محيط
Triple Sugar Iron Agar (TSI Agar)

1- هدف:

تفكيك باسيل هاي روده اي گرم منفي (بر اساس تخمير كربوهيدرات و توليد سولفيد هيدروژن)

2- اساس آزمايش:

در اين محيط كشت، ساكاروز به دو قندی (دكستروز و لاكتوز) كه در محيط كلايگلر آيرون آگار (KIA) وجود دارد، اضافه مي شود. افزودن ساكاروز، با تسهيل در جداسازي باسيل هاي تخمير كننده ساكاروز و نيز تخمير كننده هاي لاكتوز و يا دكستروز، حساسيت محيط را افزايش مي دهد. تخمير كربوهيدرات، با تغيير رنگ قابل مشاهده معرف pH يعني فنل رد (از قرمز به زرد) نشان داده مي شود. توليد سولفيد هيدروژن با ايجاد رسوبي كه محيط را در عمق لوله سياه مي كند و نتيجه افزودن سولفات فروس به محيط است، نشان داده مي شود.

براي تسهيل در جداسازي ارگانيسم هايي كه فقط دكستروز را تخمير مي كنند، غلظت دكستروز يك دهم (0/1) غلظت لاكتوز يا ساكاروز است. مقدار كم اسيد توليد شده در سطح شيب دار لوله در طي تخمير دكستروز، به سرعت اكسيد مي شود و باعث مي شود محيط به pH قلياي(قرمز) برگردد. در مقابل، بدليل فشار پايين تر اكسيژن در عمق، واكنش اسيدي (زرد) حفظ مي شود.

توجه: به هنگام تهيه محيط كشت بايد دقت نمود كه طول سطح شيب دار و عمق محيط كشت در لوله، حدوداً 3 سانتي متر باشد.

3- نمونه اوليه :

-كشت ارگانيسم بر روي يك پليت محيط مورد استفاده براى كشت انتروباكترياسه

4- مواد و تجهيزات مورد نياز:

-لوله محيط كشت TSI بصورت شيب دار

5- روش انجام كار:

با استفاده از آنس سوزني استريل خنك، رشد را از مركز يك كلوني كه به تازگي روي پليت محيط مورد استفاده براي كشت انتروباكترياسه رشد كرده است، به سطح شيب دار TSI Agar انتقال دهيد و آن را با حركت آنس در

امتداد سطح شيب دار، كشت دهيد و سپس عمق را با سوراخ كردن محيط، تلقيح نماييد. لوله ها را با در پوش هاي شل شده به مدت 24-18 ساعت در دماي 35 ±2 °C در اتمسفر هوازي انكوبه نماييد.
واكنش هاي توليد شده توسط ايزوله مجهول را با ارگانيسم هاي كنترل، مقايسه نماييد. تخمير كربوهيدرات با رنگ زرد محيط نشان داده مي شود.
اگر محيط در عمق لوله زرد شود (اسيدي) اما در سطح شيب دار قرمز شود (قلياي)، ارگانيسم تحت بررسي فقط دكستروز (گلوكز) را تخمير مي كند.
رنگ زرد (اسيدي) در سطح شيب دار و عمق نشان مي دهد كه ارگانيسم تحت بررسي، دكستروز، لاكتوز و يا ساكاروز را تخمير مي كند.
رنگ قرمز (قلياي) در سطح شيب دار و عمق، نشان مي دهد كه ارگانيسم تحت بررسي، يك غير تخمير كننده (Nonfermenter) است.
توليد سولفيد هيدروژن سبب توليد رسوب سياه در عمق لوله مي شود.
توليد گاز با شكاف و ترك خوردگي محيط نشان داده مي شود.

6- برنامه كنترل كيفي (QC):

ارگانيسم	سطح شيبدار	عمق	گاز	H_2S
Escherichia coli ATCC 25922	A	A	+	−
Pseudomons aeruginosa ATCC 27853	K	K	−	−
Salmonella typhimurium ATCC 14028	K	A	+	+
Shigella flexneri ATCC 12022	K	A	−	−

A: اسيدي (زرد) K: قلياي (قرمز)

7- تداخلات:

- براي حفظ شرايط قلياي سطح شيب دار بايد با بستن درپيچ لوله بصورت شل، اجازه داد كه تبادل آزاد هوا صورت گيرد. اگر لوله محكم بسته شود، واكنش اسيدي (ايجاد شده فقط با تخمير دكستروز) سطح شيب دار را درگير خواهد كرد.

- بعضي از ارگانيسم ها ممكن است توليد سولفيد هيدروژن را روي KIA نشان دهند، اما روي TSI نشان ندهند، چون استفاده از ساكاروز در TSI Agar، مكانيسم آنزيمي را كه در توليد H_2S اثر مي گذارد مهار مي كند. بويژه سالمونلاي توليد كننده H_2 S و بعضي از اعضاء انتروباكترياسه نمي توانند روي TSI Agar، H_2 S توليد كنند.
- سولفات فروس موجود در اين محيط(به عنوان معرفS H_2) گاهي داراي حساسيت كمتري نسبت به ساير نمك هاي فريك مي باشد. بنابراين ممكن است در ايجادS H_2 در TSI و KIA با ساير محيط هاي كشت مثل SIM مغايرت هايي ديده شود.
- چون عمق لوله هاي KIA و TSI، با تخمير گلوكز اسيدي مي شود ، سياه شدن اغلب در ته لوله وجود دارد يا به همان جا محدود مي شود (بويژه با باكتريهاي غير تخمير كننده لاكتوز) بنابراين اگر عمق سياه است بايد آن را اسيدي در نظر گرفت.