

Egalement nommé

Gélose à l'acide désoxyribonucléique

Principe

Milieu de culture solide pour la détermination de l'activité désoxyribonucléase des micro-organismes, en particulier les staphylocoques et *Serratia* spp.

Formule * en g/L

Tryptose.....	20.00
ADN	2.00
Chlorure de sodium.....	5.00
Agar.....	15.00

pH final 7,3 ±0,2 à 25 °C

*Ajuster et/ou compléter au besoin pour répondre aux critères de performance

Préparation

Suspendre 42 g de poudre dans 1 L d'eau distillée et porter à ébullition en remuant constamment. Répartir dans des récipients adaptés et stériliser à l'autoclave à 121 ° C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 50 ° C et verser dans les boîtes de Pétri.

Description

Jeffries, Holtman et Guse (1957) ont incorporé l'ADN dans un milieu général avec de la gélose pour étudier la production d'ADNase bactérienne et fongique. Les micro-organismes qui produisent l'ADNase clivent l'ADN, le réduisant en fragments nucléotidiques. Cette réaction est observée par l'apparition d'une zone claire entourant la croissance, le reste de la plaque reste trouble. L'acide chlorhydrique réagit avec l'ADN produisant un précipité blanc qui rend le milieu trouble, et il ne réagit pas avec les fragments nucléotidiques (zones claires).

DiSalvo (1958) a observé qu'il existe une corrélation entre la production de coagulase et l'activité ADNse, ainsi le milieu ADNse peut être utilisé comme test de laboratoire pour diagnostiquer les staphylocoques pathogènes.

La fermentation du mannitol peut être déterminée simultanément si 10 g de mannitol et 0,025 g de Rouge phénol sont ajoutés à 1 L d'ADNse Agar, avant stérilisation. Des résultats positifs dans les deux tests détermineront avec plus de certitude que le micro-organisme est un *Staphylococcus aureus* pathogène. Ce milieu est également utile pour identifier *Serratia marcescens* dans les échantillons cliniques, car c'est un bon producteur d'ADNse. Smith et coll. (1969) ont modifié le milieu en ajoutant du bleu de toluidine et du violet Cristal, et ont déclaré que des bacilles à Gram négatif produisant des ADNse qui poussaient sur ce milieu pouvaient être décrits comme des espèces *Serratia*.

Utilisation

Les boîtes de gélose ADN sont inoculées avec le microorganisme à étudier en striant une épaisse ligne d'inoculum sur la plaque ou en les spottant sur la plaque. Les plaques sont incubées à 35-37 ° C pendant une période de 18 à 24 heures.

Pour lire, noyer les plaques avec de l'acide chlorhydrique 1N et observer s'il y a des zones claires ou transparentes entourant la strie. Si la plaque devient totalement trouble sans aucune zone claire, alors le test est négatif; cependant, si des zones claires se développent autour de la croissance, le test est décrit comme positif.

Contrôle qualité

Température d'incubation: 35-37 °C

Temps d'incubation: 18-24 h

Inoculum: Isolation des stries. Pour la lecture, submerger les boîtes avec 1N CIH.

Micro-organismes
Croissance
Remarques

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Bonne	DNase (-)
<i>Serratia marcescens</i> ATCC® 13880	Bonne	DNase (+)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 6538	Bonne	DNase (+)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Bonne	DNase (+)
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Bonne	DNase (-)

Références

- DISALVO, J.W. (1958) Desoxyribonuclease and Coagulase Activity of Micrococci. Med. Tech. Bull. U.S. Armed Forces. Med. J. 9:191.
- JEFFRIES, C.D., D.F. HOLTMAN & D.G. GUSE (1957) Rapid Method for Determining the Activity of Microorganisms on Nucleic Acids. J. Bacteriol. 73:590-591.
- SMITH, P.B., G.A. HANCOCK & D.L. RHODEN (1969) Improved medium for detecting deoxyribonuclease-producing bacteria. Appl. Microbiol. 18:991-993.

Conservation

Pour usage professionnel uniquement. À conserver fermé, loin de la lumière, dans un endroit frais et sec (+4°C à 30°C).