

MEDIO PARA LA DETECCIÓN DE DNASA**IVD****1- USO PREVISTO**

El agar de ácido desoxirribonucleico (DNA) es un medio diseñado para la demostración de la producción de desoxirribonucleasa por bacterias (especialmente **Staphylococci**).

2- PRINCIPIO

Las bacterias que contienen desoxirribonucleasa hidrolizan el DNA*, produciendo la aparición de un halo transparente alrededor de las colonias.

* La zona de hidrólisis se demuestra por la adición de ácido clorhídrico en la superficie del medio, que induce la precipitación de DNA y la opacificación del medio. Aparece un halo transparente alrededor del cultivo cuando se ha hidrolizado el DNA.

En el caso de la revelación del azul toluidina, la desoxirribonucleasa bacteriana actúa con la tinción para inducir metacromasia del medio (color rosa alrededor de las colonias).

3- CÓMO SE SUMINISTRA

- Medio listo para usar: (para dispensar)
 - 6 frascos de 100 ml (**DNA**) código 55552
- Medio deshidratado
 - frasco de 500 g código 64404

4- COMPOSICIÓN TEÓRICA (g/l de agua destilada)

Producto digerido pancreático de caseína	20
Ácido desoxirribonucleico	2
Cloruro sódico	5
Agar	12
pH final:	7,3 ± 0.2

Preparación del medio:

Homogeneice el polvo contenido en el frasco.

Añada **39 gramos** de medio deshidratado a un litro de agua destilada estéril. Mezcle cuidadosamente hasta que se obtenga una suspensión homogénea. Caliente suavemente, agitando con frecuencia y luego caliente hasta hervir y que se consiga la disolución completa. Esterilice en el autoclave a 121°C durante 15 minutos. Dispense en placas de Petri o frascos.

5- CONSERVACIÓN

- Medio listo para usar: a +2-8°C
- Medio deshidratado: frasco cerrado herméticamente en un lugar seco a +15-25°C.

La fecha de caducidad y el número de lote están indicados en el envasado.

6- INSTRUCCIONES**Material:**

- Material suministrado: Medio de agar DNAsa

Inoculación:

Tome colonias sospechosas de un cultivo puro, fresco e inocúelas en la superficie de la placa de Petri con una línea única de 2 cm de largo o en zonas de 1 cm de diámetro. Puede usarse la misma placa para 4 ó 5 colonias diferentes.

Incubación:

Incube durante 24 horas a 37°C.

Lectura:

Las placas se inundan con una solución de ácido clorhídrico normal o solución de azul toluidina al 0,1%. Pueden observarse diversos aspectos durante los siguientes 5 minutos:

1) Revelación con ácido clorhídrico:

- Zona **transparente** alrededor de la línea, el resto de la placa permanece opaco: la cepa es DNAsa (+).
- No hay ninguna zona transparente alrededor de la línea: la cepa es DNAsa (-).

2) Revelación con azul de toluidina:

- Zona **rosa** alrededor de la línea, el resto de la placa permanece azul: la cepa es DNAsa (+).
- No hay zona **rosa** alrededor de la línea. la cepa es DNAsa (-).

7- RENDIMIENTO / CONTROL DE CALIDAD DE LA PRUEBA

- Aspecto del medio listo para usar: agar transparente del **color ámbar**.
- Aspecto del medio deshidratado: polvo **beige pálido**.
- Los rendimientos de crecimiento del medio agar DNAsa se verifican con las siguientes cepas:

CEPAS	RESULTADO DEL CULTIVO DESPUÉS DE 24 horas a 37 °C
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y ATCC 6538P - Crecimiento - Revelación de la DNAsa	+ +
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990 y ATCC 12228 - Crecimiento - Revelación de la DNAsa	+ -
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100 - Crecimiento - Revelación de la DNAsa	+ +

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 actividad de DNAsa de los cultivos de *Staphylococcus* puede verse afectada por la composición del medio, el pH, la temperatura, la atmósfera y los tiempos de incubación.

10- BIBLIOGRAFÍA

1. BLAIR, E.B., EMERSON, J.J., TULL, A.H. 1967. Am. J. Clin. Path. 47 : 30-39
2. SMITH, P.B., HANCOCK, G.A., RHODEN, D.L. 1969. Appl. Microbiol., 18 : 991-994.



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



10/2005