

## ADN / Gélose

355-5552  
356-4404

### DOMAINE D'APPLICATION

La gélose à l'acide désoxyribonucléique (ADN) est un milieu solide qui permet la recherche de la désoxyribonucléase des bactéries et particulièrement celle des Staphylocoques.

### PRINCIPE

L'ADN, inclus dans le milieu permet de mettre en évidence la désoxyribonucléase.

Les micro-organismes sont ensemencés en stries sur la surface de la gélose et incubés.

Après incubation, la surface de la gélose est ensuite inondée avec de l'acide chlorhydrique ou avec une solution de bleu de toluidine.

En présence d'HCl, l'ADN polymérisé précipite et le milieu devient opaque.

Si les bactéries produisent une désoxyribonucléase en quantité suffisante, un halo clair dû à l'hydrolyse de l'ADN apparaît autour des colonies.

### PRESENTATION

#### • Prêt à l'emploi

100 ml x 6 flacons

code 355-5552

#### • Déshydraté

500 g

code 356-4404

### CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : + 2 - 8°C.
- Déshydraté : + 15 - 25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

### FORMULE THEORIQUE

Peptone	20 g
ADN	2 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	12 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25 °C) final = 7,3 ± 0,2	

### AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) NON FOURNI(S)

- Eau distillée

### MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI (liste non exhaustive)

- Balance
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Flacons de 125 ml avec bouchons autoclavables

- Pipettes stériles (0,1 ml, 1 ml...)
- Boîtes de Pétri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes Pasteur stériles (code 355-0751) ou øse bouclée
- Etaleurs stériles
- Bain-marie avec une précision de ± 1°C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1°C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire.

### PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

#### Toujours agiter avant chaque utilisation

Dissoudre 39 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à complète dissolution. Répartir, puis stériliser à l'autoclave à 121 ± 1°C pendant 15 minutes.

#### Taux de reconstitution : 39 g/l

500 grammes de poudre permettent de réaliser 12,8 litres de milieu

### PROTOCOLE

#### • Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

#### • Ensemencement et incubation

Prélever les colonies suspectes sur milieu de Chapman ou milieu de Baird-Parker (pour *S. aureus*) et les ensemencer à la surface de la boîte en strie unique de 2 cm de longueur ou en plages de 1 cm de diamètre.

Incuber à l'étuve à 37 ± 1°C pendant 24 h.

*NB: Possibilité d'inoculer 4 ou 5 colonies sur la même boîte.*

### LECTURE ET INTERPRETATION

Après incubation, inonder les boîtes avec une solution d'acide chlorhydrique normal ou avec une solution à 0,1 % de bleu de toluidine.

Observer, dans les 5 minutes qui suivent, les aspects suivants:

#### • Révélation à l'acide chlorhydrique :

- Zone claire autour de la strie, le reste de la boîte reste opaque : souche DNase +
- Absence de zone claire autour de la strie : souche DNase -.

• **Révélation au bleu de toluidine :**

- Zone rose autour de la strie, le reste de la boîte reste bleu : souche DNase +
- Absence de zone rose autour de la strie : souche DNase -

*NB : D'une manière générale, les souches de Staphylocoques qui possèdent une coagulase ont également une désoxyribonucléase.*

*Ce milieu convient également pour confirmer un diagnostic de Serratia marcescens ou liquefaciens : entérobactéries DNase +.*

**PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST**

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Aspect des colonies après 24 h d'incubation à 37°C	
	CROISSANCE	DNase
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	+	-
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100	+	+

**CONTROLE QUALITE DU FABRICANT**

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

**MOTS CLES**

ADN / *Staphylococcus aureus* / Staphylocoques / Recherche / Désoxyribonucléase / HCl / Bleu de toluidine / Milieu.

**BIBLIOGRAPHIE**

- **SMITH P.B., HANCOCK G.A. and RHODEN D.L. (1969)** Appl. Microbiol., **18** : 991-994.
- **BLAIR E.B, EMERSON J.J and TULL A.H. (1967)** : Am. J. Clin. Path. **47** : 30-39.