

# Oxidase Reagent

IVD

## Тест на оксидазу

Определение цитохромоксидазной активности

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Тест на оксидазу предназначен для определения цитохромоксидазной активности бактерий.

Цитохромоксидазной активностью обладают бактерии рода *Neisseria* и большинство видов рода *Pseudomonas*. Тест используется для дифференциации грамотрицательных палочек (1, 2).

### ПРИНЦИП

В присутствии атмосферного кислорода и цитохрома С оксидаза окисляет фенилендиамин до индофенола – соединения, имеющего пурпурную окраску.

В состав реактива входит восстановитель (аскорбиновая кислота) для предотвращения автоокисления и стабилизации (6).

Тест основан на методе Ковача (3).

### СОСТАВ НАБОРА

**REF 55 635 Реактив готов к использованию**

Состав набора:

- 50 ампул по 0.75 мл реактива
- 1 приспособление для вскрытия ампул
- + 1 инструкция

### СОСТАВ

Расчетный состав.

Реактив можно модифицировать в соответствии с целями исследования.

N,N,N,N-тетраметил-1,4-фенилендиамин .....	10.0 g
Аскорбиновая кислота .....	2.0 g
Deionized water .....	1L

### НЕОБХОДИМЫЕ РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

- Петля (платиновая или пластиковая).
- Чистые диски (диаметр 6 мм) (Ref. 54 991).

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для диагностики *in vitro*.
- Только для профессионального использования.
- При работе с образцами и микробными культурами необходимо соблюдать стерильность в соответствии с "NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline* – последняя версия". За дополнительной информацией обращайтесь к "Biosafety in Microbiological and Biochemical Laboratories, CDC/NIH, последнее издание", а также нормативам, принятым в Вашей стране.
- Не используйте реактивы по истечении срока годности.
- Реактив непригоден к работе, если:
  - цвет реактива изменился (реактив должен быть бесцветным или бледно-желтым);
  - упаковка повреждена;
  - ампулы с реактивом повреждены.
- При работе следуйте инструкции. Любые изменения описанной процедуры могут привести к искажению результатов.

- При интерпретации результатов необходимо принимать во внимание анамнестические данные пациента, морфологию колоний, данные микроскопии, а также результаты других тестов.

### ХРАНЕНИЕ

- Хранить в оригинальной упаковке при 18°C-25°C до истечения срока годности.
- Не замораживать.
- Беречь от света.
- Реактив быстро окисляется и теряет активность. После вскрытия ампулы следует использовать в течение 12 часов. Остатки реактива следует утилизировать.

### ОБРАЗЦЫ

Чистая культура микроорганизма с твердой среды. Используйте молодые культуры (18-24 часа).

### ПРИМЕНЕНИЕ

#### Чтобы открыть ампулу:

1. Поместите ампулу в приспособление для вскрытия ампул.
2. Слегка постучите по дну ампулы кончиками пальцев, чтобы удалить пузырьки воздуха.
3. Придерживая ампулу и приспособление для вскрытия ампул за середину, осторожно нажмите, чтобы вскрыть ампулу.

#### Тест:

1. Нанесите одну каплю реактива на чистый диск (диаметр 6 мм) (Ref. 54 991).
2. Разотрите по поверхности диска изолированную колонию исследуемого организма.

### УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Положительный результат: развитие фиолетовой или пурпурной окраски в течение 10-30 секунд.
- Отрицательный результат: отсутствие окраски или развитие окраски по прошествии 30 секунд.

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

#### Протокол:

Для проверки активности реактива рекомендуется использовать следующие штаммы (культивирование осуществляется на трипказо-соевом агаре):

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853
- *Escherichia coli* ATCC® 25922.

#### Результаты:

Штамм	Результат
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Положительный: развитие фиолетовой окраски
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Отрицательный: нет развития окраски

#### Примечание:

Контроль качества следует проводить в соответствии с действующими нормами и положениями (частота, количество штаммов, температура инкубации...).

**ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА**

- Не следует проводить тест с культурой, снятой с агаров EMB, SHARPMAN 2 или старше 48 часов.
- Не следует проводить тест с окрашенными колониями (фиолетовыми, розовыми, зелеными, черными, пр...): учет результатов будет невозможен.
- При использовании избыточного количества реактива возможно получение ложноотрицательных результатов. На диск следует наносить только одну каплю реактива.
- Используйте платиновые или пластиковые петли (7). Даже следовые количества железа (нихрома) могут привести к получению ложноположительных результатов.
- После вскрытия ампулы используйте реактив в течение 12 часов. Неиспользованные остатки реактива следует утилизировать.
- При работе с микроорганизмами, проявляющими слабую оксидазную активность, например, *Pasteurella*, возможно получение отрицательных результатов (4).
- При работе со смешанными культурами, содержащими *Pseudomonas* spp. и *Neisseria* spp. возможно получение ложноотрицательных результатов. Бактерии рода *Pseudomonas* продуцируют вещества, ингибирующие выработку оксидазы клетками *Neisseria* spp.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

В исследовании использовали 100 штаммов. Из 100 исследованных штаммов 92 были оксидазоположительны или оксидазоотрицательны, и 8 – оксидазовариабельны (*Bacillus* и *Micrococcus*). Оксидазовариабельные штаммы в расчетах не учитывали.

Были получены следующие результаты :

- Для 4 из 65 оксидазоположительных штаммов был получен отрицательный результат: *Haemophilus parainfluenzae* (1 из 2 исследованных штаммов), *Pasteurella multocida* (1 из 4 исследованных штаммов) и *Photobacterium damsela* (2 из 2 исследованных штаммов).
- Для 1 из 27 оксидазоотрицательных штаммов был получен положительный результат: *Pseudomonas oryzae* (единственный исследуемый штамм).

Кол-во штаммов	Чувствительность ДИ* (95%)	Специфичность ДИ* (95%)
92	93.85% (84.98% – 97.62%)	96,30% (81.28% - 99.36%)

\*доверительный интервал

**УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ**

Неиспользованные реактивы можно считать неопасными и утилизировать в соответствии с правилами утилизации неопасных отходов.

Использованные реактивы и контаминированные материалы следует утилизировать в соответствии с правилами утилизации инфекционных материалов. Ответственность за утилизацию несут сотрудники лаборатории.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. BARON E.J. - PETERSON L.R. - FINEGOLD S.M. – Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology - 9th ed.- Ed. Mosby, 1994 – ISBN 0-8016-6987-1.
2. COWAN S.T., STEEL K.J. - Manual for the Identification of Medical Bacteria, Cambridge: University Press. - 1965, p. 22.
3. KOVACS N. – Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by oxidase reaction. - *Nature*, 1956, n° 4535, p. 703.
4. KNAPP J.S., KOUMANS E.H. – *Neisseria and Branhamella* in MURRAY P.R., BARON E.J., PFALLER M.A. et al. - *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed., Washington, D.C. : ASM Press, 1999, p. 587-597, p. 1070.
5. MAC FADDIN J.F. - *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. - 2nd ed. – Baltimore : Williams and Wilkins, 1980, Chap. 27 : Oxydase test. Paragraphe VIII: Precautions - p. 257.
6. STEEL K.J. – The oxidase activity of Staphylococci. - *J. Appl. Bacteriol.*, 1962, vol. 25, n°3, p. 445-455.
7. STEEL K.J. - The oxidase reaction as a taxonomic tool. - *J. Gen. Microbiol.*, 1961, vol. 25, p. 297-306.

**ТАБЛИЦА СИМВОЛОВ И ОБОЗНАЧЕНИЙ**

Символ	Обозначение
 или REF	Номер по каталогу
	Для диагностики in vitro
	Произведено
	Температурные ограничения
	Использовать до
	Номер партии
	Перед использованием прочтите инструкцию
	Беречь от света

АТСС является зарегистрированной и/или находящейся в процессе регистрации торговой маркой, принадлежащей Американской типовой коллекции клеточной культуры.



**bioMérieux® SA**  
au capital de 12 029 370 €  
673 620 399 RCS LYON

69280 Marcy-l'Etoile / France  
Тел. 33 (0)4 78 87 20 00  
Fax 33 (0)4 78 87 20 90  
<http://www.biomerieux.com>



bioMérieux и логотип являются зарегистрированными (или находящимися в процессе регистрации) торговыми марками компании bioMérieux SA. Все права защищены.