



## BD Tryptic Soy Agar

### USO PREVISTO

**BD Tryptic Soy Agar** (agar de soja tríplica BD), suministrado en frascos, es un medio de uso general completado parcialmente que, vertido en placas de Petri o tubos, favorece el crecimiento de microorganismos tanto no exigentes como moderadamente exigentes. En la microbiología clínica, no se utiliza para el aislamiento de patógenos a partir de muestras clínicas, pero puede ser utilizado para el cultivo de cepas bacterianas. Después de suplementarlo con sangre, se puede utilizar como medio de aislamiento primario en la microbiología clínica.

### PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

Dada su composición nutritiva, el agar de soja tríplica se ha convertido en un medio de uso muy extendido durante muchos años. Este medio se encuentra especificado como medio de agar digerido de caseína y harina de soja en las Farmacopeas Europea y de Estados Unidos por la porción de recuento microbiano aerobio total de los procedimientos de prueba de límite microbiano<sup>1,2</sup>. El medio preparado se utiliza para numerosas aplicaciones, incluidos el mantenimiento de cultivos de referencia, el recuento en placa, el aislamiento de microorganismos a partir de una variedad de materiales<sup>3-5</sup>. Se incluye en los compendios de métodos de examen de agua, aguas residuales y alimentos<sup>6,7</sup>.

El uso de este medio en microbiología clínica es limitado, dado que no favorece el crecimiento de una variedad de bacterias exigentes. Sin embargo, dado que el agar de soja tríplica no contiene los factores de crecimiento X y V, puede ser utilizado para la determinación de requisitos de estos factores de crecimiento por los aislados de las especies *Haemophilus* mediante la adición de tiras de factor X, V y XV a las placas inoculadas<sup>8</sup>. **BD Tryptic Soy Agar** también puede ser utilizado como medio para el mantenimiento o subcultivo de cepas de referencia, por ej., *Enterobacteriaceae* y estafilococos. El medio sin suplementar no se utiliza como medio de aislamiento primario para aplicaciones clínicas. Después de agregar sangre (por ej., sangre de carnero al 5%), se puede utilizar para el aislamiento de bacterias a partir de muestras clínicas<sup>9,10</sup>.

En **BD Tryptic Soy Agar**, la combinación de caseína y peptonas de soja hace al medio nutritivo, al suministrar nitrógeno orgánico, en especial aminoácidos y péptidos de cadena más larga. El cloruro sódico mantiene el equilibrio osmótico. **BD Tryptic Soy Agar** (medios en frasco) son medios completados parcialmente (=semifinalizados) suministrados en frascos de los que el usuario puede preparar un medio en placa o en tubo. Estos medios se fabrican a partir del medio deshidratado **Difco**.

### REACTIVOS

#### BD Tryptic Soy Agar

Fórmula\* por litro de agua purificada

<b>Bacto</b> Tryptone (digerido pancreático de caseína)	15,0 g
<b>Bacto</b> Soytone (digerido papaico de harina de soja)	5,0
Cloruro sódico	5,0
Agar	15,0

pH 7,3 ± 0,2

\* Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

### PRECAUCIONES

**IVD**. Solamente para uso profesional.

No utilizar los frascos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro. Para completar este medio en frascos completado parcialmente, seguir los métodos y respetar las precauciones descritas en **PROCEDIMIENTO: Preparación de reactivos**. Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

## ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir los frascos, almacenarlos en un lugar oscuro a 5 – 25 °C. No congelar ni sobrecalentar. El medio puede utilizarse hasta la fecha de caducidad e incubarse durante los períodos de incubación recomendados. Los frascos de envases abiertos pueden ser utilizados hasta la fecha de caducidad. Los frascos abiertos deben ser utilizados de inmediato. Para preparar las placas o tubos a partir del medio en frascos, primero debe licuarse (véase **PROCEDIMIENTO: Preparación del reactivo**). No licuar el medio más de una vez después de la solidificación.

## CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Medio sin suplementar: Preparar placas o tubos a partir del medio completado parcialmente (véase **PROCEDIMIENTO: Preparación del reactivo**), sin añadir suplementos tales como sangre. Inocular las placas o los tubos con las cepas de prueba indicadas en la tabla inferior. Para más detalles, consultar el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**. Incubar las bacterias durante 18 – 48 h en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C. Incubar *Aspergillus niger* durante 3 - 4 días en atmósfera aerobia a 25 - 28 °C. Según las Farmacopeas Europea y de Estados Unidos, el medio se incuba a 30 - 35 °C<sup>1,2</sup>.

Cepas	Resultados
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	Crecimiento
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Crecimiento
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crecimiento
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Crecimiento
Sin inocular	Ambar claro a ámbar, ligeramente opalescente

Medio suplementado con sangre de carnero desfibrinada al 5%: Preparar las placas a partir del medio completado parcialmente (véase **PROCEDIMIENTO: Preparación de reactivos**) y suplementar con sangre de carnero al 5% después de refrigerar a 48 – 50 °C. Se recomienda analizar el medio suplementado según la norma de NCCLS M22-A2<sup>11</sup>. Incubar las cepas durante 20 - 24 h en atmósfera aerobia enriquecida con dióxido de carbono.

Cepas	Resultados
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Crecimiento, beta-hemólisis.
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Crecimiento, alfa-hemólisis.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crecimiento; puede ser o no beta hemolítico
Sin inocular	Rojo (de color sangre)

## PROCEDIMIENTO

### Materiales suministrados

**BD Tryptic Soy Agar** (medios en frasco completados parcialmente). Véanse en **DISPONIBILIDAD** los volúmenes de llenado y tamaños de envase.



### Materiales no suministrados

Autoclave (ajustado a 100 ± 2 °C), estufa de vapor o placa térmica; baño María (48 – 50 °C); sangre desfibrinada (para la preparación de placas de agar sangre solamente); materiales de vidrio estériles y placas de Petri de plástico o tubos estériles.

Reactivos auxiliares y equipo de laboratorio según se requiera.

### **Preparación del reactivo**

Licuar **BD Tryptic Soy Agar** (medios en frasco) calentándolo en autoclave o estufa de vapor. También, el frasco puede colocarse en una jarra con agua, que se coloca en una placa térmica y se lleva a ebullición. **Aflojar un poco la tapa antes de calentar para permitir que se equilibre la presión.**

**Advertencia: No se recomienda utilizar hornos de microondas para licuar el medio. No colocar los frascos de medios con cierres metálicos en hornos de microondas.**

Si se utiliza un autoclave, ajustar una temperatura no superior a  $100 \pm 2$  °C, puesto que el calor excesivo puede deteriorar los ingredientes, lo que posiblemente genere un rendimiento microbiológico no satisfactorio. Si se utiliza una placa térmica y/o un baño María, hervir el tiempo suficiente como para disolver todo el medio. El tiempo necesario para una licuación completa del medio puede variar considerablemente, y depende de la temperatura real del dispositivo de calentamiento antes del uso, su potencia, tamaño, volumen y temperatura del medio en el recipiente. Se recomienda analizar y registrar el tiempo necesario para licuación después del primer uso.

Después de licuar completamente, retirar el recipiente del dispositivo de calentamiento y colocarlo en un baño María a 48 – 50 °C.

**Advertencia: ¡Utilizar guantes que protejan del calor! No poner el recipiente caliente en un baño frío ni en agua fría para acelerar el enfriamiento, ya que se podría agrietar el material de vidrio. ¡Existe el riesgo de quemarse gravemente con el vapor!**

Dejar el recipiente en el baño María lo suficiente como para permitir el enfriamiento de todo el medio a la temperatura definida.

Si se añade sangre desfibrinada (por ej., sangre de carnero al 5%) u otros suplementos sensibles al calor (que deben encontrarse a temperatura ambiente antes de utilizarlos), la temperatura del medio no debe ser superior a 50 °C. ¡Emplear condiciones asépticas durante la adición del suplemento y cuando se vierta el producto en las placas! Utilizar placas o tubos estériles. Mezclar el medio suavemente después de añadir el suplemento, pero evitar la formación de espuma y burbujas.

Verter el medio en las placas si se desea una inoculación superficial. Para una placa normal de 90 - 100 mm, un volumen apropiado es de 19 - 21 mL. Permitir que el medio completado se solidifique, invertir las placas y dejar secar a temperatura ambiente durante un tiempo adecuado (para una solidificación completa, almacenar de un día para el otro a 18 – 23 °C). Guardar en bolsas de plástico nuevas y almacenar a 2 – 8 °C. Las placas preparadas de este medio pueden ser utilizadas durante 5 - 7 días.

Si se ha de aplicar el método de vertido en placa, añadir el material de prueba y su solución en la placa vacía, cubrir con el medio, girar la placa suavemente para mezclarlo y dejar solidificar por completo.

Para la preparación de agares inclinados en tubos, añadir a los tubos la cantidad apropiada de medio licuado, enfriado a 48 – 50 °C, y dejar solidificar en la posición inclinada deseada. Los tubos cerrados herméticamente con tapas roscadas almacenados en un lugar oscuro a temperatura ambiente o a 2 – 8 °C pueden ser utilizados durante 2 – 3 semanas.

Antes de su utilización, las superficies del medio no deben presentar humedad en exceso.

Licuar el medio en frasco solamente una vez. No dejar que se solidifiquen restos para licuarlos posteriormente una segunda vez, dado que un calentamiento repetido puede dañar los ingredientes del medio, lo que generará un rendimiento microbiológico no satisfactorio.

### **Tipos de muestras**

El medio sin suplementar, vertido en placas de Petri, se utiliza en diversos procedimientos, por ej., en pruebas farmacéuticas. En la microbiología clínica, no deben ser utilizados como medio de aislamiento para patógenos a partir de muestras clínicas, a menos que se suplementen con sangre (por ej., sangre de carnero al 5%). Si se suplementan con sangre al 5%, el medio en placa puede ser utilizado generalmente para aislamiento primario de patógenos para todo tipo de muestras. Consultar en las referencias el procedimiento de recogida y procesamiento de

muestras<sup>4,10</sup>. El medio de agar inclinado en tubo no debe ser utilizado directamente con muestras clínicas, sino solamente para el crecimiento y mantenimiento de cultivos bacterianos.

### Procedimiento de análisis

Antes de su utilización, las superficies de agar del medio completado (en placas de Petri o en tubos) deben estar lisas y húmedas, pero sin humedad en exceso, porque esto podría causar un crecimiento confluyente.

Consultar las referencias apropiadas para métodos específicos<sup>2,6,7</sup>.

Placas suplementadas con sangre: Extender las muestras tan pronto como sea posible después de recibirlas en el laboratorio. La placa de extensión se utiliza principalmente para aislar los cultivos puros de las muestras con flora mixta. Si, por el contrario, el material se cultiva directamente empleando una torunda, hacerla girar en una sección pequeña cercana al borde, extendiendo luego a partir de esta área inoculada. Incubar las placas o los tubos en las condiciones seleccionadas.

- Si se utilizan para muestras clínicas, incubar durante 18 - 48 h (o más si es necesario) a  $35 \pm 2$  °C o según sea apropiado para los organismos.
  - Si se utilizan para el control de higiene, incubar a 30 – 35 °C, por un máximo de 5 días.
- Si se utilizan para materiales farmacéuticos, consultar las referencias<sup>1,2</sup>.

El medio de agar inclinado en tubos se utiliza para el cultivo y mantenimiento de cultivos bacterianos. Extender la cepa directamente después de la suspensión en agua o solución salina estériles en toda la superficie de agar inclinado. Incubar según sea apropiado para el aislado. Durante la incubación, se deben aflojar un poco las tapas permitir la ventilación. Después de la incubación y durante el almacenamiento, cerrar completamente.

### Resultados

Después de la incubación, es posible que en las placas aparezca una sección donde confluye el crecimiento. Dado que el procedimiento de extensión de la muestra es, de hecho, una técnica de “dilución”, se depositan cada vez menos microorganismos en las áreas extendidas. Por consiguiente, una o más de estas áreas presentarán colonias aisladas de los organismos que contenga la muestra. Por otra parte, el crecimiento de cada organismo podrá medirse semi-cuantitativamente basándose en el crecimiento ocurrido dentro de las áreas en donde se extienden las muestras.

- Método de vertido en placa: Consultar las referencias apropiadas<sup>1,2,6,7</sup>.

Si se inoculan con el inóculo adecuado, los agares inclinados mostrarán crecimiento en toda la superficie. Los tubos pueden mantenerse refrigerados durante varias semanas sin que el cultivo pierda viabilidad. El tiempo de supervivencia depende de las cepas individuales.

El número y tipo de organismos cultivados en medios completados preparados de **BD Tryptic Soy Agar** (medios en frasco) es muy elevado. Por tanto, aquí no se presentan detalles específicos acerca de su aspecto. Consultar las referencias<sup>4,9,10</sup>.

A partir de los aislados obtenidos en los medios, se deben realizar subcultivos apropiados para permitir la diferenciación e identificación adicionales.

### CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

**BD Tryptic Soy Agar** se utiliza en diversos procedimientos microbiológicos industriales, por ej., en pruebas de límite microbiano y en análisis microbiológico de aguas y alimentos<sup>1-3,6,7</sup>.

El agar de soja tróptica sin suplementar también se utiliza para el cultivo de muchas bacterias menos exigentes, por ejemplo, *Enterobacteriaceae*, bacilos gram negativos no fermentadores (*Pseudomonas* y muchos otros), enterococos, estafilococos, bacterias formadoras de esporas (*Bacillus* y géneros relacionados) y otros organismos con requisitos de crecimiento similares. El medio no es adecuado para el aislamiento y cultivo de bacterias muy exigentes, tales como las especies *Neisseria* o *Haemophilus*, ni de otros organismos con requisitos de nutrición especiales. Tampoco es un medio óptimo para el aislamiento de organismos anaerobios exigentes estrictos. Por consiguiente, el uso en microbiología clínica se limita a pruebas especiales, por ej., la diferenciación de *Haemophilus* con tiras de factor X, V y XV<sup>8</sup>.

Al agar de soja tríptico suplementado con sangre (por ej., sangre de carnero al 5%), se utiliza frecuentemente como medio de aislamiento primario para bacterias aerobias en microbiología clínica. Consultar las referencias para obtener los detalles<sup>3-5,8-10</sup>.

El agar de soja tríptico sin suplementar no contiene compuestos capaces de neutralizar activamente los desinfectantes y conservantes. Si se deben controlar muestras con dichos compuestos o superficies previamente desinfectadas, se recomienda utilizar agar de soja tríptica con lecitina y polisorbato, o bien suplementar el medio de la forma más conveniente.

## REFERENCIAS

1. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 1994. The U.S. Pharmacopeia 24/The national formulary 19-1999. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
2. Council of Europe, 2002. European Pharmacopoeia, 4th edition, and Supplement 4.2. European Pharmacopoeia Secretariat. Strasbourg/France.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
5. Nash, P., and M.M. Krenz. 1991. Culture media. In: A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Eaton, A.D., L.S. Clesceri, and A.E. Greenberg (ed.). 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
7. Downes, F.P., and K. Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
8. Campos, J.M. 1995. Haemophilus. In: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. NCCLS M2-A7. 1996. Quality assurance for commercially prepared microbiological culture media - 2nd edition; approved standard. National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Wayne, PA, USA.

## ENVASE Y DISPONIBILIDAD

### BD Tryptic Soy Agar (medios en frasco completados parcialmente)

Nº de cat. 256665	10 frascos	100 mL (volumen de llenado); en frasco de jarabe de 250 mL
Nº de cat. 257105	12 frascos	250 mL (volumen de llenado); en frasco plano de 500 mL
Nº de cat. 257106	10 frascos	500 mL (volumen de llenado); en frasco de jarabe de 500 mL
Nº de cat. 257240	4 frascos	400 mL (volumen de llenado); en frasco de laboratorio de 500 mL

## INFORMACION ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante local de BD.



BD Diagnostic Systems  
Tullastrasse 8 – 12  
D-69126 Heidelberg/Germany  
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16  
Reception\_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe  
Becton Dickinson France SA  
11 rue Aristide Bergès  
38800 Le Pont de Claix/France  
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD and BD logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company.  
Bacto is a trademark of Difco Laboratories, division of Becton, Dickinson and Company.  
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.  
© 2003 Becton, Dickinson and Company