

BD DNase Test Agar

APPLICATION

La **BD DNase Test Agar** (gélose pour épreuve DNase) est utilisée pour la différenciation des microorganismes en fonction de leur activité désoxyribonucléase (DNase). En microbiologie clinique, ce milieu n'est pas utilisé pour servir de milieu d'isolement sur lequel les échantillons sont striés directement mais nécessite l'utilisation de cultures pures telles que celles préalablement isolées à partir d'échantillons cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

En 1956, Weckman et Catlin ont mis en évidence une corrélation entre l'activité désoxyribonucléase accrue des *Staphylococcus aureus* et une activité à coagulase positive.¹ Ils ont proposé d'utiliser l'activité désoxyribonucléase pour identifier les staphylocoques potentiellement pathogènes. DiSalvo a confirmé leurs résultats en obtenant un excellent coefficient de corrélation entre l'activité coagulase et l'activité DNase de staphylocoques isolés à partir d'échantillons cliniques.² Jeffries, Holtman et Guse ont incorporé de l'ADN dans un milieu gélosé afin d'étudier la production de DNase par les bactéries et les champignons.³

Dans la **BD DNase Test Agar**, la tryptone apporte les substances nutritives nécessaires. Le chlorure de sodium assure l'équilibre osmotique du milieu. L'acide désoxyribonucléique de poids moléculaire élevé permet de détecter la désoxyribonucléase (DNase) qui dépolymérise l'ADN.

Une fois le milieu incubé avec les souches de test, la boîte de Pétri est recouverte d'acide chlorhydrique, qui précipite l'ADN polymérisé et opacifie le milieu. Les microorganismes qui dégradent l'ADN produisent une zone claire autour de la zone de croissance.

Ce milieu est principalement utilisé pour l'identification des staphylocoques mais peut également l'être pour détecter l'activité DNase chez d'autres microorganismes.

REACTIFS

BD DNase Test Agar

Formule* par litre d'eau purifiée

Tryptone Bacto	20,0
Chlorure de sodium	5,0
Acide désoxyribonucléique	2,0
Gélose	15,0
pH 7,3 ± 0,2	

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement. 

Ne pas utiliser de boîte de Pétri présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.

Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations concernant les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Les boîtes peuvent êtreensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette de l'emballage), et incubées pendant les durées recommandées.

Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer des échantillons représentatifs avec les souches suivantes. Ensemencer une bande avec une pleine anse de souches issue d'une boîte de gélose au sang telle qu'une **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**. Il est possible d'ensemencer jusqu'à quatre types de microorganismes sur une même boîte de Pétri. Incuber pendant 18 à 24 h en atmosphère aérobie. Après l'incubation, recouvrir la boîte de Pétri dans une solution à 1 N d'acide chlorhydrique. Laisser l'acide pénétrer dans le milieu pendant 2 min. Les colonies positives à la désoxyribonucléase seront cernées de zones plus claires.

Souche	Résultats
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Positifs à la DNase
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Négatifs à la DNase
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	Positifs à la DNase
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 33495	Négatifs à la DNase
Sans ensemencement	Légèrement à moyennement ambré, légère opalescence possible

METHODE

Matériaux fournis

BD DNase Test Agar (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

Milieus de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.
1 N d'acide chlorhydrique (HCl).

Types d'échantillons

Ce milieu est conçu pour la différenciation de microorganismes. Il ne s'agit pas d'un milieu d'isolement sur lequel les échantillons cliniques sont striés directement.

Ce test nécessite l'utilisation de cultures pures (c'est-à-dire isolées à partir d'échantillons cliniques) (voir également la rubrique **CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCÉDURE**).

Mode opératoire du test

Ensemencer le milieu avec une pleine anse de croissance issue d'une boîte de gélose au sang telle qu'une **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** dans une bande, ou déposer la croissance en un point, à l'aide d'un ensemenceur à anse. Il est possible d'ensemencer jusqu'à quatre types de microorganismes sur une même boîte de Pétri. Il est recommandé d'inclure un témoin négatif, p. ex. *Staphylococcus epidermidis*, ainsi qu'un témoin positif, p. ex. *S. aureus*. Incuber les boîtes de Pétri en conditions aérobies pendant 18 à 24 h entre 35 et 37 °C. Si des souches d'autres espèces de bactéries ou de champignons sont testées, ensemencer conformément aux conditions requises.

Après incubation, recouvrir les boîtes de Pétri avec une quantité suffisante de solution d'acide chlorhydrique (HCl) 1 N. Attendre 2 min afin de permettre à l'acide de pénétrer toute la surface du milieu.

Résultats

Une fois que l'acide a été appliqué et laissé pénétrer dans le milieu, les microorganismes positifs à la DNase, comme *Staphylococcus aureus* ou *Serratia marcescens*, sont entourés de zones claires d'ADN dépolymérisé, tandis que les parties du milieu plus éloignées de la bande d'ensemencement sont opaques et blanchâtres, sous l'effet de l'ADN polymérisé. Les colonies de microorganismes négatifs à la DNase ne présentent pas de zones plus claires en périphérie des colonies.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD DNase Test Agar** est un milieu standard pour la détermination de la désoxyribonucléase.^{5,6} Il est principalement utilisé pour identifier *Staphylococcus aureus* et le différencier de *S. epidermidis* ou d'autres staphylocoques négatifs à la DNase, et pour différencier *Serratia* de *Klebsiella/Enterobacter*.³⁻⁵

Des microorganismes autres que *Staphylococcus aureus* et *Serratia marcescens* peuvent se révéler positifs à la DNase. Des tests supplémentaires sont nécessaires pour l'identification de ces microorganismes ou d'autres.

REFERENCES

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 od 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.

CONDITIONNEMENT

BD DNase Test Agar

N° réf. 255506

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités par carton

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de 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