

PRINCIPE :

La thermonucléase est une DNase qui reste active après un chauffage de 15 minutes à 100°C. Comme toutes les DNases, la thermonucléase catalyse l'hydrolyse de l'ADN selon la réaction :



Seul *Staphylococcus aureus* possède cette thermonucléase.

COMPOSITION ET ROLE DES CONSTITUANTS :

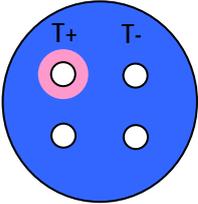
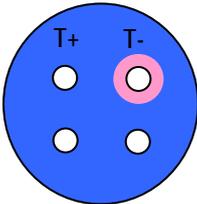
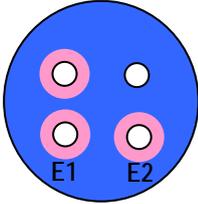
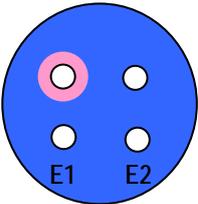
Constituant	Rôle
ADN (0,3g)	Substrat de l'enzyme
Bleu de toluidine (3mL)	Révélateur de l'utilisation de l'ADN
Chlorure de calcium (1mL)	Source de minéraux
Chlorure de sodium (10g)	Source de minéraux
Agar	Agent gélifiant
Tampon TRIS pH 9 qsp 1 L	Solvant du milieu

ENSEMENCEMENT:

A partir d'un bouillon cœur-cerveille ensemencé avec une colonie suspecte et incubé 24h à 37°C :

- Chauffer pendant 15 min à 100 °C le bouillon de 24h. Laisser refroidir
- Creuser 4 puits (à l'aide d'un emporte-pièce) dans une gélose à l'ADN au bleu de toluidine
 - Remplir un puit « témoin + » avec un BCC + *Staphylococcus aureus* bouilli
 - Remplir un puit « témoin - » avec un BCC + *Staphylococcus epidermidis* bouilli ou un BCC stérile
 - Remplir 2 puits « tests » avec le BCC bouilli à tester
- Incuber pendant 4 h à 37°C

ENSEMENCEMENT:

	TEMOIN		TEST	
Observation				
Interprétation	Hydrolyse de l'ADN dans le puit « témoin + » et absence d'hydrolyse de l'ADN dans le puit « témoin - »	Hydrolyse de l'ADN dans le puit « témoin - » et/ou absence d'hydrolyse dans le puit « témoin + »	Hydrolyse de l'ADN dans les puits « test »	Absence d'hydrolyse de l'ADN dans les puits « test »
Conclusion	Résultat du test interprétable	Recommencer le test	Thermonucléase+	Thermonucléase-

