

Агар для определения ДНКазы

DNAse Test Agar

Кат. № 1028
Фасовка 500 г. Срок годности 4 года.
Хранить при температуре 20°C

Среда для идентификации бактерий из клинических образцов на основании активности дезоксирибонуклеазы

ФОРМУЛА В ГРАММАХ НА ЛИТР

Казеиновый пептон	15,0	Соевый пептон	5,0
Хлорид натрия	5,0	Дезоксирибонуклеиновая кислота	2,0
Бактериологический агар	15,0		

Конечная величина pH $7,3 \pm 0,2$ при 25°C

ПРИГОТОВЛЕНИЕ

Развести 42 г среды в 1 литре дистиллированной воды. Тщательно перемешать и нагреть. Часто помешивая, довести до кипения. Кипятить в течение минуты до полного растворения. Стерилизовать 15 минут при 121°C. Охладить до 45–50°C, тщательно перемешать и разлить в чашки Петри. Готовая среда имеет янтарный цвет, слегка опалесцирует, должна храниться при 8–15°C.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Агар для определения ДНКазы применяется для дифференциации микроорганизмов с использованием соотношения между коагулазо-положительной и ДНКазной активностью. Особенно эта дифференциальная среда рекомендуется для идентификации патогенных *стафилококков*.

Казеиновый и соевый пептоны являются источниками питательных веществ, необходимых для роста микроорганизмов: азота, витаминов, минеральных солей и аминокислот. Хлорид натрия поддерживает осмотический баланс. Дезоксирибонуклеиновая кислота дает возможность обнаружения ДНКазы, которая ее деполимеризует.

Посеять тестируемый материал широкополосным штрихом (длиной 2 см) на поверхности чашки. На одну и ту же чашку можно одновременно нанести 4–5 разных образцов. Инкубировать 18–24 часа при $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

Получив колонии, добавить одну каплю 1 N соляной кислоты или несколько капель 0,1% раствора толумидинового синего. Для некоторых штаммов необходимо увеличивать концентрацию HCl до 2 N для получения хорошей положительной реакции.

В присутствии разбавленной соляной кислоты в результате реакции с ДНК в среде культивирования образуется мутный осадок. Колонии микроорганизмов, продуцирующих дезоксирибонуклеазу, будут окружены прозрачной зоной, содержащими фракции растворимых нуклеотидов деградированной ДНК, которые не осаждаются соляной кислотой. Толумидиновый синий формирует окрашенные комплексы с полимеризованной ДНК.

Результаты

В присутствии соляной кислоты:

- ДНКазо-положительный тест:
прозрачная зона, окружающая посевной штрих, причем остальная часть чашки остается матовой. Для формирования положительной реакции нужно приблизительно 5 минут.
- ДНКазо-отрицательный тест:
отсутствие прозрачной зоны вокруг посевного штриха.

В присутствии толуидинового синего:

- ДНКазо-положительный тест:
появление розового ореола вокруг посевного штриха. Остальная часть чашки остается синей.
- ДНКазо-отрицательный тест:
отсутствие розового ореола вокруг посевного штриха.

Для некоторых требовательных организмов может оказаться необходимым добавление крови. При добавлении разбавленной соляной кислоты образуется четкий матовый ореол вокруг ДНКазо-положительных организмов. ДНКазная среда с кровью не должна использоваться при изучении гемолитических реакций, и кровь следует добавлять только в случае крайней необходимости.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ТЕСТ

Следующие результаты были получены при использовании среды на тестовых культурах после инкубации при температуре $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ и наблюдались через 18–24 часа.

Микроорганизмы	Рост	Прозрачность при ДНКазном тесте
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Хороший	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Хороший	–
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Хороший	+
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100	Хороший	+