

Sinonimia

Dnase Test Agar; Deoxyribonuclease Test Agar; Deoxyribonucleic Acid Agar; DNA Agar

Especificación

Medio de cultivo sólido para determinar la actividad de la desoxirribonucleasa de los microorganismos, particularmente de estafilococos y *Serratia spp.*

Fórmula * en g/L

Triptosa.....	20,00
ADN (ácido desoxirribonucleico).....	2,00
Cloruro sódico.....	5,00
Agar.....	15,00

pH final a 25 °C, 7,3 ±0,2

*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación

Reconstitución

Suspender 42 g del polvo en 1 L de agua destilada y llevar a ebullición con agitación frecuente. Distribuir en frascos adecuados y esterilizar al autoclave durante 15 minutos a 121°C. Enfriar hasta 50°C y verter en placas.

Descripción

Jeffries, Holtman y Guse (1957) incorporaron DNA a un medio general con agar para estudiar la producción de DNasa por bacterias y hongos. Los microorganismos capaces de producir DNasa rompen el DNA reduciéndolo a fragmentos de nucleótidos. La visualización de la fragmentación del DNA se consigue provocando la precipitación del DNA con ácido clorhídrico que enturbia el medio, dándole un aspecto lechoso. Sin embargo esta reacción no ocurre con los fragmentos de nucleótidos resultantes de la despolimerización del DNA, por lo que, en una placa sembrada con un microorganismo productor de DNasa se observará una zona clara alrededor del crecimiento y el resto de la placa quedará turbio.

DiSalvo, estudiando estafilococos, observó una estrecha correlación entre la producción de coagulasa y la actividad de la DNasa, con lo cual propuso el Agar DNasa como una prueba cómoda de laboratorio par el diagnóstico de estafilococos potencialmente patógenos.

Si previamente a la esterilización se añaden, a 1 L de Agar DNasa, 10 g de manitol y 0,025 g de rojo fenol puede determinarse, simultáneamente con la producción de Dnasa, la fermentación de manitol. El resultado positivo de las dos pruebas en un estafilococo determinará, con una alta probabilidad, su identificación como *Staphylococcus aureus* patógeno.

Este medio también es útil para la identificación de especímenes clínicos de *Serratia marcescens* ya que son productores de DNasa. Smith *et al.* (1969) modificaron el medio añadiendo azul de toluidina y cristal violeta y señaló que los bacilos Gram negativos productores de DNasa crecidos en este medio modificado se podían aceptar como especies de *Serratia*.

Técnica

Las placas de Agar DNasa se inoculan con el microorganismo a estudiar mediante una estría superficial gruesa o una siembra en botón y se incuba durante 18-24 horas a 35-37°C.

Para la lectura, se inundan las placas con ácido clorhídrico 1N y se observa si se forman zonas transparentes alrededor de la estría. Si la placa queda totalmente turbia tras el tratamiento con clorhídrico se considera que la prueba es negativa. Si por el contrario queda una zona transparente alrededor del crecimiento, la prueba se considerará como positiva.

Control de calidad

Temperatura de incubación: 35-37 °C

Tiempo de incubación : 18-24 h

Inóculo: Aislamiento por estría. Para leer inundar la placa con HCl 1N.

Microorganismo
Crecimiento
Observaciones

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Bueno	DNasa (-)
<i>Serratia marcescens</i> ATCC® 13880	Bueno	DNasa (+)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 6538	Bueno	DNasa (+)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Bueno	DNasa (+)
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Bueno	DNasa (-)

Bibliografía

- DISALVO, J.W. (1958) Desoxyribonuclease and Coagulase Activity of Micrococci. Med. Tech. Bull. U.S. Armed Forces. Med. J. 9:191.
- JEFFRIES, C.D., D.F. HOLTMAN & D.G. GUSE (1957) Rapid Method for Determining the Activity of Microorganisms on NucleicAcids. J. Bacteriol. 73:590-591.
- SMITH, P.B., G.A. HANCOCK & D.L. RHODEN (1969) Improved medium for detecting deoxyribonuclease-producing bacteria. Appl. Microbiol. 18:991-993.

Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco y seco (entre 4°C y 30 °C).