

## Agar DNAsa con verde de metilo

REF 285-135

2



12

IVD Material para Diagnóstico *In Vitro*

### Presentación:

Medio de cultivo listo para su uso, estuche de 10 unidades,  
Placa de 55 mm x 15 mm. (ref. 285-135).

### Composición (gramos / litro):

Triptosa:	20.00
DNA:	2.00
Cloruro de sodio:	5.00
Agar Bacteriológico	15.00
<b><u>Aditivos (mg/L):</u></b>	
Verde de Metilo:	0.05
pH final medio de cultivo listo para el uso:	7.3 +/- 0.2

### Descripción:

El Agar DNAsa con verde de metilo es un medio de cultivo diferencial para el estudio de la actividad de la DNAsa.

La DNAsa, enzima extracelular que degrada el ADN en nucleótidos menores, tiene gran utilidad como prueba de diferenciación entre *Staphylococcus aureus* y otras especies de *Staphylococcus* coagulasa negativos, y para la diferenciación entre *Moraxella catarrhalis* y especies del género *Neisseria*.

Jeffries et. Al. describen en 1957 un medio de cultivo que incorpora ADN para evidenciar la actividad de la enzima desoxirribonucleasa de diversos microorganismos, mediante la adición de HCl 1N sobre el cultivo, de manera que la actividad de la DNAsa se observa como una zona de aclaración rodeando las colonias microbianas. El HCl en contacto con el ADN intacto produce un precipitado nuboso.

La relación entre la actividad de la DNAsa y la producción de coagulasa por parte de *Staphylococcus aureus* fue establecida por DiSalvo, mediante la incorporación de ADN en la fórmula del agar tripticasa –soya.

Para evitar la pérdida de las cepas en estudio por efecto del HCl como revelador de la actividad de la DNAsa, se incorporan algunos colorantes meta cromáticos al medio de cultivo, tales como azul de toluidina o verde de metilo. El colorante verde de metilo forma un complejo coloreado con el ADN intacto, que se desintegra por la acción depolimerizante de la DNAsa

bacteriana. La actividad de la DNAsa en este caso queda evidenciada por una zona de aclaración incolora alrededor de las colonias.

Algunas cocáceas Gram positivas pueden resultar inhibidas por efecto del azul de toluidina, por esta razón se usa de preferencia agar DNAsa con verde de metilo para el estudio con cocáceas Gram positivas, y con azul de toluidina para el estudio de bacilos Gram negativos (entero bacteriáceas).

### Materiales y Reactivos necesarios, pero no suministrados:

Estufa de cultivo.  
Asa de siembra.

### PRECAUCIONES PARA SU USO ADECUADO:

- Material para uso diagnóstico IN VITRO y control microbiológico.
- Solo para uso profesional. Requiere usuarios con entrenamiento previo.
- Contiene compuestos de origen animal, la inocuidad no es garantizada. Requiere manipulación con precaución relativa a productos potencialmente infecciosos. NO INGERIR EL PRODUCTO, NO INHALAR EL PRODUCTO
- No debe ser usado como materia prima para ninguna otra fabricación.
- No debe usarse pasado su fecha de expiración.
- No debe usarse si el envase está deteriorado. Material garantizado solo con sellos intactos.
- No debe usarse si se observa contaminación biológica.
- No se requiere el uso de otros reactivos.
- Temperar la placa sin sello antes de su uso. No utilizar con condensación excesiva. No resellar.
- Para la interpretación de los resultados se debe tener en cuenta las características propias de cada especie bacteriana sometida a prueba, como asimismo los antecedentes clínicos o epidemiológicos del caso en estudio.
- El material utilizado debe descartarse de manera segura de acuerdo a las normativas de bioseguridad vigentes en el país

### Conservación:

Conservado refrigerado entre 2° y 12° C es estable hasta la fecha de caducidad. El medio de cultivo se debe almacenar sellado y con la cubierta de la placa (tapa) abajo. Se recomienda almacenar a temperaturas cercanas a 12°C. *A menor temperatura de almacenamiento mayor probabilidad de condensación y por tanto mayor riesgo de filtración del sello de PVC.*

### Muestras a cultivar:

Cepas del género *Staphylococcus* u otras bacterias aisladas a partir de muestras clínicas, de alimentos o aguas que deban ser sometidas a la prueba de DNAsa con fines de diagnóstico diferencial, por ejemplo *Staphylococcus aureus*.

### Inoculación:

Sembrar abundantemente las cepas mediante estría en superficie.

### **Incubación:**

Incubar por 24 a 48 horas entre 35° y 37°C, en atmósfera aeróbica.

### **Lectura e Interpretación de Resultados:**

Una vez completado el período de incubación, observar el desarrollo de colonias y verificar la presencia o ausencia de zonas claras e incoloras en el medio de cultivo que rodea las colonias.

**Prueba de DNAsa positiva:** presencia de zona clara e incolora.

**Prueba de DNAsa negativa:** no se observan cambios en el medio de cultivo.

La identificación de *Staphylococcus aureus* en este medio de cultivo es de carácter presuntivo. El usuario puede aplicar otras pruebas de identificación si lo considera necesario.

### **Control de Calidad:**

El usuario puede someter este medio de cultivo a sus propios controles de calidad. La frecuencia de los controles así como las cepas y condiciones de cultivo deberá establecerlas el propio usuario de acuerdo a la normativa local en vigencia. A modo de referencia, puede realizarse el siguiente ensayo de control de calidad:

Resultados esperados para siembras sobre Agar DNAsa con verde de metilo tras 24 horas de cultivo en atmósfera aeróbica a 35°-37°C:

<b>Cepa de Control</b>	<b>Resultado esperado</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Buen desarrollo, reacción positiva
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Buen desarrollo, reacción negativa
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Buen desarrollo, reacción positiva.
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100	Buen desarrollo, reacción positiva.

### **Limitaciones de Uso:**

El Agar DNAsa con verde de metilo es un medio de cultivo diferencial, su uso está indicado solo para efecto de verificar la acción de la DNAsa bacteriana.

Contiene compuestos colorantes, su composición podría actuar inhibiendo el desarrollo de otras especies bacterianas.

Los resultados obtenidos tienen carácter presuntivo. Se recomienda al usuario aplicar pruebas de identificación complementarias.

### **Control de esterilidad\*:**

1. - No hubo desarrollo a las 48 horas de cultivo (37°C, aeróbico).
- 2.- No hubo desarrollo a las 96 horas de cultivo (20°C, aeróbico).

### **Control de fertilidad\*:**

Al cultivar en este lote las cepas de control que se indican, se esperan los siguientes resultados de desarrollo:

Cultivo a 37°C, atmósfera aeróbica:

<b>Cepa de Control</b>	<b>Resultado esperado</b>
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Buen desarrollo, reacción negativa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Buen desarrollo, reacción positiva
<i>Streptococcus pyogenes</i> ISP 364/00	Buen desarrollo, reacción negativa

\* Cumple norma ISO 13485:2003 y NCh 3162/2.Of2008 Certificados de conformidad para cada lote deben ser solicitados por el cliente.

### **Eliminación de Desechos:**

El usuario es responsable de la adecuada eliminación de los materiales para diagnóstico microbiológico estén utilizados o no, para lo que deberá estar en conocimiento cabal de la normativa local vigente respecto de la disposición de material infeccioso o potencialmente infeccioso. Cada laboratorio asume la responsabilidad de la gestión de sus desechos y efluentes, sea por cuenta propia o mediante terceros que garanticen el adecuado tratamiento de estos, y según lo determinen las reglamentaciones locales vigentes.

### **Referencias**

Washington. 1985. Laboratory procedures in clinical microbiology, 2nd ed. Springer-Verlag, New York, N.Y.  
MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.  
Jeffries, Holtman and Guse. 1957. J. Bacteriol. 73:590.  
DiSalvo. 1958. Med. Tech. Bull. U.S. Armed Forces Med. J. 9:191.  
Schreier. 1969. Am. J. Clin. Pathol. 51:711. Smith, Hancock and Rhoden. 1969. Appl. Microbiol. 18:991.

Rev.1: 10/2009 CIO