



BD DNase Test Agar

PRZEZNACZENIE

BD DNase Test Agar stosuje się do różnicowania drobnoustrojów na podstawie aktywności dezoksyrybonukleazy (DNAza). W mikrobiologii klinicznej to podłoże nie jest używane jako podłoże do izolacji, na którym bezpośrednio rozmazuje się materiał, ale wymaga użycia czystych kultur, takich jak wcześniej wyizolowane z próbek klinicznych.

ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.

W 1956 Weckman i Catlin wykazali związek pomiędzy zwiększoną aktywnością DNAzy *Staphylococcus aureus* (gronkowca złocistego) oraz obecnością aktywności koagulazy.¹ Badacze stwierdzili, że aktywność DNAzy można wykorzystać do identyfikacji potencjalnie patogennych gronkowców. DiSalvo potwierdził wyniki ich badań poprzez uzyskanie doskonałej korelacji pomiędzy aktywnością koagulazy i DNAzy gronkowców wyizolowanych z materiałów klinicznych.² Jeffries, Holtman i Guse włączyli DNA w skład podłoża agarowego, w celu zbadania wytwarzania DNAzy przez bakterie i grzyby.³

W **BD DNase Test Agar** trypton zapewnia składniki odżywcze potrzebne do wzrostu. Chlorek sodu utrzymuje równowagę osmotyczną. Kwas dezoksyrybonukleinowy o dużej masie cząsteczkowej umożliwia wykrycie dezoksyrybonukleazy (DNAzy), która powoduje depolimeryzację DNA. Po okresie inkubacji badanych szczepów na podłożu płytkę zalewa się kwasem chlorowodorowym, który strąca spolimeryzowany DNA, powodując, że podłoże staje się nieprzejryste. Drobnoustroje rozkładające DNA wytwarzają przejrzystą strefę wokół obszarów wzrostu.

Opisane podłoże jest stosowane głównie do identyfikacji gronkowców, jednak może być także wykorzystane do wykrywania aktywności DNAzy cechującej inne drobnoustroje.

ODCZYNNIKI

BD DNase Test Agar

Skład* w przeliczeniu na litr wody oczyszczonej

Bacto Trypton	20,0
Chlorek sodu	5,0
Kwas dezoksyrybonukleinowy	2,0
Agar	15,0

pH 7,3 +/- 0,2

*Dostosowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami w celu spełnienia kryteriów wydajności.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych. Ⓢ

Nie należy używać płytek, jeżeli widoczne są na nich ślady skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości.

Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz usuwanie zużytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**.

WARUNKI I OKRES PRZECHOWYWANIA

Dostarczone płytki należy przechowywać w zaciemnionym pomieszczeniu, w temperaturze od 2 do 8°C, w oryginalnych opakowaniach w formie rękawa, aż do momentu bezpośrednio poprzedzającego użycie. Nie zamrażać i nie przegrzewać. Płytki należy wykorzystać do posiewu bakterii przed upływem daty ważności (zobacz etykietę na opakowaniu) i inkubować zgodnie z zalecanymi czasami inkubacji.

Płytki z otwartego zestawu 10 płytek można zużyć w ciągu tygodnia, pod warunkiem przechowywania w czystym miejscu w temperaturze 2 do 8° C.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Należy wykonać posiew reprezentatywnych próbek, używając wymienionych szczepów. Należy wykonać posiew szczepów w postaci pasm używając ezy (pętli bakteriologicznej) z hodowli bakterii uzyskanej na płytce z agarem wzbogaconym krwią, takiej jak **BD Columbia Agar wzbogacony 5% krwią owczą**. Na jednej płytce można wykonać posiew do czterech drobnoustrojów. Należy inkubować przez 18 do 24 godzin w warunkach tlenowych. Po okresie inkubacji należy zalać płytkę 1 N kwasem chlorowodorowym. Przez 2 minuty należy umożliwić kwasowi przenikanie do podłoża. Kolonie wykazujące aktywność DNAzy będą otoczone przejrzystymi strefami widocznymi na podłożu.

Szczep	Wyniki posiewu
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Aktywność DNAzy
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Brak aktywności DNAzy
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	Aktywność DNAzy
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 33495	Brak aktywności DNAzy
Bez posiewu	Podłoże barwy od jasnobursztynowej do bursztynowej, może być lekko opalizujące

PROCEDURA

Dostarczane materiały

BD DNase Test Agar (płytki **Stacker** o rozmiarze 90 mm). Sprawdzane pod względem obecności drobnoustrojów.

Materiały niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki oraz potrzebny sprzęt laboratoryjny.
1 N kwas chlorowodorowy (HCl).

Typy próbek

Opisane podłoże przeznaczone jest do stosowania w celu różnicowania drobnoustrojów i nie jest podłożem do izolacji, na którym bezpośrednio rozmazuje się materiał kliniczny. Czyste hodowle, które wyizolowano z próbek klinicznych, są konieczne do wykonania tego testu (patrz także **CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY**).

Procedura testowa

Należy wykonać posiew w postaci pasm lub oczek (pętlą), używając ezy z hodowli bakterii uzyskanej na płytce z agarem wzbogaconym krwią, takiej jak **BD Columbia Agar wzbogacony 5% krwią owczą**. Na jednej płytce można wykonać posiew do czterech drobnoustrojów. Zaleca się uwzględnienie kontroli ujemnej, np. *Staphylococcus epidermidis*, oraz kontroli dodatniej, np. *S. aureus*. Należy inkubować płytki przez 18 do 24 godzin w warunkach tlenowych w temperaturze 35 do 37°C. W przypadku badania szczepów innych gatunków bakterii lub grzybów należy zastosować okres inkubacji zgodny z dotyczącymi ich wymaganiami.

Po okresie inkubacji należy zalać płytkę wystarczającą ilością 1 N kwasu chlorowodorowego (HCl). Przez 2 minuty należy umożliwić kwasowi przenikanie na całej powierzchni podłoża.

Wyniki

Po zalaniu podłoża kwasem i przeniknięciu kwasu chlorowodorowego do podłoża drobnoustroje wykazujące aktywność DNAzy, takie jak *Staphylococcus aureus* (gronowiec złocisty) lub *Serratia marcescens* będą otoczone przejrzystymi strefami zdepolimeryzowanego DNA. Jednocześnie podłoże oddalone od pasm posiewu będzie nieprzejrzyste i białawe ze względu na obecność spolimeryzowanego DNA. Wokół kolonii drobnoustrojów niewykazujących aktywności DNAzy nie stwierdza się żadnej przejrzystości.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY

BD DNase Test Agar jest standardowym podłożem służącym do wykrywania dezoksyrybonukleazy. Stosuje się je głównie do identyfikacji *Staphylococcus aureus* (gronkowca złocistego) oraz w celu odróżnienia tej bakterii od *S. epidermidis* lub innych gronkowców niewykazujących aktywności DNAzy oraz w celu odróżnienia *Serratia* od *Klebsiella/Enterobacter*.³⁻⁵

Drobnoustroje inne niż *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty) i *Serratia marcescens* mogą cechować się aktywnością DNAzy. Aby zidentyfikować te lub inne drobnoustroje, konieczne jest wykonanie dalszych badań.

PIŚMIENNICTWO

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.

OPAKOWANIE/DOSTĘPNOŚĆ

BD DNase Test Agar

Nr kat. 255506

Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, 20 sztuk

DODATKOWE INFORMACJE

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy 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