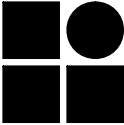


کد: W- LM06/00  صفحه 1 از 2	<h1>راهنمای انجام آزمایش</h1> <h2>اوره آز</h2>	 <p>آزمایشگاه مرجع سلامت</p>
--------------------------------------	--	---

### ۱- هدف:

افتراق انتروباکتریاسه ها، افتراق بین گونه های بروسلا، شناسایی گونه های مهمی نظیر کورینه باکتریوم اوره آز لیتیکوم، هلیکوباکترپیلوری، تشخیص خمرهای کپسولدار و به عنوان یک تست اضافی برای تشخیص بعضی کوکوباسیل های گرم منفی

### ۲- اساس آزمایش:

اوره آز آنزیمی است که بعضی از ارگانیسم ها آن را تولید کرده و اوره را به دی اکسید کربن، آب و آمونیاک هیدرولیز می کنند. آمونیاک در محلول به کربنات آمونیوم تبدیل شده و باعث قلیایی شدن محیط و بالا رفتن pH می شود.

### ۳- نمونه اولیه:

کشت ۲۴ - ۱۸ ساعته از ارگانیسم مورد نظر

### ۴- مواد و تجهیزات مورد نیاز:

محیط کشت مایع نظیر Stuart's urea broth یا محیط کشت آگار مانند Christensen's urea Agar

### ۵- مراحل انجام کار:

۱-۵) محیط کشت Broth یا سطح شیبدار محیط کشت جامد را با مقدار نسبتاً زیادی از کلنی های ایزوله تلقیح می کنیم.

۲-۵) هر دو لوله محیط کشت را با در پیچ شل به مدت ۴۸ ساعت تا هفت روز در  $35^{\circ}\text{C}$  انکوبه می نماییم. ارگانیسم هایی که اوره را سریع هیدرولیز می کنند، در عرض ۲-۱ ساعت واکنش مثبت می دهند و سویه هایی که کمتر فعالند، به ۳ روز یا بیشتر انکوباسیون نیاز دارند.

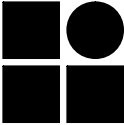
۳-۵) واکنش ها بدین صورتند:

a. اوره Broth:

- ایجاد رنگ قرمز نشان دهنده واکنش قلیایی و هیدرولیز اوره می باشد.

b. اوره آگار:

- سوش های اوره آز مثبت سریع: ایجاد رنگ قرمز در تمام محیط

کد: W- LM06/00  صفحه 2 از 2	<h1 style="text-align: center;">راهنمای انجام آزمایش</h1> <h2 style="text-align: center;">اوره آز</h2>	 <p style="text-align: center;">آزمایشگاه مرجع سلامت</p>
--------------------------------------	--	---

- سوش های اوره آز مثبت ضعیف : ایجاد رنگ قرمز ابتدا فقط در سطح و بتدریج در عمق لوله
- سوش های اوره آز منفي : محیط کشت به رنگ اولیه خود باقی می ماند.

### ۶- برنامه QC :

- هر batch جدید از محیط کشت باید با ارگانیسم های کنترل مثبت و منفي تست شود.
- سوش کنترل مثبت: Proteus sp
- سوش کنترل مثبت ضعیف: Klebsiella sp
- سوش کنترل منفي: E. coli

### توجه :

باید به اهمیت تفاوت محیط کشت اوره Broth و اوره آگار توجه شود. از آنجا که اوره Broth حاوی مقدار زیادی از بافر نمک های فسفات با  $pH = 6/8$  می باشد برای از بین بردن اثر بافر باید مقدار نسبتاً زیادی آمونیاک توسط باکتری ایجاد شود تا  $pH$  محیط به بالای ۸ برسد و تغییر رنگ ایجاد شود.

محیط اوره آگار حاوی مقدار کمتری بافر نسبت به اوره Broth می باشد و پپتون و گلوکز دارد. این محیط غنی بوده و رشد بسیاری از باکتری های را که نمی توانند در اوره برات رشد کنند، افزایش می دهد. از طرفی کم بودن مقدار بافر در اوره آگار اجازه می دهد که مقدار کم آمونیاک حاصل از هیدرولیز اوره توسط باکتری های اوره آز ضعیف، مشخص شود. باکتری های که اوره آز کمی ایجاد می کنند مثل گونه های از کلبسیلا و آنتروباکتر و بروسلا در محیط اوره آگار، تست می شوند.