



## Triple Sugar Iron Agar

Medium for the differentiation of Enterobacteriaceae,  
according to ISO 6579 and 6785.

### DESCRIPTION

Triple Sugar Iron (TSI) Agar is a differential medium used for the identification of Enterobacteriaceae on the basis of four reactions, i.e. fermentation of lactose, glucose and sucrose and production of hydrogen sulphide.

TSI Agar is formulated according to ISO 6579 and 6785.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Meat Extract	3.0
Peptone	20.0
Yeast Extract	3.0
Sodium Chloride	5.0
Lactose	10.0
Sucrose	10.0
Glucose	1.0
Sodium Thiosulfate	0.3
Ferric Ammonium Citrate	0.3
Phenol Red	0.024
Agar	13.0
Final pH 7.4 ± 0.2 at 25°C	

### METHOD PRINCIPLE

Meat extract and peptone provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-group. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. Lactose, sucrose and glucose are the fermentable carbohydrates. Sodium thiosulfate is reduced to hydrogen sulphide which in turn reacts with ferric ions yielding a black precipitate. Phenol red is the pH indicator. Agar is the solidifying agent.

### PREPARATION

**Dehydrated medium** Suspend 65.6 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.

**Medium in bottles** Melt the content of the bottle in a water bath at 100°C (loosing the cap partially removed) until completely dissolved. Then screw the cap and check the homogeneity of the dissolved medium, if it is the case turning the bottle upside down. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation and aseptically distribute into final containers.

### TEST PROCEDURE

Touch an isolated colony with either a sterile needle or loop. Inoculate by streaking over the surface of the slope and stabbing in the butt of the tube. Incubate aerobically (with caps loosened) at 37°C for 24 hours. Do not incubate longer than 24 hours because the acid reaction in the slant of lactose and sucrose fermenters may revert to an alkaline reaction.

### INTERPRETING RESULTS

Examine for carbohydrates fermentation, gas production and hydrogen sulfide production.

Carbohydrates fermentation results in an acidification of the medium that turns yellow:

- an alkaline slant-acid butt (red/yellow) indicates fermentation of glucose only;
- an acid slant-acid butt (yellow/yellow) indicates fermentation of glucose, lactose and/or sucrose;
- an alkaline slant-alkaline butt (red/red) indicates that the organism being tested is a non-fermenter.

Gas production from glucose is indicated by splitting and cracking of the medium.

A black precipitate in butt indicates hydrogen sulphide production.

### APPEARANCE

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, light beige.

Prepared medium: slightly opalescent, red.

**STORAGE**

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles, tubes and prepared plates at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

**SHELF LIFE**

Dehydrated medium: 4 years.  
Medium in bottles: 2 years.  
Medium in tubes: 1 year.  
Ready-to-use plates: 6 months.

**QUALITY CONTROL**

Plates are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.  
Inoculum for productivity: ≤100 CFU.  
Incubation conditions: aerobically at 35 ± 2°C for 18-24 hours.

**QC Table.**

Microorganism		Growth	Slant	Butt	Gas	H <sub>2</sub> S
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Good	Yellow	Yellow	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC® 12453	Good	Red	Yellow	-	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853	Good	Red	Red	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC® 14028	Good	Red	Yellow	±	+
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC® 12022	Good	Red	Yellow	-	-

**WARNING AND PRECAUTIONS**

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for professional use only and must be used by properly trained operators.

**DISPOSAL OF WASTE**









Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

**BIBLIOGRAPHY**

- ISO 6579:2002. Microbiology of foods and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
- ISO 6785: 200. Milk and milk products – Detection of *Salmonella* spp.
- Sulkin S.E. and J.C. Willett (1940) A triple sugar-ferrous sulfate medium for use in identification of enteric organisms. J. Lab. Clin. Med. 25:649-653.

PRESENTATION		Contents	Ref.
Triple Sugar Iron Agar	90 mm ready-to-use plates	20 plates	11505
Triple Sugar Iron Agar	Slant tubes	10 x 10 ml tubes	30100
Triple Sugar Iron Agar	Slant tubes	10 x 15 ml tubes	30196
Triple Sugar Iron Agar	Bottles	6 x 200 ml bottles	413120
Triple Sugar Iron Agar	Dehydrated medium	500 g of powder	610350
Triple Sugar Iron Agar	Dehydrated medium	100 g of powder	620350

**TABLE OF SYMBOLS**

<b>LOT</b> Batch code	 Keep away from sunlight	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
<b>REF</b> Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse



**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy  
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net



## Triple Sugar Iron Agar

Terreno per la differenziazione delle Enterobacteriaceae,  
in accordo alle ISO 6579 e 6785.

### DESCRIZIONE

Triple Sugar Iron (TSI) Agar è un terreno differenziale utilizzato per l'identificazione delle Enterobacteriaceae in base a quattro reazioni, ovvero fermentazione del lattosio, glucosio e saccarosio e produzione di solfuro di idrogeno.

TSI Agar è formulato secondo ISO 6579 e 6785.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Estratto di Carne	3.0
Peptone	20.0
Estratto di Lievito	3.0
Sodio Cloruro	5.0
Lattosio	10.0
Saccarosio	10.0
Glucosio	1.0
Sodio Tiosolfato	0.3
Ammonio Citrato Ferrico	0.3
Rosso Fenolo	0.024
Agar	13.00
pH Finale 7.4 ± 0.2 a 25°C	

### PRINCIPIO DEL METODO

L'estratto di carne ed il peptone forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita degli organismi. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, soprattutto del gruppo-B. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. Lattosio, saccarosio e glucosio sono i carboidrati fermentabili. Il sodio tiosolfato viene ridotto a solfuro di idrogeno che a sua volta reagisce con gli ioni ferro producendo un precipitato nero. Il rosso fenolo è l'indicatore di pH. L'agar è l'agente solidificante.

### PREPARAZIONE

<u>Terreno disidratato</u>	Sospendere 65.6 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.
<u>Terreno in flaconi</u>	Sciogliere il contenuto di un flacone in bagnomaria a 100°C (con i tappi leggermente svitati) fino a completa dissoluzione del terreno. Verificare, una volta fuso, la buona omogeneità del terreno capovolgendo il flacone dopo averne avvitato il tappo. Raffreddare a 45-50°C, mescolare bene senza formazione di bolle. Versare in contenitori finali in condizioni di asepsi.

### PROCEDURA DEL TEST

Toccare una colonia isolata con un ago o un'ansa sterili. Inoculare lo slant strisciando sulla superficie del terreno ed il fondo della provetta per infissione. Incubare in atmosfera aerobica (con i tappi allentati) a 37°C per 24 ore. Non prolungare l'incubazione oltre le 24 ore perché la reazione di acidificazione sullo slant da parte degli organismi che fermentano lattosio e saccarosio può regredire ad una reazione di alcalinizzazione.

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Osservare la fermentazione dei carboidrati, la produzione di gas e la produzione di solfuro di idrogeno.

La fermentazione dei carboidrati causa un'acidificazione del terreno che diventa giallo:

- provetta con slant alcalino-fondo acido (rosso/giallo) indica fermentazione di solo glucosio;
- provetta con slant acido-fondo acido (giallo/giallo) indica fermentazione di glucosio, lattosio e/o saccarosio;
- provetta con slant alcalino-fondo alcalino (rosso/rosso) indica che l'organismo testato è un non-fermentante.

La produzione di gas dal glucosio è indicata dalla separazione del terreno e dalla formazione di crepe nello stesso.

Un precipitato nero sul fondo della provetta indica produzione di solfuro di idrogeno.

### ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, beige chiaro.

Terreno preparato: rosso, leggermente opalescente.

**CONSERVAZIONE**

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare i flaconi, le provette e le piastre pronte a 10-25°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

**DURATA**

Terreno disidratato: 4 anni.  
 Terreno in flaconi: 2 anni.  
 Terreno in provette: 1 anno.  
 Piastre pronte all'uso: 6 mesi.

**CONTROLLO DI QUALITÀ**

Le piastre vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.  
 Inoculo per produttività:  $\leq 100$  UFC.  
 Condizioni di incubazione: ambiente aerobico a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  per 18-24 ore.

**Tabella CQ.**

Microrganismo		Crescita	Slant	Fondo	Gas	H <sub>2</sub> S
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Buona	Giallo	Giallo	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC® 12453	Buona	Rosso	Giallo	-	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853	Buona	Rosso	Rosso	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC® 14028	Buona	Rosso	Giallo	±	+
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC® 12022	Buona	Rosso	Giallo	-	-

**AVVERTENZE E PRECAUZIONI**

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi esclusivamente per uso in ambito professionale e deve essere utilizzato da operatori adeguatamente addestrati.

**SMALTIMENTO DEI RIFIUTI**

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.









**BIBLIOGRAFIA**

1. ISO 6579:2002. Microbiology of foods and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
2. ISO 6785:2001. Milk and milk products – Detection of *Salmonella* spp.
3. Sulkin S.E. and J.C. Willett (1940) A triple sugar-ferrous sulfate medium for use in identification of enteric organisms. J. Lab. Clin. Med. 25:649-653.

**PRESENTAZIONE**

		Contenuto	Ref.
Triple Sugar Iron Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	20 piastre	11505
Triple Sugar Iron Agar	Provette a becco di clarino	Provette 10 x 10 ml	30100
Triple Sugar Iron Agar	Provette a becco di clarino	Provette 10 x 15 ml	30196
Triple Sugar Iron Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 200 ml	413120
Triple Sugar Iron Agar	Terreno disidratato	500 g di polvere	610350
Triple Sugar Iron Agar	Terreno disidratato	100 g di polvere	620350

**TABELLA DEI SIMBOLI**

<b>LOT</b> Codice del lotto	 Tenere al riparo dalla luce	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
<b>REF</b> Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare

**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy  
 Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net