

ADN – AZUL DE TOLUIDINA**MEDIO PARA LA DETECCIÓN DE LA TERMONUCLEASA CARACTERÍSTICA DE S. AUREUS**

IVD

1- USO PREVISTO

El agar ADN azul de toluidina permite la detección de endonucleasa resistente al calor (termonucleasa), que es característica de *Staphylococcus aureus*.

2- PRINCIPIO

La presencia de cloruro cálcico y la alcalinidad del medio aseguran condiciones óptimas para la expresión de la termonucleasa. La termonucleasa reacciona con el indicador de pH (azul toluidina), lo que induce un color **rosa** del medio (metacromasia).

3- CÓMO SE SUMINISTRA

- Medio listo para usar (listo para dispensar):
 - 25 tubos de 8 ml código 53558

4- COMPOSICIÓN (g/l de agua destilada)

ADN	0,3
Agar	10
Cloruro cálcico	1 ml
NaCl	10
Azul de toluidina	3 ml

5- CONSERVACIÓN

- Medio listo para usar (listo para dispensar): a +2-8°C
- La fecha de caducidad y el número de lote están indicados en el envasado.

6- INSTRUCCIONES**Material:**

- Material suministrado: medio ADN-azul de toluidina
- Material específico necesario para la preparación del medio y la inoculación, pero no suministrado: Caldo cerebro-corazón (código 53664).

Preparación del medio:

Antes de su uso, el medio debe calentarse al baño maría, dispensarse en placas de Petri de 55 mm y secarse en el incubador antes de la inoculación.

Las placas de Petri preparadas antes deben protegerse de la deshidratación y deben conservarse en la nevera a +4°C.

Inoculación:

1. Inocule la cepa a examinar en caldo Cerebro-Corazón con un cultivo puro, fresco.
2. Incube durante 24 horas a 37°C.
3. Caliente todo o parte de este cultivo hasta 100°C durante 15 minutos y permita que se enfríe.
4. Prepare una placa de Petri de ADN Azul de toluidina usando un sacabocados para cortar 4 a 6 pozos, de 4 a 5 mm de diámetro.
5. Usando una pipeta finamente cónica, rellene completamente un pozo de agar con varios microlitros (al menos 8 µl) de cultivo. Llene un pozo para cada cepa a examinar.

Incubación:

Incube durante al menos 4 horas a 37°C.

Lectura:

La presencia de termonucleasa se ve indicada por la aparición de una zona **rosa** de metacromasia alrededor del pozo. La reacción es positiva en el caso de una cepa de *S. aureus*.

7- RENDIMIENTO / CONTROL DE CALIDAD DE LA PRUEBA

- Aspecto del medio listo para usar: agar azul transparente.
- Los rendimientos de crecimiento del agar ADN-azul de toluidina se verifican con las siguientes cepas:

CEPAS	RESULTADO DEL CULTIVO DESPUÉS DE 4 horas a 37 °C
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 ATCC 6538P	Halo rosa Halo rosa
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990 ATCC 12228	Negativo Negativo
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305	Negativo

8- CONTROL DE CALIDAD DEL FABRICANTE

Todos los reactivos fabricados se elaboran según nuestro sistema de calidad, que va desde la recepción de las materias primas hasta la comercialización final del producto. Cada lote se somete a valoraciones de control de calidad y sale al mercado sólo cuando está de acuerdo con los criterios de aceptación predefinidos. Los registros relativos a la producción y al control de cada lote se conservan en Bio-Rad.

9- LÍMITES DE USO

- La termonucleasa es bastante específica para *Staphylococcus aureus*, pero algunas especies de estafilococoscoagulasa-negativos, como *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis* y *S. schleiferi* pueden producir también esta termonucleasa.

10- BIBLIOGRAFÍA

1. BARRY A.L., LACHICA R.V.F., ATCHISON F.W., Identification of *Staphylococcus aureus* by Simultaneous Use of Tube Coagulase and Thermonuclease Tests. Appl. Microbiol. 1973, 25, 496-497.
2. ZARZOUR J.Y., BELLE E.A., J. Clin. Microbiol., 1978, 7, 133-136.



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33

