

DNASE-TEST-AGAR

Zur Detektion der DNase-Aktivität zur Identifikation pathogener Bakterien
8295

Zusammensetzung in g/l:

Caseinpepton	15
Sojapepton	5
Natriumchlorid (NaCl).....	5
Desoxyribonukleinsäure.....	2
Agar	15
pH-Wert.....	7,3 ± 0,2

HERSTELLUNG

42 g des Mediums werden in einem Liter dest. Wasser suspendiert. Man mische gut, erhitze unter häufigem Rühren/Schütteln und lasse eine Minute kochen. Das Medium muss vollständig gelöst sein. Man gebe es in geeignete Behälter und sterilisiere 15 Minuten lang im Autoklaven bei 121 °C. Man lasse auf 45 - 50 °C abkühlen, mische gut und gieße in Petrischalen. Das fertige Medium ist bernstein-farben und sollte bei 8 -15 °C aufbewahrt werden.

EINSATZGEBIET

DNase-Test-Agar wird besonders für die Identifikation pathogener Staphylokokken empfohlen.

Über die Korrelation der Koagulase-positiven Reaktion und der DNase-Aktivität können die Mikroorganismen differenziert werden. Die im Medium enthaltene Desoxyribonukleinsäure ermöglicht den Nachweis von Desoxyribonuklease, welche DNA depolymerisiert.

Der Testorganismus wird in einen Streifen von ca. 2 cm Breite auf die Oberfläche der Platte aufgetragen. Es können 4 bis 5 verschiedene Proben parallel auf einer Platte aufgebracht werden. Bei 35 ± 2 °C wird etwa 18 - 24 Stunden inkubiert, bis ausreichendes Wachstum vorhanden ist. Dann wird ein Tropfen 1 N Salzsäure oder ein paar Tropfen einer 0,1 % Toluidinblau-Lösung auf die Kultur gegeben. Bei manchen Stämmen ist 2 N HCl für eine gute positive Reaktion notwendig. Durch die Reaktion der Salzsäure mit der DNA bildet sich ein milchiger Niederschlag. Wurde während des Wachstums DNase produziert, bildet sich nach ca. 5 Minuten eine klare Zone um die Kultur aus. Diese enthält Nukleotid-Stücke, die nach der Zersetzung der DNA nicht durch die Salzsäure ausgefällt wurden. Wird Toluidin Blau hinzugegeben, bildet sich bei DNase-Aktivität eine pinkfarbene Zone, sonst bleibt die Kultur blau.

Bei sehr anspruchsvollen Mikroorganismen muss Blut in das Medium geben werden. Dann bildet sich bei DNase positiven Kolonien durch HCl ein klar definierter trüber Hof. Das DNase Medium mit Blut sollte nur bei absoluter Notwendigkeit eingesetzt werden. Das Medium ist nicht zur Untersuchung der Hämolys-Reaktion geeignet.

MIKROBIOLOGISCHE TESTS

Die folgenden Ergebnisse wurden erzielt nach Inkubation von Referenzstämmen im angegebenen Medium / Agar bei einer Temperatur von 35 ± 2 °C, ausgewertet nach 18 – 24h.

Mikroorganismen	Wachstum	DNase Test Transparenz
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Gut	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Gut	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Gut	+
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100	Gut	+

Nach:

1.) Blair et al (1967) A new medium, salt mannitol plasma agar, for the isolation of *Staphylococcus aureus*.

Am J Clin Pathol. 47(1):30–39

2.) Disalvo (1958) Desoxyribonuclease and coagulase activity of micrococci. *Med. Techn. Bull.* 9(5):191-196

Product Data Sheet



DNASE TEST AGAR

For detection of DNase activity for identification of pathogenous bacteria
8295

Formulation in g/l:

Casein peptone	15
Soja peptone	5
Sodium chloride (NaCl)	5
Deoxyribonucleic acid	2
Agar	15
pH value.....	7.3 ± 0.2

PREPARATION

Suspend 42 g of the medium in one litre of distilled or deionized water. Mix well and heat with frequent stirring to obtain an even uniform suspension. Dispense and sterilize in the autoclave at 121 °C for 15 minutes. Cool to 45 -50 °C, mix well and pour it into Petri dishes. The prepared medium is amber in colour and should be stored at 8 - 15 °C.

USES

DNase Test Agar is particularly recommended for identification of pathogenic Staphylococci.

The medium maybe used for differentiation of microorganisms via correlation between coagulase positive and DNase activity.

The included Deoxyribonucleic acid enables the detection of deoxyribonuclease that depolymerizes DNA.

The test organism is placed onto the surface of the plate in a heavy band streak (2 cm in width). It is possible to place 4 or 5 different samples simultaneously onto the same plate. Incubate for 18 – 24 hours at 35 ± 2 °C. After sufficient growth, add a drop of 1 N hydrochloric acid or a few drops of 0.1 % toluidine blue solution. In some cases an increased concentration of 2 N of HCl is needed to receive a good positive reaction. Due to the addition of hydrochloric acid, the DNA forms a hazy precipitate in approximately 5 minutes. Growth with DNase production will be surrounded by a clear zone or halo containing fractions of nucleotides from the degradation of DNA, which are not precipitated by the hydrochloric acid. DNase positive cultures will be surrounded by a pink halo through the Toluidine Blue while polymerized DNA will remain blue.

For some fastidious organisms it is necessary to add blood. DNase positive strains will form a well-defined but opaque halo after the addition of hydrochloric acid. The DNase medium with blood should only be used if absolutely necessary and is not fitted for studies of haemolysis reactions.

MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained in the performance of the medium from type cultures after incubation at a temperature of 35 ± 2 °C and observed after 18 - 24 hours.

Microorganisms	Growth	Haemolysis
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Good	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Good	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Good	+
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100	Good	+

Acc. to:

1.) Blair et al (1967) A new medium, salt mannitol plasma agar, for the isolation of *Staphylococcus aureus*.

Am J Clin Pathol. 47(1):30–39

2.) Disalvo (1958) Desoxyribonuclease and coagulase activity of micrococci. *Med. Techn. Bull.* 9(5):191-196

DNASE TEST AGAR

500 g

8295.1

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoenperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe
Phone: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.com • www.carlroth.com

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.

sse 06/2021

