

<p>کد: W- LM03/00</p> <p>صفحه 1 از 2</p>	<p style="text-align: center;">راهنمای انجام آزمایش</p> <p style="text-align: center;">متیل رد Methyl Red Test</p>	 <p style="text-align: center;">آزمایشگاه مرجع سلامت</p>
----------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

۱- هدف :

تشخیص و تمایز اعضای خانواده آنتروباکتریاسه براساس میزان فرآورده نهائی ناشی از متابولیسم گلوکز و تولید اسید از طریق مسیر Mixed Acid Fermentation

۲- اساس آزمایش :

معرف متیل رد یک اندیکاتور pH است که در محدوده بین pH 6 (زرد) و pH 4.4 (قرمز) واکنش نشان می دهد. اسیدیته ای که در آن معرف متیل رد قادر است تا تغییر رنگ ایجاد نماید بسیار کمتر از سایر معرفهای بیولوژیکی بوده و تنها در مجاورت اسیدیته بالا، در مسیر تخمیر چند اسید از گلوکز می تواند ایجاد واکنش نماید. برخی از آنتروباکتریاسه ها فقط در ابتدای دوره انکوباسیون تولید اسید مینمایند ولی تنها باکتری هایی که قادر باشند برای مدت طولانی طی انکوباسیون ۲۲-۴۸ ساعت pH محیط را در حد پایین حفظ نمایند دارای واکنش مثبت میباشند.

۳- نمونه اولیه :

کشت خالص و تازه از باکتری مورد نظر (کشت ۲۴ - ۱۸ ساعته)

۴- مواد و معرفها :

- MR/VP Broth با pH نهایی ۶/۹
- معرف متیل رد که عبارت است از 0.1 g پودر متیل رد در 300ml الکل اتیلیک ۹۵% و 200ml آب مقطر
توجه : ابتدا پودر متیل رد را باید در الکل حل نمود و سپس آب به آن اضافه کرد. محلول تهیه شده را باید در شیشه تیره و در یخچال نگهداری نمود. جهت مصرف روزانه و هفتگی آنرا در لوله های در پیچدار به حجم ۲/۵ میلی لیتر ریخته و در یخچال بگذارید.

۴- روش انجام آزمایش :

- ابتدا چند کپی از کشت خالص باکتری را در لوله حاوی ۲/۵ میلی لیتر MR/VP Broth تلقیح نمایید.
- 48 - 72 ساعت (حداکثر ۵ روز) در 35°C انکوبه نمائید.

کد: W- LM03/00 صفحه 2 از 2	<h1>راهنمای انجام آزمایش</h1> <h2>متیل رد</h2> <h3>Methyl Red Test</h3>	 <p>آزمایشگاه مرجع سلامت</p>
--------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

- سپس ۵ قطره از معرف متیل رد را به Broth اضافه نمائید و نتیجه واکنش را براساس تغییر رنگ حاصله بررسی کنید.

واکنش منفی واکنش مثبت در نتیجه	ایجاد رنگ زرد ایجاد رنگ قرمز تولید اسید زیاد و ایجاد $pH < 4.5$ است. واکنش منفی	}
-----------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------	---

جهت کوتاه تر کردن زمان نتیجه گیری می توان حدود ۰/۵ میلی لیتر MR/VP Broth را در لوله ای ریخته و مقدار نسبتاً زیادی از میکروب را در آن تلقیح نمود و پس از انکوباسیون ۱۸-۲۴ ساعته در $35^{\circ}C$ ، ۱-۲ قطره معرف متیل رد را به آن اضافه کرده، واکنش را مشاهده نمود.

۵- برنامه کنترل کیفی:

کنترل مثبت: Ecoli ATCC 25922

کنترل منفی: انتروباکتر آئروژینوزا 13048 ، Klebsiella

Pneumoniae ATCC 13883

توجه : در هر روز کاری، قبل از انجام آزمایش، کنترل کیفی باید با سویه های مثبت و منفی انجام شود.