



BD DNase Test Agar

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD DNase Test Agar** (Ágar de teste DNase da BD) é utilizado na diferenciação de microrganismos com base na actividade da desoxirribonuclease (DNase). Em microbiologia clínica, este meio não é utilizado como um meio de isolamento em que as amostras são espalhadas diretamente; em vez disso, requer a utilização de culturas puras, tais como culturas previamente isoladas de amostras clínicas.

PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

Em 1956, Weckman e Catlin demonstraram haver uma correlação entre uma actividade aumentada de DNase dos *Staphylococcus aureus* e uma actividade de coagulase positiva.¹ Sugeriram que a actividade de DNase podia ser utilizada para identificar estafilococos potencialmente patogénicos. DiSalvo confirmou estes resultados obtendo uma correlação excelente entre a actividade de coagulase e de DNase dos estafilococos isolados provenientes de amostras clínicas.² Jeffries, Holtman e Guse incorporaram ADN num meio de ágar para estudarem a produção de DNase pelas bactérias e fungos.³

No **BD DNase Test Agar**, a triptona fornece os nutrientes para o crescimento. O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico. O ácido desoxirribonucléico molecular permite a detecção da desoxirribonuclease (DNase) que despolimeriza o ADN. Após a incubação do meio com a estirpe do teste, a placa é inundada com ácido clorídrico que, por sua vez, provoca a precipitação do ADN polimerizado, tornando o meio opaco. Os organismos que degradam o procedimento do ADN produzem uma zona transparente em volta da área de crescimento. Este meio é predominantemente utilizado na identificação dos estafilococos mas também pode ser utilizado na detecção da actividade de DNase noutros microrganismos.

REAGENTES

BD DNase Test Agar

Fórmula* por Litro de Água Purificada

Bacto Tryptone	20,0 g
Cloreto de sódio	5,0
Ácido Desoxirribonucleico	2,0
Ágar	15,0
pH 7.3 ± 0,2	

*Ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios do desempenho.

PRECAUÇÕES

IVD . Apenas para uso profissional. Ⓢ

Não utilizar as placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura, fissuras ou outros sinais de deterioração.

Consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO** para informação sobre os procedimentos de manuseamento asséptico, os riscos biológicos e os procedimentos de eliminação do produto usado.

ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após recepção das placas, conservar no escuro a uma temperatura entre 2 e 8°C, dentro do invólucro original até ao momento da utilização. Evitar congelar e aquecer excessivamente. As placas podem ser inoculadas até ao prazo de validade (ver a etiqueta da embalagem) e incubadas durante o tempo de incubação recomendado.

As placas são fornecidas em pilhas de 10 e, quando uma destas pilhas é aberta, as respectivas placas terão de ser utilizadas no prazo máximo de uma semana, se forem conservadas em local limpo a uma temperatura entre 2 e 8°C.

CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR

Inocular as amostras representativas com as seguintes culturas. Inocular as estirpes com uma ansa cheia de cultura proveniente de uma placa de ágar de sangue, como o **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, numa banda. Pode ser inoculado um máximo de quatro organismos numa placa. Incubar entre 18 a 24 h numa atmosfera aeróbia. Após a incubação, inunde a placa com 1 N de ácido clorídrico. Deixar o ácido penetrar no meio durante 2 min. As colónias positivas para a DNase aparecerão rodeadas por zonas transparentes no meio.

Estirpe	Resultados do teste
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Positivo para a DNase
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Negativo para a DNase
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	Positivo para a DNase
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 33495	Negativo para a DNase
Não inoculadas	Âmbar claro a médio, pode surgir ligeiramente opalescente

PROCEDIMENTO

Materiais fornecidos

BD DNase Test Agar (placas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlado.

Materiais não fornecidos

Meios de cultura auxiliares, reagentes e equipamento laboratorial, conforme necessário.
1 N de ácido clorídrico (HCl).

Tipos de amostra

Este meio destina-se a ser utilizado na diferenciação de microrganismos e não é um meio de isolamento, no qual as amostras clínicas possam ser espalhadas directamente. São necessárias culturas puras (ou seja, previamente isoladas de amostras clínicas) para este teste (consultar também **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**).

Procedimento do teste

Inocular o meio com uma ansa cheia de cultura proveniente de uma placa de ágar de sangue, como o **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, numa banda ou inocular aleatoriamente com uma ansa. Pode ser inoculado um máximo de quatro organismos numa placa.

Recomenda-se a inclusão de um controlo negativo, por exemplo, o *Staphylococcus epidermidis*, e de um controlo positivo, por exemplo, o *S. aureus*. Incubar as placas entre 18 e 24 h em condições aeróbias entre 35 e 37°C. Se forem testadas estirpes de outras espécies bacterianas ou fungos, incubar de acordo com os seus requisitos.

Após a incubação, inundar as placas com 1 N de ácido clorídrico (HCl) suficiente. Deixar o ácido penetrar em toda a superfície do meio durante 2 min.

Resultados

Após a aplicação e penetração do ácido clorídrico no meio, os organismos positivos para a DNase, como o *Staphylococcus aureus* ou o *Serratia marcescens*, ficarão rodeados por zonas transparentes do ADN despolimerizado, ao passo que o meio mais afastado da banda de inoculação ficarão opacos e esbranquiçados devido ao ADN polimerizado. As colónias de organismos negativos para a DNase não apresentarão qualquer zona transparente em volta das colónias.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O **BD DNase Test Agar** constitui um meio normalizado para a determinação da desoxirribonuclease.^{5,6} É normalmente utilizado na identificação dos *Staphylococcus aureus* e

na sua diferenciação com o *S. epidermidis* ou outros estafilococos negativos para a DNase, bem como na diferenciação entre o *Serratia* e o *Klebsiella/Enterobacter*.³⁻⁵ Outros organismos, além do *Staphylococcus aureus* e do *Serratia marcescens* podem ser positivos para a DNase. São necessários outros testes para identificar estes ou outros organismos.

BIBLIOGRAFIA

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.

EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

BD DNase Test Agar

No. de cat. 255506

Meios em placas prontos a usar, 20 placas

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para obter informações adicionais, contacte o representante local da BD.



Becton Dickinson GmbH

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

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

Bacto is a trademark of Difco Laboratories, division of Becton, Dickinson and Company

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company

© 2014 BD