

BD DNase Test Agar

NAMJENA

BD DNase Test Agar (Agar za ispitivanje BD DNaze) i koristi se za diferencijaciju mikroorganizama na temelju **deoksiribonukleaze (DNaze)**. Ta se podloga u kliničkoj mikrobiologiji ne upotrebljava kao podloga za izolaciju na koju se izravno razmazuju klinički uzorci, već zahtijeva upotrebu čistih kultura, poput onih prethodno izoliranih iz kliničkih uzoraka.

NAČELA I OBJAŠNJENJE POSTUPKA

Mikrobiološka metoda.

Godine 1956. Weckman i Catlin dokazali su korelaciju između povećane aktivnosti DNaze u *Staphylococcus aureus* i pozitivne aktivnosti koagulaze. ¹ Zaključili su da se aktivnost DNaze može koristiti za identifikaciju potencijalnih patogenih stafilokoka. DiSalvo je potvrdio njihove rezultate dokazivanjem odlične korelacije između koagulaze i aktivnosti DNaze u stafilokokima koji su izolirani iz kliničkih uzoraka. ² Jeffries, Holtman i Guse stavili su DNK u podlogu agar kako bi proučavali proizvodnju DNaze koju proizvode bakterije i gljivice. ³

U **BD DNase Test Agar** tripton osigurava hranjive tvari za rast. Natrijev klorid održava osmotsku ravnotežu. Deoksiribonukleinska kiselina s velikim brojem molekula omogućuje otkrivanje deoksiribonukleaze (DNaze) koja depolimerizira DNK. Po završetku inkubacije podloge sojem za ispitivanje, pločica se natapa klorovodičnom kiselinom koja taloži polimerizirani DNK i na taj način čini podlogu neprozirnom. Organizmi koji razgrađuju DNK proizvode čiste zone oko područja rasta.

Ova se podloga uglavnom koristi u identifikaciji stafilokoka, ali se također može koristiti za otkrivanje aktivnosti DNaze u ostalim mikroorganizmima.

REAGENSI

BD DNase Test Agar

Formula* po litri pročišćene vode

Bacto tripton	20,0
Natrijev klorid	5,0
Deoksiribonukleinska kiselina	2,0
Agar	15,0

pH 7,3 +/- 0,2

*Prilagođeno i/ili dodano prema potrebi kako bi se udovoljilo kriterijima učinkovitosti.

MJERE OPREZA

IVD. Samo za profesionalnu primjenu. 

Ne upotrebljavajte pločice ako su vidljivi znakovi kontaminacije mikrobima, promjena boje, sušenje, pucanje ili ostali znakovi pogoršanja kvalitete.

Pogledajte dokument **OPĆE UPUTE ZA UPOTREBU** o postupcima aseptičnog rukovanja, biološkim opasnostima i odlaganju iskorištenog proizvoda.

ČUVANJE I ROK VALJANOSTI

Po primitku pohranite pločice na tamnom mjestu pri temperaturi od 2 – 8°C u originalnom pakiranju do trenutka upotrebe. Pazite da ne dođe do smrzavanja i pregrijavanja. Pločice se mogu inokulirati do datuma isteka valjanosti (pogledajte naljepnicu na pakiranju) te inkubirati tijekom preporučenih rokova inkubacije.

Pločice iz otvorenih pakiranja po 10 pločica mogu se koristiti tjedan dana ako se čuvaju na čistom mjestu pri temperaturi od 2 – 8°C.

KORISNIČKA KONTROLA KVALITETE

Inokulirajte reprezentativne uzorke dolje navedenim sojevima. Inokulirajte sojeve na način da mikrobiološkom petljom zahvatite rast s pločice krvnog agara poput **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** u traci. Na jednoj pločici moguće je inokulirati do četiri organizma. Inkubirajte od 18 do 24 sata u aerobnoj atmosferi. Po završetku inkubacije, natopite pločicu s 1 N klorovodične kiseline. Ostavite stajati dvije minute kako bi kiselina prodrla u podlogu. Pozitivne kolonije DNaze bit će okružene čistim zonama u podlozi.

Soj	Rezultati ispitivanja
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Pozitivna DNaza
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Negativna DNaza
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	Pozitivna DNaza
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 33495	Negativna DNaza
Nije inokulirano	Svijetložuta do srednježuta, može biti lagano svjetlacava

POSTUPAK

Priloženi materijal

BD DNase Test Agar (pločice **Stacker** od 90 mm). Mikrobiološki kontrolirano.

Materijal koji nije priložen

Podloge za dodatne kulture, reagensi i laboratorijska oprema prema potrebi.

1 N klorovodične kiseline (HCl).

Vrste uzoraka

Ova podloga namijenjena je za korištenje prilikom diferencijacije mikroorganizama i nije podloga za izolaciju na koju se izravno razmazuju klinički uzorci. Za ovo su ispitivanje potrebne čiste kulture (tj. one koje su prethodno izolirane iz kliničkih uzoraka) (pogledajte i **KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA I OGRANIČENJA POSTUPKA**).

Postupak ispitivanja

Inokulirajte podlogu na način da mikrobiološkom petljom zahvatite rast s pločice krvnog agara poput **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** u traci ili inokulirajte na mjestu pomoću petlje. Na jednoj pločici moguće je inokulirati do četiri organizma. Preporučuje se uključiti i negativnu kontrolu, primjerice *Staphylococcus epidermidis*, te pozitivnu kontrolu, primjerice *S. aureus*. Aerobno inkubirajte pločice 18 do 24 sata pri temperaturi od 35 – 37°C. U slučaju da se ispituju sojevi ostalih bakterijskih vrsta ili gljivica, inkubirajte ih u skladu sa zahtjevima. Po završetku inkubacije natopite pločice s dovoljnom količinom 1 N klorovodične kiseline (HCl). Ostavite stajati dvije minute kako bi kiselina prodrla u cijelu podlogu.

Rezultati

Po završetku primjene i prodiranja klorovodične kiseline u podlogu, pozitivni DNaze organizmi poput *Staphylococcus aureus* ili *Serratia marcescens* bit će okruženi čistim zonama depolimerizirane DNK dok će podloga koja je najudaljenija od trake za inokulaciju biti neprozirna i bjelkasta uslijed polimerizirane DNK. Kolonije negativnih organizama DNaze neće pokazivati čiste zone oko kolonija.

RADNA SVOJSTVA I OGRANIČENJA POSTUPKA

BD DNase Test Agar standardna je podloga za utvrđivanje deoksiribonukleaze.^{5,6} Uglavnom se koristi u identifikaciji *Staphylococcus aureus* te njezinu diferencijaciju od *S. epidermidis* ili ostalih DNaza negativnih stafilocoka te za diferencijaciju organizma *Serratia* od organizama *Klebsiella/Enterobacter*.³⁻⁵

Organizmi osim *Staphylococcus aureus* i *Serratia marcescens* mogu biti pozitivni na DNazu. Za identifikaciju ostalih organizama potrebno je provesti dodatna ispitivanja.

REFERENCE

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.

PAKIRANJE/DOSTUPNOST

BD DNase Test Agar

Kat. br. 255506

Pločaste podloge spremne za upotrebu, cpu 20

DODATNE INFORMACIJE

Dodatne informacije zatražite od lokalnog predstavnika tvrtke 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