



BD DNase Test Agar

USO PREVISTO

BD DNase Test Agar (agar test desossiribonucleasi) viene usato per la differenziazione dei microrganismi in base all'attività della desossiribonucleasi (DNasi). In microbiologia clinica, questo terreno non è utilizzato come terreno di isolamento su cui strisciare direttamente i campioni clinici in quanto richiede l'uso di colture pure, come quelle precedentemente isolate da campioni clinici.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

Weckman e Catlin nel 1956 hanno dimostrato che esiste un rapporto tra aumentata attività DNasica dello *Staphylococcus aureus* e attività coagulasi-positiva.¹ Secondo i ricercatori, l'attività DNasica poteva essere sfruttata per identificare gli stafilococchi potenzialmente patogeni. DiSalvo ha confermato tali risultati, dimostrando l'esistenza di un preciso rapporto tra coagulasi e attività DNasica degli stafilococchi isolati da campioni clinici.² Jeffries, Holtman e Guse hanno aggiunto il DNA a un terreno agar per analizzare la produzione di DNasi da parte di batteri e funghi.³

Il triptone contenuto in **BD DNase Test Agar** fornisce i nutrienti indispensabili per la crescita. L'equilibrio osmotico è mantenuto dal cloruro di sodio. L'acido desossiribonucleico ad alto peso molecolare permette di individuare la desossiribonucleasi (DNasi) che depolimerizza il DNA. Dopo l'incubazione del terreno con il ceppo in esame, la piastra viene irrorata con acido cloridrico che fa precipitare il DNA polimerizzato, rendendo opaco il terreno. Gli organismi che degradano il DNA formano una zona chiara intorno all'area di crescita.

Il terreno è utilizzato prevalentemente per l'identificazione di stafilococchi ma può essere impiegato per rivelare l'attività DNasica in altri microrganismi.

REAGENTI

BD DNase Test Agar

Formula* per litro di acqua purificata

Triptone Bacto	20,0 g
Cloruro di sodio	5,0
Acido desossiribonucleico	2,0
Agar	15,0
pH 7,3 ± 0,2	

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

PRECAUZIONI

IVD . Solo per uso professionale.

Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazioni cromatiche, essiccamento, fessurazioni o altri segni di deterioramento.

Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C nella confezione originaria fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i ceppi riportati in seguito. Inoculare i ceppi con un'ansata di crescita da una piastra di agar sangue, come **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, lungo una banda. Possono essere inoculati fino a quattro organismi su una stessa piastra. Incubare per 18 – 24 h in atmosfere aerobica. Dopo il periodo di incubazione, immergere la piastra in acido cloridrico 1 N. Lasciare che l'acido penetri nel terreno per 2 min. Sul terreno, le colonie DNasi-positive saranno circondate da zone chiare.

Ceppo	Risultati del test
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	DNasi-positive
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	DNasi-negative
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	DNasi-positive
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 33495	DNasi-negative
Non inoculate	Color ambra da chiaro a medio, forse lievemente opalescente

PROCEDURA

Materiali forniti

BD DNase Test Agar (piastre impilate **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.
Acido cloridrico (HCl) 1 N.

Tipi di campioni

Questo mezzo nutriente è stato allestito per la differenziazione di microrganismi, non come terreno di isolamento su cui strisciare direttamente i campioni clinici. Per questo test sono necessarie colture pure, cioè precedentemente isolate da campioni clinici (v. anche **CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI E LIMITI DELLA PROCEDURA**).

Procedura del test

Inoculare il terreno con un'ansata di crescita da una piastra di agar sangue, come **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, lungo una banda o inoculare in più punti usando un'ansa. Su una stessa piastra possono essere inoculati fino a quattro organismi. Si consiglia di aggiungere un controllo negativo, ad es. *Staphylococcus epidermidis*, e un controllo positivo, ad es. *S. aureus*. Incubare le piastre in aerobiosi per 18 – 24 h a 35 – 37 °C. Se vengono analizzati ceppi di altre specie batteriche o miceti, incubare secondo le rispettive caratteristiche.

Dopo l'incubazione, irrorare le piastre con acido cloridrico (HCl) 1 N in quantità sufficiente. L'acido deve permeare l'intera superficie del terreno per 2 min.

Risultati

Dopo l'applicazione e la penetrazione dell'acido cloridrico nel terreno, gli organismi DNasi-positivi come *Staphylococcus aureus* o *Serratia marcescens* saranno circondati da zone chiare di DNA depolimerizzato, mentre il terreno più distante dalla banda di inoculazione sarà opaco e biancastro a causa del DNA polimerizzato. Gli organismi DNasi-negativi non mostrano alcuno schiarimento intorno alle colonie.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD DNase Test Agar è un terreno standard utilizzato per l'analisi quantitativa della desossiribonucleasi.^{5,6} Il terreno è utilizzato prevalentemente per l'identificazione di *Staphylococcus aureus*, per differenziare quest'ultimo da *S. epidermidis* o altri stafilococchi DNasi-negativi e per la differenziazione di *Serratia* da *Klebsiella/Enterobacter*.³⁻⁵ Anche altri organismi oltre a *Staphylococcus aureus* e *Serratia marcescens* possono essere DNasi-positivi. Per identificare questi o altri organismi, sono necessari ulteriori test.

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 od 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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD DNase Test Agar

N. di cat. 255506

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



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