

CÓLERA MEDIANO TCBS

Código: CM0333

Un medio de aislamiento selectivo para vibrios patógenos.

Fórmula típica*	gramos/litro
Extracto de levadura	5.0
peptona bacteriológica	10.0
tiosulfato de sodio	10.0
Citrato de sodio	10.0
Bilis de buey	8.0
sacarosa	20.0
Cloruro de sodio	10.0
citrato férrico	1.0
Azul de bromotimol	0,04
azul de timol	0,04
Agar	14.0
pH 8,6 ± 0,2 a 25°C	

* Ajustado según sea necesario para cumplir con los estándares de desempeño

Modo de empleo

Suspender 88 g en 1 litro de agua destilada. Hervir para disolver el medio por completo. NO AUTOCLAVE.

Vierta los platos sin calentar más y seque antes de usar.

Descripción

Kobayashi, Enomoto, Sakazaki y Kuwahara ¹ desarrollaron medios TCBS a partir del agar de aislamiento selectivo de Nakanishi ².

El medio Oxoid TCBS se ajusta a la formulación de Kobayashi *et al.*, excepto que contiene bilis de buey especialmente procesada, libre de los defectos observados por Nakanishi y Kobayashi.

La complejidad de la composición de este medio significa que la uniformidad del crecimiento es un estándar difícil de mantener. Varias investigaciones han mostrado variaciones entre lotes de TCBS Medium fabricados por diferentes empresas ^{3,4,5,6}.

El control de calidad por parte de los fabricantes de este medio es especialmente importante porque la inhibición satisfactoria de la flora intestinal normal y la falta de inhibición de ciertas especies de *Vibrio* son muy críticas. Oeste y col. ⁷ mostraron que Oxoid TCBS Medium se acercaba más a sus criterios de producto satisfactorio.

La OMS ha establecido una directriz mínima aceptable para la recuperación de especies de *Vibrio* en medio TCBS ⁸.

El medio Oxoid es adecuado para el crecimiento de *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* y la mayoría de los demás *Vibrios* ⁹.

La mayoría de las enterobacterias que se encuentran en las heces quedan totalmente suprimidas durante al menos 24 horas. Puede ocurrir un ligero crecimiento de especies de *Proteus* y *Enterococcus faecalis*, pero las colonias se distinguen fácilmente de las colonias de vibrio.

El medio Oxoid TCBS es completo y no requiere aditivos ni adiciones asépticas de sangre. Por lo tanto, muestra una ventaja considerable sobre el agar lauril sulfato telurito, que requiere adiciones adicionales después de la esterilización. Aparte de este factor de conveniencia, también posee características de crecimiento superiores para las especies *de Vibrio*, en comparación con los medios de telurito. Si bien inhibe los no vibrios, promueve el rápido crecimiento de vibrios patógenos después de una incubación durante la noche a 35 °C. Para el aislamiento de otros vibrios a partir de muestras ambientales, se necesita incubación a temperaturas más bajas, entre 20 y 30 °C.

Aspecto colonial de los organismos en medio TCBS

24 horas de incubación a 35°C.

Organismos	Colonias
<i>Vibrio cólera</i> y tipo El Tor	Amarillo, plano, 2-3 mm de diámetro
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Azul verdoso, 3-5 mm de diámetro
<i>vibrio alginolyticus</i>	Amarillo, 3-5 mm de diámetro
<i>Vibrio metschnikovii</i> ¹⁰	Amarillo, 3-4 mm de diámetro
<i>Vibrio fluvialis</i> ¹¹	Amarillo, 2-3 mm de diámetro
<i>Vibrio vulnificus</i> ¹²	Azul verdoso, 2-3 mm de diámetro
<i>Vibrio mimicus</i> ¹³	Azul verdoso, 2-3 mm de diámetro
Especies <i>de enterococos</i>	Amarillo, 1 mm de diámetro.
Especies <i>de proteo</i>	Amarillo verdoso, 1 mm de diámetro.
Especies <i>de Pseudomonas</i>	Azul verdoso, 1 mm de diámetro.

Algunas cepas de *Aeromonas hydrophila* crecen produciendo colonias amarillas, pero *Plesimonas shigelloides* no suele crecer bien en TCBS.

Técnica

Esparza las heces o un subcultivo de un medio de enriquecimiento, por ejemplo, agua peptonada alcalina, sobre la superficie del medio Oxoid TCBS Cholera. Incubar las placas durante 18 a 24 horas a 35 °C para muestras clínicas o a una temperatura más baja para muestras ambientales.

Los cultivos cultivados en TCBS deben examinarse rápidamente después de sacarlos de una incubadora, ya que las colonias amarillas de cultivos *de Vibrio*, por ejemplo, *Vibrio cholerae*, pueden volver a un color verde cuando se dejan a temperatura ambiente ⁹.

Condiciones de almacenamiento y vida útil

Almacene el medio deshidratado a 10-30 °C y utilícelo antes de la fecha de caducidad que figura en la etiqueta.

Guarde el medio preparado a 2-8°C.

Aspecto

Medio deshidratado: Polvo de color pajizo/verde que fluye libremente

Medio preparado: Gel de color verde

Control de calidad

Controles positivos:	Resultados previstos
<i>Vibrio furnissii</i> NCTC 11218 (una cepa no patógena ⁶)	Buen crecimiento; colonias amarillas

<i>Vibrio parahaemolyticus</i> NCTC 10885	Buen crecimiento; colonias verdes
Control negativo:	
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 *	Sin crecimiento

* Este organismo está disponible como Culti-Loop®

Precauciones

La identificación de las diversas especies de *Vibrio* en el medio TCBS es presuntiva y se requieren pruebas adicionales para confirmarla.

Las colonias amarillas en el medio TCBS provocarán reacciones de oxidasa insatisfactorias.

Las colonias extraídas del medio TCBS son "pegajosas" y reaccionan mal en las pruebas de aglutinación en portaobjetos. Es necesario realizar un subcultivo en agar nutritivo antes de poder realizar las pruebas de aglutinación en portaobjetos.

Algunas cepas de *Vibrio vulnificus* producen una mejor recuperación a 30°C.

Referencias

1. Kobayashi T., Enomoto S., Sakazaki R. y Kuwahara S. (1963) *Jap. J. Bacteriol.* 18. 10-11, 387-311.
2. Nakanishi Y. (1963) *Modern Media* 9. 246.
3. McCormack WM, DeWitt WE, Bailey PE, Morris GK, Socharjono P. y Gangarosa EJ (1974) *J. Inf. Dis.* 129. 497-500.
4. Morris GK, Merson MH, Huq I., Kibrya AKMG y Black R. (1979) *J. Clin. Microbiol.* 9. 79-83.
5. Nicholls KM, Lee JV y Donovan TJ *J. Appl. Bacto.* 41. 265-269.
6. Taylor JA y Barrow GI (1981) *J. Clin. Camino.* 34. 208-212
7. West PA, Russek E., Brayton PR y Colwell PR (1982) *J. Clin. Microbiol.* 16. 1110-1116.
8. Grupo de Trabajo Científico de la OMS (1980) *Bull. OMS* 58. 353-374.
9. Furniss AL, Lee JV y Donovan TJ (1978) *Los Vibrios. Monografía PHLs No. 11.*
10. Lee JV, Donovan TJ y Furniss AL (1978) *Int. J. Sistema. Bacto.* 28. 99-111.
11. Lee JV, Shread P., Furniss AL y Bryant TN (1981) *J. Appl. Bacto.* 50. 73-94.
12. Granjero JJ 111 (1979) *The Lancet.* 2. 903.
13. Davis BR, Fanning GR, Madden JM, Steigerwall AG, Bashford HB, Smith HL y Brenner DJ (1981) *J. Clin. Microbiol.* 14. 631-639.