کد: W-LM06/00	راهنماي انجام آزمايش	آزمايشگاه مرجع سلامت
صفحه 1 از 2	اوره آز	

۱- هدف:
افتراق انتروباکتریاسه ها، افتراق بین گونه هاي بروسلا، شناسایي گونه هاي مهمي نظیر کورینه باکتریوم اوره آ لیتیکوم ، هلیکوباکترپیلوري ، تشخیص مخمرهاي کپسولدار و به عنوان یك تست اضافي براي تشخیص بعضي کوکوباسیل هاي گرم منفي

۲- اساس آزمایش:
اوره آز آنزیمي است که بعضي از ارگانیسم ها آن را تولید کرده و اوره را به دي اکسید کربن، آب و آمونیاك هیدرولیز مي کنند. آمونیاك در محلول به کربنات آمونیوم تبدیل شده و باعث قلیایي شدن محیط و بالا رفتن pH مي شود.

۳- نمونه اولیه:
کشت ۲٤ – ۱۸ ساعته از ارگانیسم مورد نظر

٤- مواد و تجهیزات مورد نیاز:
محیط کشت مایع نظیر Stuart's urea broth یا محیط کشت آگار مانند Christensen's urea Agar

٥- مراحل انجام کار:
٥-۱) محیط کشت Broth یا سطح شیبدار محیط کشت جامد را با مقدار نسبتاً زیادي از کلني هاي ایزوله تلقیح مي کنیم.
٥-۲) هر دو لوله محیط کشت را با در پیچ شل به مدت ٤۸ ساعت تا هفت روز در ^{0}C ۳٥ انکَوبه مي نماییم. ارگانیسم هایي که اوره را سریع هیدرولیز مي کنند، در عرض ۲-۱ ساعت واکنش مثبت مي دهند و سویه هایي که کمتر فعالند، به ۳ روز یا بیشتر انکوباسیون نیاز دارند.
٥-۳) واکنش ها بدین صورتند :
a. **اوره Broth :**
- ایجاد رنگ قرمز نشان دهنده واکنش قلیایي و هیدرولیز اوره مي باشد.
b. **اوره آگار:**
- سوش هاي اوره آز مثبت سریع : ایجاد رنگ قرمز در تمام محیط

- سوش هاي اوره آز مثبت ضعيف : ايجاد رنگ قرمز ابتدا فقط در سطح و بتدريج در عمق لوله
- سوش هاي اوره آز منفي : محيط كشت به رنگ اوليه خود باقي مي ماند.

٦- برنامه QC :

هر batch جديد از محيط كشت بايد با ارگانيسم هاي كنترل مثبت و منفي تست شود.

سوش كنترل مثبت: Proteus sp

سوش كنترل مثبت ضعيف: Klebsiella sp

سوش كنترل منفي: E. coli

توجه :

بايد به اهميت تفاوت محيط كشت اوره Broth و اوره آگار توجه شود. از آنجا كه اوره Broth حاوي مقدار زيادي از بافر نمك هاي فسفات با pH = ٦/٨ مي باشد براى از بين بردن اثر بافر بايد مقدار نسبتا زيادى آمونياك توسط باكترى ايجاد شود تا pH محيط به بالاي ٨ برسد و تغيير رنگ ايجاد شود.

محيط اوره آگار حاوي مقدار كمتري بافر نسبت به اوره Broth مي باشد و پپتون و گلوكز دارد. اين محيط غني بوده و رشد بسياري از باكتري هايي را كه نمي توانند در اوره براث رشد كنند، افزايش مي دهد. از طرفي كم بودن مقدار بافر در اوره آگار اجازه مي دهد كه مقدار كم آمونياك حاصل از هيدروليز اوره توسط باكتري هاي اوره آز ضعيف، مشخص شود. باكتري هايي كه اوره آز كمي ايجاد مي كنند مثل گونه هايي از كلبسيلا و آنتروباكتر و بروسلا در محيط اوره آگار، تست مي شوند.