+	-
Klebsiella pneumoniae ATCC 700603	A/A	+	-
Proteus mirabilis ATCC 43071	K/A	-	+
Salmonella typhimurium ATCC 14028	K/A	-	+
Shigella flexneri ATCC 12022	K/A	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	K/K	-	-

A: reacción ácida (color amarillo)

K: reacción alcalina (color rojo)

CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin cambios

LIMITACIONES

- Los resultados de la prueba deber ser leídos luego de 18 a 24 horas de incubación. Si la lectura se efectúa a tiempos menores pueden existir falsos positivos por la presencia de acidez o la acidez generada no sea suficiente para producir el viraje del indicador rojo de fenol del color rojo al amarillo. Si se lee luego de 24 horas se pueden obtener resultados falsos negativos por consumo de peptonas durante el crecimiento de los microorganismos con la consecuente alcalinidad del medio de cultivo.

- Si la generación de SH₂ es elevada puede llevar al ennegrecimiento de todo el fondo del medio de cultivo y dificultar la visualización de la acidez producida. Es necesario aclarar que para que se produzca SH₂ debe existir un ambiente ácido, por eso si no se observa se debe considerar igualmente acidez positiva.

- Para la siembra utilizar aguja de inoculación. No utilizar ansas de inoculación ya que pueden llevar a resultados falsos positivos de producción de gas por alteraciones mecánicas del medio de cultivo.

- La forma de inoculación de este medio de cultivo depende de la técnica utilizada por el profesional. Se puede inocular primero el fondo y luego el pico o de manera opuesta. Esto no afectará los resultados.

SÍMBOLOS UTILIZADOS

 IVD	 REF	 ELABORADOR	 ESTÉRIL	 N° DE DETERMINACIONES	 LOTE N°	 FECHA DE VENCIMIENTO	 LÍMITE DE TEMPERATURA	 INSTRUCCIONES DE USO
DIAGNÓSTICO IN VITRO	CÓDIGO N°							

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- Ewing. 1985. Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York, N.Y.
- MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- Forbes, Sahn and Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis, Mo.
- Farmacopea Nacional Argentina, Codex Medicamentarius Argentino, Séptima Edición, volumen 1. 2003. Control Microbiológico de Productos no Obligatoriaamente Estériles.
- Murray P.R., Baron, Pfaller, Tenover and Tenover. 1999. Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- United States Pharmacopeia (USP 27). 2004. (61) Microbial Limit Test.
- European Pharmacopoeia 6.0, volume 1. 2007. Microbiological Examination of Non sterile products: Test for Specified Microorganisms.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento. Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.