



BBL Trypticase Soy Agar
L007516 • Rev. 11 • Septiembre 2014



PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I INTRODUCCION

Trypticase Soy Agar (agar de soja **Trypticase**) es un medio de uso general que favorece el crecimiento de microorganismos exigentes y no exigentes.

II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Licuar el medio en agares profundos en tubo calentándolos en agua en ebullición. Dejar enfriar a 45 – 50 °C, añadir 1 mL de sangre de carnero desfibrinada estéril a dos tubos (para inoculación con cepas *Streptococcus*) y verter en placas de Petri estériles. Mezclar bien para distribuir uniformemente la sangre en todo el medio y permitir su solidificación durante un mínimo de 30 minutos.
2. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Con un asa calibrada de 0,01 mL, inocular las superficies del agar con diluciones a 10⁻¹ de cultivos de caldo de soja **Trypticase** de 18 a 24 h. Inocular mediante extensión sobre las placas para asegurar la presencia de colonias bien aisladas.
 - b. Incubar los tubos con las tapas flojas a 35 ± 2 °C en atmósfera aerobia. Las placas de sangre deben incubarse en presencia de dióxido de carbono
3. Examinar las placas o tubos después de 18 – 24 h y 42 – 48 h para detectar la cantidad de crecimiento y pigmentación. Examinar las placas de agar sangre para detectar hemólisis.
4. Resultados previstos

Medio sin sangre añadida.

**Shigella flexneri* ATCC 12022 Crecimiento. Colonias de tamaño medio a grande de color grisáceo blanco translúcidas, ligeramente convexas y posiblemente mucoides.

**Escherichia coli* ATCC 25922 Crecimiento

**Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Crecimiento. Colonias de tamaño medio a grande, opacas, circulares, enteras con pigmento de color amarillo crema a dorado.

Medio con sangre de carnero desfibrinada estéril añadida (agares profundos en tubo).

**Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305 Crecimiento. Colonias rodeadas por zonas de alfa hemólisis (color verde).

**Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 Crecimiento. Colonias rodeadas de zonas con beta-hemólisis (transparente a lechoso).

*Cepa de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

III CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar los tubos como se describe en la sección "Deterioro del producto".
2. Examinar visualmente los tubos representativos para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Determinar el pH potenciométricamente a temperatura ambiente para verificar el cumplimiento de la especificación de 7,3 ± 0,2.
4. Incubar tubos representativos sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar después de 7 días en busca de contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

Trypticase Soy Agar se utiliza para el aislamiento y cultivo de microorganismos exigentes y no exigentes, incluidas las bacterias anaerobias y aerobias, aunque no es el medio de preferencia para las bacterias anaerobias.

V RESUMEN Y EXPLICACION

La composición nutritiva de **Trypticase** Soy Agar le ha convertido en el medio de uso más frecuente durante muchos años. Es el medio especificado como medio de agar de digerido de soja-caseína en

The United States Pharmacopeia (USP) para la porción de recuento microbiano total de los procedimientos de prueba de límite microbiano¹.

El medio se utiliza para una multitud de propósitos, incluido el mantenimiento de cultivos de referencia, recuento en placa, aislamiento de microorganismos a partir de una variedad de tipos de muestras y como base para los medios que contienen sangre²⁻⁴. Se incluye en los compendios de métodos para el análisis de agua, aguas residuales y alimentos^{5,6}.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La combinación de caseína y peptonas de soja del **Trypticase Soy Agar** hace al medio altamente nutritivo, al suministrar nitrógeno orgánico, particularmente aminoácidos y péptidos de cadena larga. El cloruro sódico mantiene el equilibrio osmótico.

VII REACTIVOS

Trypticase Soy Agar

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína	15,0	g
Digerido papaico de harina de soja	5,0	g
Cloruro sódico	5,0	g
Agar	15,0	g

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

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los tubos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como el virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"⁷⁻¹⁰ y las directrices del centro. Después de su utilización, los tubos preparados, los recipientes de muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Instrucciones para el almacenamiento

Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 25 °C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que vayan a utilizarse. Reducir al mínimo la exposición a la luz. Los medios en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante los períodos recomendados de incubación. Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

Deterioro del producto

No utilizar los tubos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII RECOGIDA Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consultar los textos correspondientes^{3,11}. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben adoptarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX PROCEDIMIENTO

Material suministrado

Trypticase Soy Agar

Materiales necesarios pero no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas.

Licuar el medio en agares profundos en tubo calentándolos en agua en ebullición. Dejar enfriar a 45 – 50 °C, añadir sangre si se desea y verter en placas de Petri estériles.

Para uso general, extender las muestras tan pronto como sea posible después de recibirlas en el laboratorio. La placa para extender las muestras se utiliza principalmente para aislar 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. Dado que muchos patógenos requieren dióxido de carbono para su aislamiento primario, las placas pueden incubarse en una atmósfera con aproximadamente 3 – 10% de CO₂. Incubar las placas a 35 ± 2 °C durante 18 – 24 h.

Los agares inclinados en tubo de **Trypticase** Soy Agar se utilizan principalmente para el crecimiento y mantenimiento de cultivos puros. Deben inocularse con un asa de inoculación e incubarse en las mismas condiciones que el medio en placa.

Control de calidad del usuario

Véase "Procedimientos de control de calidad".

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

X RESULTADOS

Después de la incubación, la mayoría de las placas mostrarán un área de crecimiento confluyente. 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 en que se realiza. 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 microorganismo podrá medirse semi-cuantitativamente basándose en el crecimiento ocurrido dentro de las áreas en que se realiza la extensión.

Deben reseñarse las reacciones hemolíticas con respecto a los organismos inoculados en el medio que contiene sangre.

El agar inclinado en tubo con cultivos puros puede utilizarse para estudios posteriores o como cultivos de referencia según se desee.

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Para su identificación, los organismos deben encontrarse en un cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y procedimientos recomendados^{3,11,12}.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Trypticase Soy Agar (TSA) with 5% Sheep Blood fue utilizado como un control en el estudio en el que se utilizó cultivo mejorado de caldo (Todd Hewitt) y el método de inmunoensayo óptico para el diagnóstico de la infección estreptocócica β-hemolítica. Se analizaron 502 muestras. TSA with 5% Sheep Blood mostró una sensibilidad y especificidad del 92,5% y 99,4%, respectivamente¹³. Nguyen et al utilizaron **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood como patrón de referencia para la detección del *Streptococcus* del grupo B a partir de muestras de las vías genitales inferiores de mujeres embarazadas¹⁴. En otro estudio Rossmann et al. volvieron a aislar satisfactoriamente la *Lautropia mirabilis* en **Trypticase** Soy Agar with

5% Sheep Blood a partir de muestras de la cavidad bucal de niños infectados con el virus de inmunodeficiencia humana¹⁵. De los 85 niños evaluados en este estudio, 35 (41,4%) dieron resultado positivo al organismo *L. mirabilis*. Isenberg et al. utilizaron **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood como control para evaluar la recuperación de *Enterococcus* a partir del medio selectivo en estudio¹⁶. Se aislaron 250 cepas de estreptococos grupo D a partir de muestras clínicas y se utilizaron 8 cepas que se obtuvieron de la National Communicable Disease Center (Atlanta, Ga, Estados Unidos). Kantor et al mantuvieron cultivos de referencia a temperatura ambiente con agares inclinados de **Trypticase** Soy Agar cubiertos con aceite mineral estéril para un estudio de identificación de bacterias gram negativas no fermentativas en el laboratorio clínico¹⁷.

XIII DISPONIBILIDAD

N° de cat. Descripción

- | | |
|--------|--|
| 221082 | BD BBL Trypticase Soy Agar Deepes (Pour Tubes), 20 mL, pqt. de 10 tubos de tamaño A |
| 221086 | BD BBL Trypticase Soy Agar Slants, pqt. de 10 tubos de tamaño K |
| 221087 | BD BBL Trypticase Soy Agar Slants, caja de 100 tubos de tamaño K |

XIV BIBLIOGRAFIA

1. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2006. The U.S. pharmacopeia 29/The national formulary 24-2006. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. Chapin, K.C., and P.R. Murray. 1999. Media, p. 1687-1707. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Clesceri, L.S., A.E. Greenberg, and A.D. Eaton (ed.) 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. 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.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
8. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
9. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
10. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
11. 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.
12. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
13. Fries, S.M. 1995. Diagnosis of group A streptococcal pharyngitis in a private clinic: comparative evaluation of an optical immunoassay method and culture. J. Ped. vol. 126, number 6.
14. Nguyen, T.M. et al. 1998. Detection of group B streptococcus: comparison of an optical immunoassay with direct plating and broth-enhanced culture methods. J. Matern. Fetal. Med. Jul-Aug; 7(4):172-176.
15. Rossmann, S.N. et al. 1998. Isolation of *Lautropia mirabilis* from oral cavities of human immunodeficiency virus infected children. J. Clin. Microbiol. 36:1756-1760.
16. Isenberg, H.D., D. Goldberg, and J. Sampson. 1970. Laboratory studies with a selective medium. Appl. Microbiol. Sept. 1970, p.433-436.
17. Kantor, L.T., D.K. Spyros, and R.B. Yee. 1975. Identification of nonfermentative gram-negative bacteria in the clinical laboratory. Amer. J. Med. Tech. vol. 41, no. 1.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.