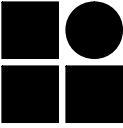


<p>کد: W- LM01/00</p> <p>صفحه 1 از 3</p>	<p style="text-align: center;">راهنمای انجام آزمایش</p> <p style="text-align: center;">سیتوکروم اکسیداز</p>	 <p style="text-align: center;">آزمایشگاه مرجع سلامت</p>
--	---	---

۱- هدف:

- جداسازی انتروباکتریاسه ها (که همه اکسیداز منفی هستند) از باکتری هایی مثل ویبریوناسه ، آئروموناس، سودوموناس، نیسریا، کمپیلوباکتر و پاستورلا (که همه اکسیداز مثبت اند)
- شناسایی ارگانیزم هایی که فاقد آنزیم سیتوکروم اکسیدازند یا بی هوازی اجباری می باشند.

۲- اساس آزمایش:

سیتوکروم ها، هوموپروتئین های حاوی آهن می باشند که در زنجیره تنفسی عامل انتقال الکترون (هیدروژن) به اکسیژن هستند. در این تست از یک معرف رنگی استفاده می شود که بجای اکسیژن به عنوان پذیرنده نهایی الکترون جایگزین می گردد.

۳- نمونه اولیه :

- کشت ۱۸-۲۴ ساعته از ارگانیزم مورد نظر از محیط های کشت مناسب

۴- مواد و ابزار لازم :

- محلول ۱٪ تترامتیل پارافنیلن دی آمین دی هیدروکلراید در آب مقطر استریل یا دیسک تجاری آماده اکسیداز
- کاغذ صافی
- اپلیکاتور چوبی یا لوپ پلاستیکی یا پلاتینیوم

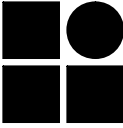
۵- مراحل انجام کار:

الف - روش مستقیم روی پلیت:

دو تا سه قطره از معرف تازه تهیه شده را مستقیماً روی کلتی های باکتری بر روی پلیت اضافه می کنیم. کلتی های باکتری های اکسیداز مثبت بلافاصله به رنگ بنفش تغییر رنگ می دهند.

ب - روش غیر مستقیم:

- از پودر معرف ، محلول ۱٪ در آب مقطر تهیه کنید و ml ۱۰ از محلول را در مقادیر ml ۱ تقسیم کرده در برودت ۲۰- درجه در فریزر نگهداری نمایید. موقع مصرف یک ویال از فریزر خارج کرده ، پس از ذوب شدن ، به تعداد مورد نیاز کاغذ صافی را به معرف

کد: W- LM01/00 صفحه 2 از 3	<h1 style="text-align: center;">راهنمای انجام آزمایش</h1> <h2 style="text-align: center;">سیتوکروم اکسیداز</h2>	 <p style="text-align: center;">آزمایشگاه مرجع سلامت</p>
--------------------------------------	---	---

آغشته کرده در پلیت تمیز قرار دهید. البته می توان از دیسک های آماده تجاری نیز استفاده نمود .

- مقداری از کلنی باکتری را روی کاغذ حاوی معرف می کشیم. (توصیه می شود که از مشتق ترامتیل پارافنیلن دی آمین بجای مشتقات دی متیل استفاده شود، زیرا این معرف برای ذخیره کردن پایدارتر و برای تعیین سیتوکروم اکسیداز حساس تر است و نسبت به مشتق دی متیل، کمتر سمی می باشد.)

- در باکتری های اکسیداز مثبت در محل تلقیح کلنی در عرض ۱۰ ثانیه رنگ آبی تیره (مایل به بنفش) ایجاد می شود (زمان بسیار مهم است). اما باکتری های اکسیداز منفی در عرض ۱۰ ثانیه بیرنگ باقی می مانند. باکتری هایی که در مدت ۶۰-۱۰ ثانیه رنگ بنفش ایجاد می کنند، نیاز به انجام تست های بیشتری دارند، زیرا احتمالاً متعلق به خانواده آنتروباکتریاسه نمی باشند.

۶- برنامه QC:

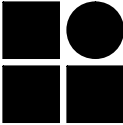
کنترل کیفی باید برای هر سری جدید و هر زمان که این تست انجام می شود، صورت گیرد.

کنترل مثبت: *Pseudomonas aeruginosa*

کنترل منفی: *E.Coli*

۷-تداخلات:

- نباید از کشت کهنه (بیشتر از ۲۴ ساعت) استفاده شود.
- محلول ۱٪ اکسیداز باید بصورت تازه و روزانه تهیه شود مگر اینکه محلول ساخته شده در فریزر نگهداری گردد.
- نباید از محیط های کشت رنگی مثل مک کانکی استفاده شود زیرا نتیجه مثبت کاذب می دهد.
- برای انتقال باکتری روی کاغذ صافی یا دیسک اکسیداز نباید از لوپ فلزی مثل استیل یا نیکروم استفاده شود، زیرا بر اثر سوزاندن لوپ، مقدار کمی اکسید آهن بر روی آن ایجاد می شود، که ممکن است نتیجه مثبت کاذب دهد.

<p>کد: W- LM01/00</p> <p>صفحه 3 از 3</p>	<p>راهنمای انجام آزمایش</p> <p>سیتوکروم اکسیداز</p>	 <p>آزمایشگاه مرجع سلامت</p>
--	---	---

۸- ایمنی

بدلیل ایجاد تحریک ، از تماس معرف با پوست و چشم خودداری نمایید . در صورت تماس اتفاقی پوست یا چشم را با مقادیر زیادی آب حداقل به مدت ۱۵ دقیقه شستشو دهید .