

mikrobiologie labor technik

T.S.I. Agar

PRINCIPIU

T.S.I. (Triple Sugar Iron) este utilizat pentru diferențierea bacililor enterici Gram negativi pe baza fermentării dextrozei, lactozei și zaharozei și pe baza producerii de hidrogen sulfurat. Se întrebuițează doar *in vitro*.

FORMULA TIPICĂ

Componente	g/l
Amestec de peptonă	20.00
Dextroză	1.00
Lactoză	10.00
Zahăr	10.00
Clorură de sodiu	5.00
Tiosulfat de sodiu	0.20
Sulfat de fier	0.20
Roșu fenol	0.025
Agar	13.00
pH final: 7.3 ± 0.2 la 25°C	

METODA

Se suspendă 59.4 g la 1 litru de apă purificată. Se încălzește până la fierbere pentru dizolvarea completă. Se toarnă în tuburi cu dopuri. Se autoclavează la 118°C timp de 15 minute. Se răcește în poziție înclinată, pentru a avea o pantă și un fund de aproximativ 2 - 3 cm.

TEHNICA

Cu un ac de însămânțare, se înțeapă centrul coloniilor bine izolate obținute de pe un mediu solid. Se înțeapă centrul mediului la o adâncime a tubului de 3 - 5 mm de la fund. Se scoate acul și se hașurează suprafața pantei. Tuburile se incubează cu capacul puțin strâns pentru 24 - 48 ore la 37°C . Se examinează tuburile pentru producția de acid pe pantă/fund, pentru producția de gaze și pentru reacțiile hidrogenului sulfurat.

REZULTATE

- **O pantă alcalină-fund acid (roșu-galben)** indică doar fermentarea dextrozei.
- **O pantă acidă-fund acid (galben-galben)** indică fermentarea dextrozei, lactozei și/sau a zaharozei.
- **O pantă alcalină-fund alcalin (roșu-roșu)** nu prezintă fermentare.
- **Crăpături, pliuri sau bule** în mediu indică o producție de gaz.
- Un **precipitat negru** pe fundul tubului indică producția de H_2S .

PROPRIETĂȚI

Acest mediu, este similar cu Kligler Iron Agar, este suplimentat cu zaharoză, care poate fi fermentată mai repede decât lactoza de unii bacili enterici Gram-negative. Acest lucru permite diferențierea speciei *Proteus* de *Salmonella*. Pentru identificarea speciilor de *Proteus* și a altor specii care prezintă urează activă, se însămânțează proba în paralel pe T.S.I. și pe bulion uree. Dacă T.S.I. a fost pregătit cu mai mult de o săptămână înainte de a fi folosit, este recomandată regenerarea sa în apă fierbinte, apoi răcit cum este descris mai sus.

LEGENDĂ

- AG** : producție de acid (galben) și gaze
A : producție de acid (galben)
NC : Nici o schimbare de culoare (roșu)
ALK : reacție alcalină (roșu)
+ : producție de H_2S
- : nu prezintă producție de H_2S

	FUND	PANTĂ	H₂S
<i>Citrobacter</i>	AG	A	+
<i>Edwardsellia</i>	A/AG	A	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	AG	A	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	AG	A	-
<i>Escherichia coli</i>	AG	A	-
<i>Klebsiella</i>	AG	A	-
<i>Proteus mirabilis</i>	AG	A	+
<i>Proteus vulgaris</i>	AG	A	+
<i>Proteus morganii</i>	A/AG	NC/ALC	-
<i>Proteus rettgeri</i>	A	NC	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	A	NC/ALC	-
<i>Shigella sonnei</i>	A	NC/ALC	-
<i>Salmonella typhi</i>	A	NC/ALC	+
<i>Salmonella paratyphi A</i>	AG	NC/ALC	-
<i>Salmonella choleraesuis</i>	AG	NC/ALC	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	AG	NC/ALC	+
<i>Salmonella typhimurium</i>	AG	NC/ALC	+

BIBLIOGRAFIE

1. American Public Health Association. 1963. Diagnostic Procedures and Reagents. 4th Ed. pp. 150 and 294-295. A.P.H.A. Inc., New York.
2. American Public Health Association. 1966. Recommended Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2nd Ed. pp. 158 and 185, A.P.H.A. Inc., New York.
3. Hajna A.A. 1945. Triple-Sugar Iron Medium for the Identification of the Intestinal Group of Bacteria. J. Bact., 49:516-517.
4. US Pharmacopoeia. XVI medium.
5. European Pharmacopoeia. M medium.

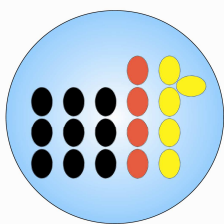
AMBALARE

Mediul deshidratat

(A se păstra între 1-30°C)
 1401120A: Flacon de 500 g
 1401120L: Flacon de 500 g

Mediul gata preparat

(A se păstra între 2-25°C)
 120117: Cutie cu 32 de tuburi de 7 ml în pantă



mikrobiologie labor technik

T.S.I. Agar

PRINCIPLE

T.S.I. (Triple Iron Sugar) is used for differentiating Gram-negative enteric bacilli based on the fermentation of dextrose, lactose and sucrose and on hydrogen sulfide production.

FORMULA

Components	g/l
Mix of peptone	20.00
Dextrose	1.00
Lactose	10.00
Sucrose	10.00
Sodium chloride	5.00
Sodium thiosulfate	0.20
Ferrous sulfate	0.20
Phenol red	0.025
Agar	13.00
Final pH: 7.3 + 0.2 at 25°C	

PREPARATION

Suspend 59,4 g in 1 liter purified water. Heat to boiling to dissolve completely. Dispense into tubes with closures. Autoclave at 118°C for 15 minutes. Cool in slanted position, as to have a slant and a butt of about 2 to 3 cm .

PROCEDURE

With an inoculating needle, prick the center of well-isolated colonies obtained from a solid media. Stab the center of the medium into the deep of the tube to 3 – 5 mm from the bottom. Withdraw the needle and streak the surface of the slant. Loosen closure on the tube before incubating 24 to 48 hours at 37°C. Read tubes for acid production of slant/butt, gas and hydrogen sulfide reactions.

RESULTS

- **An alkaline slant-acid butt (red/yellow)** indicates fermentation of dextrose only.

- **An acid slant-acid butt (yellow/yellow)** indicates fermentation of dextrose, lactose and/or sucrose.

- **An alkaline slant-alkaline butt (red/red)** indicates that neither dextrose nor lactose was fermented (non-fermentation).

- **Cracks, plits, or bubbles** in the medium indicate gas production.

- **A black precipitate** in the butt indicates hydrogen sulfide production.

REMARKUES

This medium, is similar to Kligler Iron Agar, it is added with sucrose that can be fermented faster than lactose by some gram-negative enteric bacilli. This allows to differentiate *Proteus* from *Salmonella*. It is common to sample a T.S.I. and a urea broth at the same time when wanting to identify *Proteus* or any other species that has an active urease. When T.S.I. has been prepared for more than a week before being used it is best to regenerate the medium by letting T.S.I. agar dissolve in hot water then cooling the tube as describe in the preparation paragraph.

LEGEND

AG : acid production (yellow) and gas

A : acid production (yellow)

NC : No colour change (red)

ALk : Alkaline reaction (red)

+ : Hydrogen sulfide production

- : No hydrogen sulfide production

	Butt	Slant	H2S
<i>Citrobacter</i>	AG	A	+
<i>Edwardsella</i>	A/AG	A	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	AG	A	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	AG	A	-
<i>Escherichia coli</i>	AG	A	-
<i>Klebsiella</i>	AG	A	-
<i>Proteus mirabilis</i>	AG	A	+
<i>Proteus vulgaris</i>	AG	A	+
<i>Proteus morganii</i>	A/AG	NC/ALC	-
<i>Proteus rettgeri</i>	A	NC	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	A	NC/ALC	-
<i>Shigella sonnei</i>	A	NC/ALC	-
<i>Salmonella typhi</i>	A	NC/ALC	+
<i>Salmonella paratyphi A</i>	AG	NC/ALC	-
<i>Salmonella choleraesuis</i>	AG	NC/ALC	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	AG	NC/ALC	+
<i>Salmonella typhimurium</i>	AG	NC/ALC	+

BIBLIOGRAPHY

1. American Public Health Association. 1963. Diagnostic Procedures and Reagents. 4th Ed. pp. 150 and 294-295. A.P.H.A. Inc., New York.
2. American Public Health Association. 1966. Recommended Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2nd Ed. pp. 158 and 185, A.P.H.A. Inc., New York.
3. Hajna A.A. 1945. Triple-Sugar Iron Medium for the Identification of the Intestinal Group of Bacteria. J. Bact., 49:516-517.
4. US Pharmacopoeia. XVI medium.
5. European Pharmacopoeia. M medium.

PACKAGING

Dehydrated medium

(Store between 1 -30°C)

1401120A: Flask of 500 g

1401120L: Flask of 500 g

Prepared medium in flask

(Store between 2 25°C)

120117: Pack of 32 slanted tubes