



BD DNase Test Agar

USO PREVISTO

BD DNase Test Agar (agar de prueba DNasa BD) se utiliza para diferenciar los microorganismos basados en la actividad de desoxirribonucleasa (DNasa).

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

En 1956, Weckman y Catlin demostraron una correlación entre la mayor actividad de la DNasa de *Staphylococcus aureus* y la actividad de coagulasa positiva¹. Sugirieron que la actividad de la DNasa podría utilizarse para identificar los estafilococos potencialmente patógenos. DiSlavo confirmó sus resultados al obtener una correlación excelente entre la coagulasa y la actividad de la DNasa de los estafilococos aislados de muestras clínicas². Jeffries, Holtman y Guse incorporaron ADN en un medio de agar para estudiar la producción de DNasa de las bacterias y hongos³.

En **BD DNase Test Agar**, la triptona proporciona nutrientes para el crecimiento. El cloruro sódico mantiene el equilibrio osmótico. El alto nivel de ácido desoxirribonucleico molecular hace posible la detección de la desoxirribonucleasa (DNasa) que despolimeriza el ADN. Después de la incubación del medio con la cepa de prueba, la placa se inunda con ácido clorhídrico, que causa la precipitación del ADN polimerizado y hace al medio opaco. Los organismos que degradan el ADN producen una zona transparente alrededor del área de crecimiento. Este medio se utiliza principalmente en la identificación de los estafilococos, pero también puede usarse para la detección de la actividad de la DNasa en otros microorganismos.

REACTIVOS

BD DNase Test Agar

Fórmula* por litro de agua purificada

Bacto Tryptone	20,0
Cloruro sódico	5,0
Acido desoxirribonucleico	2,0
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 las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

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 las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura de 2 – 8 °C, en su envase original hasta momentos antes de su utilización. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Las placas pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados.

Las placas de pilas abiertas de 10 unidades pueden utilizarse durante una semana cuando se almacenan en un área limpia a una temperatura de 2 – 8 °C.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las siguientes cepas. Inocular las cepas con un asa llena de crecimiento de una placa de agar sangre tal como **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** formando una banda. Se pueden inocular hasta cuatro organismos en una placa. Incubar durante 18 – 24 h en atmósfera aerobia. Después de la incubación, inundar la placa con ácido clorhídrico 1 N. Dejar que el ácido penetre en el medio durante 2 min. Las colonias con resultado positivo a la DNasa estarán rodeadas de zonas transparentes en el medio.

Cepa	Resultados de la prueba
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Positiva a DNasa
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Negativa a DNasa
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	Positiva a DNasa
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 33495	Negativa a DNasa
Sin inocular	Ambar claro a medio, posiblemente con una leve opalescencia

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD DNase Test Agar (placas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

Materiales no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.
Acido clorhídrico 1 N (HCl).

Tipos de muestras

Este medio está diseñado para su uso en la diferenciación de microorganismos y no es un medio de aislamiento en el que las muestras clínicas se extienden directamente. Se necesitan cultivos puros para esta prueba (véase también **CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**).

Procedimiento de análisis

Inocular el medio con un asa llena de crecimiento de una placa de agar sangre tal como **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** formando una banda, o bien inocular una zona con un asa. Se pueden inocular hasta cuatro organismos en una placa. Se recomienda incluir un control negativo (por ejemplo, *Staphylococcus epidermidis*) y un control positivo (por ejemplo, *S. aureus*). Incubar las placas durante 18 – 24 h en atmósfera aerobia a 35 – 37 °C. Si se analizan cepas de otras especies bacterianas u hongos, incubar según sus requisitos. Después de la incubación, inundar las placas con suficiente ácido clorhídrico 1 N (HCl). Dejar que el ácido penetre en toda la superficie del medio durante 2 min.

Resultados

Después de la aplicación y penetración del ácido clorhídrico en el medio, los organismos positivos a la DNasa, tal como *Staphylococcus aureus* o *Serratia marcescens* estarán rodeados de zonas transparentes de ADN despolimerizado, mientras que el medio más alejado de la banda de inoculación tendrá un aspecto opaco y blanquizco debido al ADN polimerizado. Las colonias de organismos con resultado negativo a la DNasa no presentarán zonas transparentes alrededor de las colonias.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD DNase Test Agar es un medio estándar para la determinación de la desoxirribonucleasa^{5,6}. Se utiliza principalmente en la identificación de *Staphylococcus aureus* y su diferenciación de *S. epidermidis* u otros estafilococos con resultado negativo a la DNasa, además de la diferenciación de *Serratia* de *Klebsiella/Enterobacter*³⁻⁵.

Los organismos diferentes de *Staphylococcus aureus* y *Serratia marcescens* pueden presentar resultado positivo a la DNasa. Se requieren pruebas adicionales para identificar estos y otros organismos.

REFERENCIAS

1. Weckman, B. G., and B. W. Catlin. 1957. Deoxyribonuclease activity of micrococci from clinical sources. *J. Bacteriol.* 73: 747-753.
2. DiSalvo, J. W. 1958. Deoxyribonuclease and coagulase activity of micrococci. *Med. Tech. Bull. U. S. Armed Forces Med. J.* 9: 191.
3. Jeffries, C. D., Holtman, D. F., and D. G. Guse. 1957. Rapid method for determining the activity of microorganisms on nucleic acid. *J. Bacteriol.* 73: 590- 591.
4. Schreier, J.B. 1969. Modification of deoxyribonuclease test medium for rapid identification of *Serratia marcescens*. *Am. J. Clin. Pathol.* 51: 711.
5. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification- maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 275-284. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
6. Murano, E.A., and J. A. Hudnall. 2001. Media, reagents, and stains. *In: Downes, F.P., and K. Ito (ed.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th edition.* American Public Health Association, Washington. D.C.

ENVASE/DISPONIBILIDAD

BD DNase Test Agar

Nº de cat. 255506 Medios en placa listos para usar, 20 placas

INFORMACIÓN 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, BD logo and Stacker 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