

1. FINALIDADE:

Meio de cultura utilizado na diferenciação de microrganismos com base na atividade da desoxirribonuclease (DNase).

2. PRINCÍPIO DO MÉTODO:

O ágar Dnase é um meio diferencial para testar a habilidade do microrganismo em produzir a enzima desoxirribonuclease (Dnase). O teste Dnase deve ser utilizado em conjunto com outros testes para identificação de *S. aureus* e é auxiliar na diferenciação e identificação de cepas não pigmentadas de *Serratia* de *Klebsiella-Enterobacter*. Em 1956, Cunningham, Catlin e Garrilhe demonstraram que cepas coagulase positiva fermentadoras de manitol de *S. aureus* produziam desoxirribonuclease capaz de hidrolisar 5-fosfodiéster do DNA. Sugeriram que a atividade de DNase poderia ser utilizada para identificar estafilococos potencialmente patogênicos, bem como diferenciar *Serratia spp.* de *Enterobacter spp.*, *Staphylococcus aureus* de estafilococos coagulase negativo e *Moraxella catarrhalis* das espécies de *Neisseria spp.* No meio de cultura, 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 DNA. A presença do corante metacromático Azul de Toluidina, visa eliminar a necessidade de adição de ácido clorídrico ao meio após sua incubação. Este meio é predominantemente utilizado na identificação dos estafilococos, mas também pode ser utilizado na detecção da atividade de DNase em outros microrganismos.

3. APRESENTAÇÃO:

APRESENTAÇÃO	CÓDIGO	QTD
ÁGAR DNASE + AZUL DE TOLUIDINA - 90X15MM	4828	PCT 10

4. COMPOSIÇÃO:

TRIPTONA -----	20 g/L
CLORETO DE SÓDIO -----	5 g/L
ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO -----	2 g/L
AZUL DE TOLUIDINA -----	0,0001 g/L
ÁGAR -----	16 g/L

5. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE:

Este produto deve ser armazenado em temperatura de 2 a 8°C, imediatamente após seu recebimento. Para fins de transporte, poderá permanecer em temperatura entre 2 a 25°C.

6. AMOSTRAS:

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 diretamente. São necessárias culturas puras para este teste. Não é recomendado a semeadura direta da amostra neste meio de cultura.

7. MATERIAIS NECESSÁRIOS (não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;
- Alça bacteriológica.

8. PROCEDIMENTO TÉCNICO:

1. Retirar as placas a serem utilizadas do refrigerador e aguardar até que as mesmas alcancem a temperatura ambiente.
2. Inocular o meio com uma alça cheia de cultura proveniente de uma placa de ágar de sangue. Pode ser inoculado um máximo de quatro organismos numa placa.
3. Recomenda-se a inclusão de um controle negativo, por exemplo, o *Staphylococcus epidermidis*, e de um controle 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.

9. RESULTADOS

- DNase positiva: mudança de cor do azul para púrpura rosado ao redor do crescimento.
- DNase negativa: Ausência de alteração de cor ao redor da colônia bacteriana.



10. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- Na presença de aparecimento de quaisquer estruturas, que remetam a possível contaminação, o produto deve ser imediatamente descartado.
- Meios de cultura apresentam grande quantidade de água em sua formulação, deste modo, variações de temperatura devem ocasionar a condensação e, conseqüentemente, o acúmulo de água. O cuidado com o acondicionamento e exposição do meio a estas variações de temperatura são fundamentais para a manutenção da qualidade do produto.
- O cuidado com o acondicionamento e exposição do meio a estas variações de temperatura são fundamentais para a manutenção da qualidade do produto.
- Algumas variações de coloração na colônia, morfologia ou tamanho podem ocorrer, devido a características únicas da cepa analisada.
- Inóculos com excesso de carga bacteriana podem interferir na avaliação de resultados.
- O azul de toluidina pode ser tóxico para alguns cocos gram positivos e, portanto, devem ser usados principalmente com *Enterobacteriaceae*.
- Outros microrganismos, além do *Staphylococcus aureus* e da *Serratia marcescens* podem ser positivos para a DNase. São necessários outros testes para identificar estes microrganismos.
- A utilização de corantes e/ou ácido dextrorribonucleico na formulação pode acarretar leve foto sensibilidade, recomenda-se proteger o produto da incidência direta da luz.
- Meios de cultura apresentam grande quantidade de água em sua formulação, deste modo, variações de temperatura devem ocasionar a condensação e, conseqüentemente, o acúmulo de água na placa.
- Resultados falso negativos podem ocorrer por técnica de coleta inadequada, armazenamento e transporte inadequados da amostra, tempo de incubação insuficiente, utilização da alça não resfriada após a flambagem.
- Resultados falso positivos podem ocorrer por erro na conservação do material, técnica de assepsia inadequada, tempo de incubação excessivo, contaminação cruzada, utilização de produto vencido, contaminado ou em condições inadequadas.

11. CONTROLE DE QUALIDADE

A cada lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo usuário. Testar com as seguintes cepas:

CEPA	RESULTADO
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Positivo para DNase
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC® 12228	Negativo para Dnase
<i>Serratia marcescens</i> ATCC® 13880	Positivo para DNase
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® 33495	Negativo para Dnase

12. PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Não usar após data de validade, produto avariados e/ou com embalagens violadas.
- Antes de descartar o material usado, autoclavar a 121° C por 15 minutos.
- Descartar o produto e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.
- Observar a correlação da versão das instruções de uso e o produto adquirido, conforme disponibilizado no site: www.renylab.ind.br.

13. GARANTIA DA QUALIDADE:

A RenyLab obedece ao disposto na Lei 8.078/90, Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário:

- Que o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento.
- Que os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas.
- Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento.
- Os certificados de análise de cada lote poderão ser obtidos no site www.renylab.ind.br.
- Em caso de dúvidas, problemas de origem técnica, ou necessidade de obtenção dos mesmos em formato impresso entrar em contato com o SAC (Serviço de Atendimento ao Consumidor) através do telefone (32) 3331-4489 ou pelo e-mail sac@renylab.ind.br.
- Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da RenyLab, assim como o envio de documentos em formato não impresso, serão enviados sem custos adicionais ao cliente.

14. DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto: Telefax: (32) 3331-4489 sac@renylab.ind.br

Nº DO LOTE, DATA DE VALIDADE – VIDE RÓTULO

15. TERMO DE GARANTIA

A RenyLab garante a troca deste produto, desde que o mesmo esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado por sua Assessoria Técnica que não houve falhas na execução, manuseio e conservação deste produto. A RenyLab e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho de produtos sob essas condições.

16. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANVISA, Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos.
2. Oplustil, C.P., Zoccoli, C.M., Tobouti, N.R., e Sinto, S.I. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica, Sarvier, São Paulo, 2000.
3. MERCK. Manual de medios de cultivo. Darmstadt, 1990.
4. DiSalvo, J. W. 1958. Deoxyribonuclease and coagulase activity of micrococci. Med. Tech. Bull. U. S. Armed Forces Med. J. 9: 191.
5. 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.
6. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation –cultivation - identification - maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 275 -284. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
7. 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.
8. Schreier, J.B. 1969. Modification of deoxyribonuclease test medium for rapid identification of *Serratia marcescens*. Am. J. Clin. Pathol. 51: 711. 6. Weckman, B. G., and B. W. Catlin. 1957. Deoxyribonuclease activity of micrococci from clinical sources. J. Bacteriol. 73: 747 -753.

17. FABRICADO E DISTRIBUÍDO POR:

RenyLab Química e Farmacêutica Ltda.

Rodovia BR 040 km 697 Caiçaras.

CEP: 36.205-666 - Barbacena - MG – Brasil. Tel.: 55 32 3331-4489 CNPJ: 00.562.583/0001-44.

Site: www.renylab.ind.br

Responsável técnico: Renata C. Vaz de Mello.

CRF-MG: 12126

18. SIMBOLOGIA

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Limite de temperatura (conservar a)