

Oxidase Reagent

IVD

Détection de l'enzyme cytochrome oxydase.

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

Ce test permet la détection de l'enzyme cytochrome oxydase des bactéries. Cette enzyme est caractéristique du genre *Neisseria* et de la majorité des espèces de *Pseudomonas*. Elle permet la différenciation des bacilles Gram (-) (1, 2).

PRINCIPE

Le test de l'oxydase est basé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire.

En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, cette enzyme oxyde le réactif phénylènediamine, pour former un composé coloré en violet, l'indophénol.

L'acide ascorbique, incorporé dans le réactif, agit en tant qu'agent réducteur pour limiter l'auto-oxydation et améliorer la stabilité du réactif (6).

Cette formulation est basée sur la formule du réactif oxydase de Kovacs (3).

PRESENTATION

REF 55 635 Réactif prêt à l'emploi

Coffret comprenant :

- 50 ampoules contenant chacune 0,75 ml de réactif
- 1 briseur d'ampoule réutilisable
- + 1 notice

COMPOSITION

Formule théorique :

Ce réactif peut être ajusté en fonction des critères de performances imposés.

N,N,N,N-tétraméthyl-1,4-phénylènediamine	10,0 g
Acide ascorbique	2,0 g
Eau désionisée	1 L

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Oese (en platine, plastique).
- Disques non imprégnés de diamètre 6 mm (Réf. 54 991).

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- **Pour diagnostic *in vitro* uniquement.**
- **Pour usage professionnel uniquement.**
- Les prélèvements et cultures bactériennes doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée par un personnel compétent et averti. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation; se référer à "NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline* – Révision en vigueur". Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH - Dernière édition", ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.

- Ne pas utiliser ce produit dans les cas suivants :
 - changement de couleur (réactif initialement incolore à jaune pâle),
 - emballage détérioré,
 - autres signes de détérioration (ampoule cassée).
- Les performances présentées ont été obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.
- L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques et éventuellement des résultats d'autres tests.

CONDITIONS DE STOCKAGE

- **Les réactifs se conservent entre 18°C et 25°C dans leur coffret jusqu'à la date de péremption.**
- Ne pas congeler.
- **Conserver à l'abri de la lumière.**
- **Le réactif oxydase s'auto-oxyde rapidement et perd sa sensibilité. Tout réactif partiellement utilisé doit être éliminé au bout de 12 heures.**

ECHANTILLONS

L'échantillon est constitué d'une colonie isolée pour laquelle on veut détecter l'enzyme cytochrome oxydase. Cette colonie doit être issue d'une culture de 18 à 24 heures sur milieux de culture gélosés solides.

MODE OPERATOIRE

Ouverture de l'ampoule :

1. Placer le flacon compte-gouttes dans le briseur d'ampoule.
2. Tapoter le fond du flacon pour éliminer les bulles qui auraient pu s'y former.
3. Saisir le milieu de l'ensemble flacon/briseur et appuyer doucement pour briser l'ampoule.

Réalisation du test :

1. Distribuer **précisément 1 goutte** de réactif sur un disque non imprégné de diamètre 6 mm (Réf. 54 991).
2. Etaler la colonie sur le disque.

LECTURE ET INTERPRETATION

- L'apparition en 10 à 30 secondes d'une coloration allant de violet à pourpre indique un test positif.
- Des réactions tardives ou l'absence de couleur indiquent un test négatif.

CONTROLE QUALITE

Protocole :

L'activité du réactif peut être testée à l'aide des souches suivantes cultivées sur gélose Trypcase-Soja :

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

Résultats attendus :

Souche	Résultats
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Positif : coloration violette
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Négatif : pas de coloration

Remarque :

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de prendre en compte la nature de l'application et la législation locale en vigueur pour la mise en oeuvre du contrôle de qualité (fréquence, nombre de souches...).

LIMITES DU TEST

- La réaction d'oxydase ne doit pas être réalisée sur des colonies obtenues sur gélose EMB ou CHAPMAN 2, ni sur des colonies issues d'une culture de 48 heures sur des milieux gélosés solides.
- La recherche de l'oxydase ne doit pas être effectuée sur des colonies isolées présentant une coloration spontanée (couleur violette, rose, verte, noire...). Dans ce cas, la lecture du test est impossible.
- L'utilisation d'un volume de réactif trop important peut entraîner des résultats faussement négatifs. N'utiliser qu'une seule goutte de réactif comme indiqué dans le mode opératoire.
- Il est conseillé d'utiliser une oese ou une aiguille en platine ou en plastique pour le test de l'oxydase (7). Toute trace de fer (nichrome) peut catalyser la réaction de l'oxydase et conduire à une réaction faussement positive.
- Tout réactif partiellement utilisé doit être éliminé au bout de 12 heures.
- Les genres faiblement producteurs d'oxydase comme les *Pasteurella*, peuvent donner des résultats négatifs (4).
- Des résultats faussement négatifs peuvent survenir en cas de cultures mixtes de *Pseudomonas* et *Neisseria*. Une substance inhibitrice est produite par *Pseudomonas spp.* interférant avec la production d'oxydase de *Neisseria spp.*

PERFORMANCES

Une étude a été conduite sur 100 souches.

Sur les 100 souches testées, seules 92 souches décrites comme positives ou négatives strictes au test de l'oxydase ont été conservées pour le calcul de la sensibilité et de la spécificité ; les 8 autres souches décrites comme variables (*Bacillus* et *Micrococcus*) n'ont pas été prises en compte.

Sur la base de cette étude, les résultats sont les suivants :

- sur les 65 souches positives testées, 4 donnent un résultat négatif : *Haemophilus parainfluenzae* (1 souche sur les 2 testées), *Pasteurella multocida* (1 souche sur les 4 testées) et *Photobacterium damsela* (2 souches sur les 2 testées).
- Sur les 27 souches négatives testées, 1 seule donne un résultat positif : *Pseudomonas oryzihabitans* (1 souche sur 1 testée).

Nombre de souches	Sensibilité IC* (95%)	Spécificité IC* (95%)
92	93,85% (84,98% – 97,62%)	96,30% (81,28% - 99,36%)

* Intervalle de confiance.

ELIMINATION DES DECHETS

Les réactifs non utilisés peuvent être éliminés comme déchets non dangereux.









Éliminer les réactifs utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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.

TABLE DES SYMBOLES

Symbole	Signification
 ou REF	Référence du catalogue
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Fabricant
	Limites de température
	Utiliser jusque
	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Conserver à l'abri de la lumière

ATCC est une marque utilisée, déposée et/ou enregistrée appartenant à American Type Culture Collection.



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

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



bioMérieux et le logo bleu sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de ses filiales.

Oxidase Reagent

IVD

Detection of the enzyme cytochrome oxidase

SUMMARY AND EXPLANATION

This test is used to detect the production of the enzyme cytochrome oxidase by bacteria. This enzyme is characteristic of the genus *Neisseria* and most species of *Pseudomonas*. It enables the differentiation of Gram (-) bacilli (1, 2).

PRINCIPLE

The oxidase test is based on the bacterial production of an intracellular oxidase enzyme.

In the presence of atmospheric oxygen and cytochrome C, this enzyme oxidizes the phenylenediamine reagent to form a purple colored compound, indophenol.

Ascorbic acid is incorporated in the reagent as a reducing agent to reduce autooxidation and to improve stability (6). This formulation is based on the oxidase reagent formula of Kovacs (3).

CONTENT OF THE KIT

REF 55 635 Ready-to-use reagent

Kit contents:

- 50 ampules with 0.75 ml of reagent per ampule
- 1 reusable ampule crusher
- + 1 package insert

COMPOSITION

Theoretical formula.

This reagent can be adjusted according to the performance criteria required.

N,N,N,N-tetramethyl-1,4-phenylenediamine	10.0 g
Ascorbic acid	2.0 g
Deionized water	1 L

MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Inoculating loop (platinum or plastic).
- Non-impregnated disks (diameter 6 mm)(Ref. 54 991).

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- All samples and microbial cultures must be treated as potentially infectious and handled appropriately by trained and competent personnel. Aseptic technique and usual precautions for handling the group of bacteria studied should be observed throughout this procedure. See "NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue ; Approved Guideline - Current Revision*". For additional handling precautions, refer to "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH, Latest Edition", or to the regulations currently in use in each country.
- Do not use reagents past the expiration date.
- This product should not be used if:
 - the color has changed (the reagent is originally colorless to pale yellow),
 - the packaging is damaged,
 - there are other signs of deterioration (broken ampule)
- The performance data presented were obtained using the procedure indicated in this package insert. Any change or modification in the procedure may affect the results.

- Interpretation of the test results should be made taking into consideration the patient's history, colonial and microscopic morphology and, if necessary, the results of any other tests performed.

STORAGE CONDITIONS

- **Store the reagents at 18°C-25°C in their box until the expiration date.**
- Do not freeze.
- **Protect from light.**
- **The oxidase reagent quickly auto-oxidizes and loses its sensitivity. Unused reagent should be discarded after 12 hours.**

SPECIMENS

The specimen consists of an isolated colony for which cytochrome oxidase enzyme production is to be detected. The colony should be collected from an 18-24-hour-old culture grown on a solid agar medium.

INSTRUCTIONS FOR USE

Opening the ampule:

1. Place the dropper in the reusable ampule crusher.
2. Lightly tap the bottom of the dropper to dislodge any bubbles that may have formed.
3. Take hold of the middle of the dropper/crusher and press gently to crush the ampule inside.

Test procedure:

1. Dispense **precisely 1 drop** of reagent onto a non-impregnated disc (diameter 6 mm) (Ref. 54 991).
2. Smear the colony on the disc.

READING AND INTERPRETATION

- A positive test is indicated by the development of a violet to purple color within 10-30 seconds.
- Delayed reactions or no color development indicate a negative test.

QUALITY CONTROL

Protocol:

The activity of the reagent can be tested using the following strains grown on Trypcase-Soy agar:

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

Expected results:

Strain	Results
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Positive: violet color development
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Negative: no color development

Note:

It is the responsibility of the user to perform Quality Control taking into consideration the intended use of the medium, and in accordance with any local applicable regulations (frequency, number of strains, etc.).

LIMITATIONS OF THE METHOD

- The oxidase test should not be performed on colonies obtained on EMB or CHAPMAN 2 agar, or colonies from a 48-hour-old culture grown on solid agar media.
- Oxidase detection should not be performed on isolated colonies showing a spontaneous color development (violet, pink, green, black, etc.). In this case, reading of the test is impossible.
- Using too large volumes of reagent could lead to false negative results. Only use one drop of reagent as indicated in the instructions for use.
- A platinum or plastic inoculating loop or needle (7) is recommended for use in oxidase testing. The presence of any trace of iron (nichrome) can catalyze an oxidase reaction, resulting in a false-positive reaction.
- Discard the remaining portion of partially used reagent after 12 hours.
- Weak oxidase producers e.g. *Pasteurella*, may give negative results (4).
- False-negative results occur if mixed cultures contain the genera *Pseudomonas* and *Neisseria*. An inhibitory substance is produced by *Pseudomonas* spp which interferes with the production of oxidase by *Neisseria* spp.

PERFORMANCE

A study was carried out using 100 strains.

Out of the 100 strains tested, 92 were described as oxidase-positive or oxidase-negative and were used to calculate the reagent performance: sensitivity and specificity; the other 8 strains were described as oxidase-variable (*Bacillus* and *Micrococcus*) and were not taken into account for the performance calculations.

On the basis of this study, the following results were obtained :

- out of the 65 positive strains tested, 4 gave negative results: *Haemophilus parainfluenzae* (1 out of 2 strains tested), *Pasteurella multocida* (1 out of 4 strains tested) and *Photobacterium damsela* (2 out of 2 strains tested).
- out of the 27 negative strains tested, only one tested positive: *Pseudomonas oryzae* (1 out of 1 strain tested).

Number of strains	Sensitivity CI* (95%)	Specificity CI* (95%)
92	93.85% (84.98% – 97.62%)	96,30% (81.28% - 99.36%)

*confidence interval.

WASTE DISPOSAL

Unused reagents may be considered as non hazardous waste and disposed of accordingly.









Dispose of used reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

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.

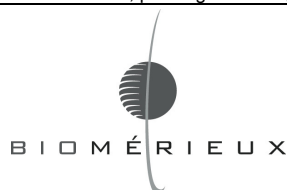
INDEX OF SYMBOLS

Symbole	Meaning
 or REF	Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limitation
	Use by
	Batch code
	Consult instructions for use
	Protect from light

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

ATCC is a used, pending and/or registered trademark belonging to American Type Culture Collection.



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

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



bioMérieux and the blue logo are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux SA or one of its subsidiaries.

Oxidase Reagent

IVD

Nachweis des Enzyms Cytochrom-Oxidase.

EINFÜHRUNG UND PRODUKTERKLÄRUNG

Dieser Test weist die Bildung des Enzyms Cytochrom-Oxidase bei Bakterien nach. Dieses Enzym ist für die Gattung *Neisseria* und die meisten *Pseudomonas* Spezies charakteristisch. Es ermöglicht eine Differenzierung von gramnegativen Stäbchen (1, 2).

PRINZIP

Der Oxidase-Test beruht auf der Bildung des intrazellulären Oxidase-Enzyms durch die Bakterien. In Anwesenheit von Luftsauerstoff und Cytochrom C oxidiert dieses Enzym das Reagenz Phenylendiamin, wobei eine violett gefärbte Substanz (Indophenol) entsteht. Das Reagenz enthält Ascorbinsäure, welche die Autooxidation reduziert und die Stabilität des Reagenzes verbessert (6).

Die Zusammensetzung basiert auf dem von Kovacs beschriebenen Oxidase-Reagenz (3).

PACKUNGSGRÖSSE

REF 55 635 Gebrauchsfertiges Reagenz

Packungsinhalt:

- 50 Ampullen mit je 0,75 ml Reagenz
- 1 wiederverwendbarer Ampullenöffner
- + 1 Arbeitsanleitung

ZUSAMMENSETZUNG

Theoretische Zusammensetzung:

Dieses Reagenz kann in Abhängigkeit von den erforderlichen Leistungskriterien angepasst werden:

N,N,N,N-Tetramethyl-1,4-phenylendiamin	10,0 g
Ascorbinsäure.....	2,0 g
Deionisiertes Wasser.....	1 l

ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE MATERIALIEN

- Impföse (Platin, Plastik).
- Nicht imprägnierte Testblättchen (6 mm Durchmesser) (Best.Nr. 54 991).

VORSICHTSMASSNAHMEN

- **Nur für die *in vitro* Diagnostik.**
- **Nur für die Verwendung durch Fachkundige bestimmt.**
- Die Proben, Mikroorganismen und beimpften Produkte müssen als potenziell infektiös betrachtet und unter Beachtung geeigneter Vorsichtsmaßnahmen sachgemäß behandelt werden. Während der gesamten Testdurchführung müssen aseptische Arbeitsbedingungen und entsprechende Vorsichtsmaßnahmen für die zu untersuchende Keimgruppe eingehalten werden, siehe „NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline* – aktuelle Revision“. Weitere diesbezügliche Informationen finden Sie in „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH – Letzte Ausgabe“ oder in den jeweils gültigen Richtlinien.
- Die Reagenzien nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Das Reagenz darf nicht verwendet werden bei:
 - Verfärbung (das Reagenz ist im Originalzustand farblos bis hellgelb),
 - beschädigter Verpackung,
 - anderen Anzeichen einer Beschädigung (zerbrochene Ampullen).

- Die angegebene Performance wurde gemäß dem Verfahren der vorliegenden Arbeitsanleitung ermittelt. Jede Abweichung von diesem Verfahren kann die Ergebnisse beeinflussen.
- Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen der klinische Hintergrund, die Probenherkunft, Kolonie- und mikroskopische Morphologie sowie gegebenenfalls die Ergebnisse anderer Tests berücksichtigt werden.

LAGERUNGSBEDINGUNGEN

- **Die Reagenzien sind bei 18°C bis 25°C in ihrer Originalverpackung bis zum Verfallsdatum haltbar.**
- Nicht einfrieren.
- **Lichtgeschützt lagern.**
- **Das Oxidase-Reagenz oxidiert schnell und verliert an Sensitivität. Nicht aufgebrauchtes Reagenz muss deshalb nach Ablauf von 12 h entsorgt werden.**

PROBEN

Die Probe besteht aus einer Einzelkolonie, bei der das Enzym Cytochrom-Oxidase nachgewiesen werden soll. Die Kolonie sollte von einer 18- bis 24 h-Kultur stammen, die auf festen Agarmedien angezüchtet wurde.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Öffnen der Ampullen:

1. Geben Sie das Tropffläschchen in den Ampullenöffner.
2. Klopfen Sie leicht auf den Boden des Fläschchens, um eventuelle Bläschen zu entfernen.
3. Halten Sie Fläschchen/Ampullenöffner in der Mitte und drücken Sie diese vorsichtig zusammen, so dass die Ampulle zerbricht.

Testdurchführung:

1. Geben Sie **genau 1 Tropfen** Reagenz auf ein nicht imprägniertes Testblättchen (Durchmesser 6 mm) (Best.Nr. 54 991).
2. Verreiben Sie die Kolonie auf dem Testblättchen.

ABLESUNG UND INTERPRETATION

- Das Auftreten einer violett- bis purpurfarbenen Färbung innerhalb von 10 bis 30 s zeigt ein positives Testergebnis an.
- Verzögert auftretende Reaktionen oder eine fehlende Färbung zeigen ein negatives Testergebnis an.

QUALITÄTSKONTROLLE

Verfahren:

Die Aktivität des Reagenzes kann mit folgenden auf Trypcase-Soja Agar angezüchteten Stämmen überprüft werden:

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

Erwartete Ergebnisse:

Stamm	Ergebnisse
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Positiv: violette Färbung
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Negativ: keine Färbung

Anmerkung:

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Qualitätskontrolle in Übereinstimmung mit den jeweils gültigen Vorschriften (Häufigkeit, Anzahl der Stämme...) durchzuführen.

LIMITIERUNGEN

- Der Oxidase-Test darf nicht auf Kolonien durchgeführt werden, die auf EMB oder CHAPMAN 2 Agar angezüchtet wurden, des Weiteren dürfen keine 48 h Kulturen von festen Agarmedien verwendet werden.
- Der Oxidase-Test darf nicht mit Einzelkolonien durchgeführt werden, die eine spontane Färbung aufweisen (violett, rosa, grün, schwarz...). Der Test kann in diesem Fall nicht abgelesen werden.
- Bei der Verwendung zu großer Reagenzvolamina kann es zu falsch negativen Ergebnissen kommen. Verwenden Sie nur einen Tropfen Reagenz wie im Abschnitt Testdurchführung angegeben.
- Es wird empfohlen, Platin- oder Plastikösen bzw. Nadeln zu verwenden (7), da Eisenspuren (Nichrom) die Oxidasereaktion katalysieren und zu falsch positiven Reaktionen führen können.
- Nicht aufgebrauchtes Reagenz muss nach Ablauf von 12 h entsorgt werden.
- Schwache Oxidase-Bildner wie *Pasteurella* können ein negatives Testergebnis hervorrufen (4).
- Mischkulturen, die *Pseudomonas* und *Neisseria* Spezies enthalten, können zu falsch negativen Ergebnissen führen, da *Pseudomonas spp.* eine inhibierende Substanz produziert, die mit der Oxidase-Bildung von *Neisseria spp* interferiert.

PERFORMANCE

Es wurde eine Studie mit 100 Stämmen durchgeführt. Von den 100 getesteten Stämmen wurden nur 92 Stämme, die als strikt Oxidase-positiv oder -negativ beschrieben wurden, zur Berechnung der Sensitivität und Spezifität herangezogen. Die 8 anderen Stämme wurden als variabel beschrieben (*Bacillus* und *Micrococcus*) und bei der Berechnung der Performance nicht berücksichtigt.

Es wurden folgende Ergebnisse ermittelt:

- von 65 getesteten positiven Stämmen waren 4 Stämme negativ: *Haemophilus parainfluenzae* (1 von 2 getesteten Stämmen), *Pasteurella multocida* (1 von 4 getesteten Stämmen) und *Photobacterium damsela* (2 von 2 getesteten Stämmen).
- von 27 getesteten negativen Stämmen war 1 einziger Stamm positiv: *Pseudomonas oryzihabitans* (1 von 1 getesteten Stamm).

Anzahl Stämme	Sensitivität KI* (95%)	Spezifität KI* (95%)
92	93,85% (84,98% – 97,62%)	96,30% (81,28% - 99,36%)

* Konfidenzintervall.

BESEITIGUNG DER ABFÄLLE

Nicht verwendete Reagenzien können als normale Abfälle entsorgt werden.









Entsorgen Sie alle gebrauchten Reagenzien sowie kontaminierte Einwegmaterialien gemäß den für infektiöse oder potenziell infektiöse Materialien geltenden Bestimmungen.

Es liegt in der Verantwortung jedes Labors, die entstandenen Fest- und Flüssigabfälle gemäß der jeweiligen Risikogruppe zu behandeln und deren Entsorgung in Übereinstimmung mit den gültigen gesetzlichen Bestimmungen sicherzustellen.

LITERATUR

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.

SYMBOLE

Symbol	Bedeutung
 oder REF	Bestellnummer
	In Vitro Diagnostikum
	Hersteller
	Temperaturbegrenzung
	Verwendbar bis
	Chargenbezeichnung
	Gebrauchsanweisung beachten
	Lichtgeschützt lagern

ATCC ist eine verwendete, angemeldete und/oder eingetragene Marke von American Type Culture Collection.



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

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


 Gedruckt in Frankreich

bioMérieux und das blaue Logo sind verwendete, angemeldete und/oder eingetragene Marken von bioMérieux SA oder einer ihrer Niederlassungen.

Oxidase Reagent

IVD

Detección de la enzima citocromo oxidasa.

INTRODUCCION Y OBJETIVO DE LA PRUEBA

Esta prueba permite la detección de la enzima citocromo oxidasa de las bacterias. Esta enzima es característica del género *Neisseria* y de la mayoría de las especies de *Pseudomonas*. Permite la diferenciación de los bacilos Gram (-) (1, 2).

PRINCIPIO

La prueba de la oxidasa está basada en la producción bacteriana de una enzima oxidasa intracelular.

En presencia de oxígeno atmosférico y de citocromo C, esta enzima oxida el reactivo fenilenediamina, para formar un compuesto coloreado violeta, el indofenol.

El ácido ascórbico, incorporado en el reactivo, es un agente reductor que limita la auto-oxidación y mejora la estabilidad del reactivo (6).

Esta formulación está basada en la fórmula del reactivo oxidasa de Kovacs (3).

PRESENTACION

REF 55 635 Reactivo listo al empleo

Este equipo contiene:

- 50 ampollas cada una con 0,75 ml de reactivo
- 1 sistema de apertura de ampolla reutilizable
- + 1 ficha técnica

COMPOSICION

Fórmula teórica:

Este reactivo puede estar ajustado en función de los criterios de prestaciones impuestas.

N,N,N,N-tetrametil-1,4-fenilenediamina	10,0 g
Ácido ascórbico	2,0 g
Agua desionizada	1 l

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

- Asa (de platino, plástico).
- Discos no impregnados de diámetro 6 mm (Ref. 54 991).

PRECAUCIONES DE UTILIZACION

- **Para diagnóstico *in vitro* únicamente.**
- **Para uso profesional exclusivamente.**
- Las muestras, cultivos bacterianos y productos inoculados deben ser considerados como potencialmente infecciosos y deben ser manipulados de forma apropiada por personal debidamente formado. Deben respetarse las técnicas de asepsia y las precauciones usuales de manipulación para el grupo bacteriano estudiado a lo largo de todo el proceso de manipulación; consultar en "*NCCLS M29-A, Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline – Revisión en vigor*". Para obtener informaciones complementarias sobre las precauciones de manipulación, consultar: "*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, – CDC/NIH – Última edición*", o la reglamentación en vigor en el país de utilización.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad.
- No utilizar este producto en los siguientes casos :
 - cambio de color (reactivo inicialmente incoloro a amarillo pálido),
 - embalaje deteriorado,
 - otros signos de deterioro (ampolla rota).

- Las prestaciones presentadas han sido obtenidas con la metodología indicada en esta ficha técnica. Toda desviación en dicha metodología puede modificar los resultados.
- La interpretación de los resultados de la prueba debe hacerse teniendo en cuenta el contexto clínico, el origen de la muestra, los aspectos macro y microscópicos, y eventualmente los resultados de otras pruebas.

CONDICIONES DE CONSERVACION

- **Los reactivos se conservan entre 18°C y 25°C en su envase hasta la fecha de caducidad.**
- No congelar.
- **Conservar protegido de la luz.**
- **El reactivo oxidasa se auto-oxida rápidamente y pierde su sensibilidad. Todo reactivo parcialmente utilizado debe ser eliminado en las 12 horas siguientes a su apertura.**

MUESTRAS

La muestra está constituida por una colonia aislada en la cuál, se desea detectar la enzima citocromo oxidasa. Esta colonia debe proceder de un cultivo en medio sólido de 18 a 24 horas.

TECNICA

Apertura de la ampolla:

1. Colocar el frasco cuentagotas en el sistema de apertura de ampolla.
2. Golpear el fondo del frasco para eliminar las burbujas que se hayan podido formar.
3. Dejar el conjunto frasco/sistema de apertura, y apretar cuidadosamente para romper la ampolla.

Realización de la prueba:

1. Distribuir **con precisión 1 gota** de reactivo en el disco no impregnado de diámetro 6 mm (Ref. 54 991).
2. Extender la colonia en el disco.

LECTURA E INTERPRETACION

- La aparición en 10 - 30 segundos de un color que vaya del violeta al púrpura indica una prueba positiva.
- Las reacciones tardías o la ausencia de color indican un resultado negativo.

CONTROL DE CALIDAD

Protocolo:

La actividad del reactivo puede ser valorada con la ayuda de las siguientes cepas cultivadas en medio Trypcase-Soja:

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

Resultados esperados :

Cepa	Resultados
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Positivo : color violeta
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Negativo : sin color

Advertencia:

Es responsabilidad del usuario tener en cuenta la naturaleza de la aplicación y la legislación local en vigor para realizar el control de calidad (frecuencia, número de cepas...).

LIMITES DE LA PRUEBA

- La reacción de oxidasa no debe ser realizada con colonias obtenidas en medio EMB o CHAPMAN 2, ni con colonias de un cultivo de 48 horas en medios sólidos.
- La detección de la oxidasa no debe ser efectuada con colonias aisladas que presenten un color espontáneo (color violeta, rosa, verde, negro...). En este caso, la lectura de la prueba es imposible.
- La utilización de un volumen de reactivo muy grande puede originar resultados falsamente negativos. Utilizar una única gota de reactivo como se indica en la técnica.
- Se aconseja utilizar un asa o una aguja de platino o plástico para la prueba de la oxidasa (7). Toda traza de hierro (ni cromo) puede catalizar la reacción de la oxidasa, y conducir a una reacción falsamente positiva.
- Todo reactivo parcialmente utilizado debe ser eliminado al cabo de 12 horas.
- Los géneros débilmente productores de oxidasa como *Pasteurella*, pueden dar resultados negativos (4).
- Los resultados falsamente negativos pueden originarse en caso de cultivos mixtos de *Pseudomonas* y *Neisseria*. *Pseudomonas spp.* produce una sustancia inhibidora que interfiere con la producción de la oxidasa de *Neisseria spp.*

PRESTACIONES TECNICAS

Se ha realizado un estudio con 100 cepas.

De las 100 cepas analizadas, solo 92 cepas descritas como positivas o negativas estrictas para la prueba de la oxidasa fueron conservadas para el cálculo de la sensibilidad y de la especificidad; las otras 8 cepas descritas como variables (*Bacillus* y *Micrococcus*) no han sido tenidas en cuenta.

Basándose en este estudio, los resultados son los siguientes:

- De las 65 cepas positivas analizadas, 4 han dado un resultado negativo: *Haemophilus parainfluenzae* (1 cepa de las 2 analizadas), *Pasteurella multocida* (1 cepa de las 4 analizadas) y *Photobacterium damsela* (2 cepas de las 2 analizadas).
- De las 27 cepas negativas analizadas, 1 sola dio un resultado positivo: *Pseudomonas oryzihabitans* (1 cepa de 1 analizada).

Número de cepas	Sensibilidad IC* (95%)	Especificidad IC* (95%)
92	93,85% (84,98% – 97,62%)	96,30% (81,28% - 99,36%)

* Intervalo de confianza.

ELIMINACION DE RESIDUOS

Los reactivos no utilizados pueden ser eliminados como residuos no peligrosos.






Eliminar los reactivos utilizados así como los materiales de un solo uso contaminados siguiendo los procedimientos relacionados con los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

Es responsabilidad de cada laboratorio gestionar los residuos y efluentes que produzca según su naturaleza y su peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) el tratamiento según las reglamentaciones aplicables.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

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.

TABLA DE SIMBOLOS

Símbolo	Significado
 o REF	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Límite de temperatura
	Fecha de caducidad
	Código de lote
	Consulte las instrucciones de uso
	Conservar protegido de la luz

ATCC es una marca utilizada, depositada y/o registrada perteneciente a American Type Culture Collection



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

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


Impreso en Francia

bioMérieux y el logo azul son marcas utilizadas, depositadas y/o registradas pertenecientes a bioMérieux SA o a cada una de sus filiales.

Reagente Ossidasi

IVD

Rilevazione dell'enzima citocromo ossidasi.

INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

Questo test permette la rilevazione dell'enzima citocromo ossidasi dei batteri. Questo enzima è caratteristico del genere *Neisseria* e della maggior parte delle specie di *Pseudomonas*. Permette la differenziazione dei bacilli Gram (-) (1, 2).

PRINCIPIO

Il test dell'ossidasi si basa sulla produzione batterica di un enzima ossidasi intracellulare.

In presenza di ossigeno atmosferico e di citocromo C, questo enzima ossida il reattivo fenilendiamina, formando un composto colorato viola, l'indofenolo.

L'acido ascorbico, incorporato nel reattivo, agisce come agente riducente limitando l'auto-ossidazione e migliorando la stabilità del reattivo (6).

Questa formulazione è basata sulla formula del reattivo ossidasi di Kovacs (3).

PRESENTAZIONE

REF 55 635 Reattivo pronto per l'uso

La confezione comprende :

- 50 fiale contenenti ciascuna 0,75 ml di reattivo
- 1 rompi-fiala riutilizzabile
- + 1 scheda tecnica

COMPOSIZIONE

Formula teorica.

Questo reattivo può essere aggiustato e/o addizionato a seconda delle performance richieste :

N,N,N,N-tetrametil-1,4-fenilendiamina	10,0 g
Acido ascorbico	2,0 g
Acqua deionizzata	1 L

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

- Ansa (di platino, di plastica).
- Dischi non impregnati di 6 mm di diametro (Cod. 54 991).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- **Unicamente per diagnostica *in vitro*.**
- **Esclusivamente per uso professionale.**
- I prelievi, le colture batteriche ed i prodotti seminati devono essere considerati come potenzialmente infettivi e devono essere manipolati in maniera appropriata. Le tecniche di asepsi e le precauzioni d'uso per il gruppo batterico studiato devono essere rispettate durante tutta la manipolazione; fare riferimento a "NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline* - Revisione in vigore". Per ulteriori informazioni sulle precauzioni di manipolazione, consultare "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH - Ultima edizione", oppure fare riferimento alla normativa vigente nel Paese.
- Non utilizzare i reattivi dopo la data di scadenza.

- Non utilizzare questo prodotto nei casi seguenti :
 - cambiamento di colore (inizialmente il reattivo è incolore o giallo pallido),
 - imballaggio deteriorato,
 - altri indici di deterioramento (fiale rotte).
- Le performance riportate sono state ottenute seguendo il procedimento indicato in questa scheda tecnica. Qualsiasi deviazione dal procedimento indicato può alterare i risultati.
- L'interpretazione dei risultati del test deve essere fatta tenendo conto del contesto clinico, dell'origine del prelievo, degli aspetti macro e microscopici e dei risultati di altri test.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

- **I reattivi si conservano a 18-25°C, nella loro confezione, fino alla data di scadenza.**
- Non congelare.
- **Conservare al riparo della luce.**
- **Il reattivo ossidasi si auto-ossida rapidamente e perde di sensibilità. Ogni reattivo parzialmente utilizzato deve essere eliminato dopo 12 ore.**

CAMPIONI

Il campione è costituito da una colonia isolata per la quale si vuole rilevare l'enzima citocromo ossidasi.

Questa colonia deve essere prelevata da una coltura di 18-24 ore su terreno di coltura agarizzato solido.

PROCEDIMENTO

Apertura della fiala :

1. Porre il flacone conta-gocce nel rompi-fiala.
2. Picchiare sul fondo del flacone per eliminare le bolle che avrebbero potuto formarvisi.
3. Afferrare il centro dell'insieme flacone/rompi-fiala e premere dolcemente per rompere la fiala.

Esecuzione del test :

1. Distribuire **1 goccia** esatta di reattivo su un disco non impregnato di 6 mm di diametro (Cod. 54 991).
2. Spandere la colonia sul disco.

LETTURA E INTERPRETAZIONE

- La comparsa in 10-30 secondi di una colorazione che va dal viola al porpora è indice di un test positivo.
- Reazioni tardive o l'assenza di colore indicano un test negativo.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Protocollo :

L'attività del reattivo può essere saggiata con i ceppi seguenti coltivati sull'agar Trypticasi-Soia :

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

Risultati attesi :

Ceppo	Risultati
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Positivo: colorazione viola
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Negativo: assenza di colorazione

Nota :

E' responsabilità dell'utilizzatore tenere conto della natura dell'applicazione ed assicurarsi che il controllo di qualità corrisponda a quanto previsto dalla legislazione locale vigente (frequenza, numero di ceppi...).

LIMITI DEL METODO

- La reazione dell'ossidasi non deve essere eseguita su colonie ottenute su agar EMB o CHAPMAN 2, né su colonie provenienti da una coltura di 48 ore su terreni agarizzati solidi.
- La ricerca dell'ossidasi non deve essere eseguita su colonie isolate che presentino una colorazione spontanea (colore viola, rosa, verde, nero...). In questi casi la lettura del test è impossibile.
- L'uso di un volume di reattivo eccessivo può causare risultati falsamente negativi. Utilizzare una sola goccia di reattivo come indicato nel procedimento.
- Si consiglia di utilizzare un'ansa od un ago di platino o di plastica per il test dell'ossidasi (7). La presenza di tracce di ferro (nicromo) può catalizzare la reazione di ossidazione e rendere falsamente positiva la reazione.
- I reattivi parzialmente utilizzati devono essere utilizzati nell'arco di 12 ore.
- I germi deboli produttori di ossidasi, come le *Pasteurella*, possono dare risultati negativi (4).
- Risultati falsamente negativi possono aversi in caso di colture miste di *Pseudomonas* e di *Neisseria*. Le *Pseudomonas spp.* producono una sostanza inibitrice che interferisce con la produzione di ossidasi delle *Neisseria spp.*

PERFORMANCE

Uno studio è stato eseguito su 100 ceppi.

Sui 100 ceppi saggiati, per il calcolo della sensibilità e della specificità sono stati presi in considerazione solo i 92 ceppi descritti come ossidasi positivi o negativi ; gli altri 8 ceppi, descritti come variabili (*Bacillus* e *Micrococcus*), non sono stati presi in considerazione.

Sulla base di questo studio, i risultati sono i seguenti :

- Dei 65 ceppi positivi saggiati, 4 hanno dato un risultato negativo : *Haemophilus parainfluenzae* (1 ceppo dei 2 saggiati), *Pasteurella multocida* (1 ceppo dei 4 saggiati) e *Photobacterium damsela* (2 ceppi dei 2 saggiati).
- Dei 27 ceppi negativi saggiati, 1 solo ha dato un risultato positivo : *Pseudomonas oryzihabitans* (unico ceppo saggiato).

Numero di ceppi	Sensibilità AF* (95%)	Specificità AF* (95%)
92	93,85% (84,98% – 97,62%)	96,30% (81,28% - 99,36%)

* Ambito fiduciario.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

I reattivi non utilizzati possono essere smaltiti come rifiuti non pericolosi.









Smaltire i reattivi utilizzati ed i materiali monouso contaminati seguendo le procedure relative ai prodotti infettivi o potenzialmente infettivi.

E' responsabilità di ogni laboratorio gestire i rifiuti e gli effluenti prodotti a seconda della loro natura e della loro pericolosità ed assicurarne (o farne assicurare) il trattamento e lo smaltimento conformemente alla legislazione vigente.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

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.

TABELLA DEI SIMBOLI

Simbolo	Significato
 REF	Numero di catalogo
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Fabbricante
	Limiti di temperatura
	Utilizzare entro
	Codice del lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Conservare al riparo della luce

ATCC è un marchio utilizzato, depositato e/o registrato di proprietà di American Type Culture Collection.



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

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



bioMérieux e il logo blu sono marchi utilizzati, depositati e/o registrati di proprietà di bioMérieux SA o di una delle sue filiali.

Oxidase Reagent

IVD

Detecção da enzima citocromo oxidase.

INTRODUÇÃO E OBJECTIVO DO TESTE

Este teste permite a detecção da enzima citocromo oxidase das bactérias. Esta enzima é característica do género *Neisseria* e da maioria das espécies de *Pseudomonas*. Permite a diferenciação dos bacilos Gram (-) (1, 2).

PRINCÍPIO

O teste da oxidase baseia-se na produção bacteriana de uma enzima oxidase intracelular.

Na presença de oxigénio na atmosfera e de citocromo C, esta enzima oxida o reagente fenilenediamina, para formar um composto colorido violeta, o indofenol.

O ácido ascórbico, incorporado no reagente, age enquanto agente redutor para limitar a auto-oxidação e melhorar a estabilidade do reagente (6).

Esta fórmula baseia-se na fórmula do reagente oxidase de Kovacs (3).

APRESENTAÇÃO

REF 55 635 Reagente pronto a usar

Embalagem contendo :

- 50 ampolas contendo cada uma 0,75 ml de reagente
- 1 quebra-ampolas reutilizável
- + 1 folheto informativo

COMPOSIÇÃO

Fórmula teórica:

Este reagente pode ser ajustado em função dos critérios de qualidade impostos.

N,N,N,N-tetrametil-1,4-fenilenediamina	10,0 g
Ácido ascórbico	2,0 g
Água desionizada	1 L

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Ansa (em platina, plástico).
- Discos não impregnados com diâmetro de 6 mm (Ref. 54 991).

PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

- **Somente para uso em diagnóstico *in vitro***
- **Unicamente para uso profissional**
- As amostras e culturas bacterianas devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas de forma apropriada por uma pessoa competente e avisada. As técnicas assépticas e as precauções habituais de manipulação para o grupo bacteriano estudado devem ser respeitadas durante toda a manipulação; consultar o "NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline – Revisão em vigor*". Para informações complementares sobre as precauções de manipulação, consultar o "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Última edição", ou a regulamentação em vigor no país de utilização.
- Não utilizar os reagentes após a data de validade.

- Este produto não deve ser utilizado nos seguintes casos:
 - se tiver mudança de cor (reagente inicialmente incolor a amarelo pálido),
 - se a embalagem estiver danificada,
 - outros sinais de deterioração (ampola partida).
- O comportamento funcional apresentado foi obtido com o procedimento indicado neste folheto informativo. Qualquer desvio ao procedimento pode alterar os resultados.
- A interpretação dos resultados do teste deve ser efectuada tendo em conta o contexto clínico, a origem da amostra, os aspectos macro e microscópicos da estirpe/cepa e, eventualmente, os resultados de outros testes.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

- **Os reagentes conservam-se entre 18°C e 25°C na sua embalagem até à data de validade.**
- Não congelar.
- **Conservar ao abrigo da luz.**
- **O reagente oxidase oxida-se rapidamente a ele próprio e perde a sua sensibilidade. Qualquer reagente parcialmente utilizado deve ser eliminado após 12 horas.**

AMOSTRAS

A amostra é constituída por uma colónia isolada para a qual queremos detectar a enzima citocromo oxidase. Esta colónia deve ser proveniente de uma cultura de 18 a 24 horas em meios de cultura gelosados sólidos.

PROCEDIMENTO

Abertura da ampola :

1. Colocar o frasco conta-gotas no quebra-ampolas.
2. Bater no fundo do frasco para eliminar as bolhas que se poderão formar.
3. Pegar no meio do conjunto frasco e quebra-ampolas e premir ligeiramente para partir a ampola.

Realização do teste :

1. Distribuir **exactamente 1 gota** de reagente num disco impregnado de diâmetro 6 mm (Ref. 54 991).
2. Espalhar a colónia sobre o disco.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO

- O aparecimento em 10 a 30 segundos de uma coloração que vai de violeta a púrpura indica um teste positivo.
- As reacções tardias ou a ausência de cor indicam um teste negativo.

CONTROLO DE QUALIDADE

Protocolo :

A actividade do reagente pode ser testada com as seguintes estirpes/cepas cultivadas em gelose Trypcase-Soja :

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

Resultados esperados :

Estirpe/cepa	Resultados
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Positivo : coloração violeta
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Negativo : nenhuma coloração

Nota :

É da responsabilidade do utilizador ter em conta a natureza da aplicação e a legislação local em vigor para a elaboração do controlo de qualidade (frequência, número de estirpes/cepas...).

LIMITES DO TESTE

- A reacção de oxidase não deve ser efectuada em colónias obtidas em gelose EMB ou CHAPMAN 2, nem em colónias provenientes de uma cultura de 48 horas em meios gelosados sólidos.
- A pesquisa da oxidase não deve ser efectuada em colónias isoladas com uma coloração espontânea (cor violeta, rosa, verde, preta...). Neste caso, a leitura é impossível.
- A utilização de um volume reagente muito importante pode levar a resultados falsamente negativos. Utilizar apenas uma única gota de reagente como indicado no procedimento.
- É aconselhado utilizar uma ansa ou uma agulha em platina ou em plástico para o teste da oxidase (7). Qualquer vestígio de ferro (nicromo) pode catalisar a reacção da oxidase e conduzir a uma reacção falsamente positiva.
- Qualquer reagente parcialmente utilizado deve ser eliminado após 12 horas.
- Os géneros fracamente produtores de oxidase como as *Pasteurella*, podem dar resultados negativos (4).
- Os resultados falsos negativos provêm em caso de culturas mistas com as duas espécies *Pseudomonas* e *Neisseria*. Uma substância inibidora é produzida por *Pseudomonas spp.* que interfere com a produção de oxidase de *Neisseria spp.*

COMPORTAMENTO FUNCIONAL

Foi efectuada um estudo com 100 estirpes/cepas. Das 100 estirpes/cepas testadas, apenas 92 estirpes/cepas descritas como positivas ou negativas estritas ao teste de oxidase foram conservadas para o cálculo da sensibilidade e da especificidade ; as 8 outras estirpes/cepas descritas como variáveis (*Bacillus* e *Micrococcus*) não foram consideradas para o cálculo do comportamento funcional.

Com base neste estudo, os resultados foram os seguintes :

- das 65 estirpes/cepas testadas, 4 deram um resultado negativo : *Haemophilus parainfluenzae* (1 estirpe/cepa de 2 analisadas), *Pasteurella multocida* (1 estirpe/cepa de 4 analisadas) e *Photobacterium damsela* (2 estirpes/cepas de 2 analisadas).
- das 27 estirpes/cepas negativas testadas, 1 única dá um resultado positivo : *Pseudomonas oryzihabitans* (1 estirpe/cepa de 1 analisada).

Número de estirpes/cepas	Sensibilidade IC* (95%)	Especificidade IC* (95%)
92	93,85% (84,98% – 97,62%)	96,30% (81,28% - 99,36%)

* Intervalo de confiança.

ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS

Os reagentes não utilizados podem ser eliminados como resíduos não perigosos.









Eliminar os reagentes utilizados bem como os materiais descartáveis contaminados em conformidade com os procedimentos relativos aos produtos infecciosos ou potencialmente infecciosos.

É da responsabilidade de cada laboratório gerir os resíduos e os efluentes que este produz consoante a sua natureza e o seu perigo, e assegurar (ou fazer assegurar) o tratamento e a eliminação em conformidade com as regulamentações aplicáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

QUADRO DE SÍMBOLOS

	Referência de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico "in vitro"
	Fabricante
	Limites de temperatura
	Prazo de validade
	Código do lote
	Consultar as instruções de utilização
	Conservar ao abrigo da luz

ATCC é uma marca utilizada, depositada e/ou registada, propriedade exclusiva da American Type Collection Culture

Brasil: Distribuído por bioMérieux Brasil, S.A. - Estrada do Mapuá, 491 - Jacarepaguá - R.J. - CEP 22710-261

CNPJ: 33.040.635/0001-71

Atendimento ao Consumidor Tel.: 0800-264848

Prazo de Validade, N° de Lote, N° de Registro de Ministério da Saúde e Responsável Técnico:

VIDE EMBALAGEM



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

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


 Impresso em França

BioMérieux é o logotipo azul, são marcas utilizadas, depositadas e/ou registadas, propriedade exclusiva da bioMérieux sa ou de uma das suas filiais.

Oxidase Reagent

IVD

Ανίχνευση του ενζύμου κυτοχρωμική οξειδάση

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Η εξέταση αυτή χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της παραγωγής του ενζύμου κυτοχρωμική οξειδάση από βακτήρια. Το ένζυμο αυτό είναι χαρακτηριστικό του γένους *Neisseria* και των περισσότερων ειδών *Pseudomonas*. Καθιστά δυνατή τη διάκριση των περισσότερων Gram (-) βακίλων (1, 2).

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η εξέταση οξειδάσης βασίζεται στη βακτηριακή παραγωγή ενός ενδοκυτταρικού ενζύμου οξειδάσης.

Παρουσία του ατμοσφαιρικού οξυγόνου και του κυτοχρώματος C, αυτό το ένζυμο οξειδώνει το αντιδραστήριο φαινυλενοδιαμίνης για να σχηματίσει μια πορφυρόχρωμη ένωση, την ινδοφαινόλη.

Το ασκορβικό οξύ ενσωματώνεται στο αντιδραστήριο ως αναγωγικός παράγοντας για να μειώσει την αυτοοξειδωση και να βελτιώσει τη σταθερότητα (6).

Αυτό το ιδιοσκεύασμα βασίζεται στη σύνθεση του αντιδραστήριου οξειδάσης του Kovacs (3).

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ

REF 55 635 Αντιδραστήριο έτοιμο προς χρήση

Περιεχόμενα της συσκευασίας:

- 50 φύσιγγες με 0,75 ml αντιδραστήριου ανά φύσιγγα
- 1 επαναχρησιμοποιημένο εργαλείο σύνθλιψης φύσιγγων
- + 1 εσώκλειστο οδηγίων

ΣΥΝΘΕΣΗ

Θεωρητική σύνθεση

Το αντιδραστήριο μπορεί να προσαρμοστεί σύμφωνα με τα απαιτούμενα κριτήρια απόδοσης.

N,N,N,N- τετραμεθυλ-1,4-φαινυλενοδιαμίνη.....	10,0 g
Ασκορβικό οξύ.....	2,0 g
Απιονισμένο ύδωρ.....	1 L

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟ ΜΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΟ ΥΛΙΚΟ

- Κρίκος ενοφθαλμισμού (πλατίνα ή πλαστικό).
- Μη-εμποτισμένοι δίσκοι (διάμετρος 6 mm)(Ref. 54 991).

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- **Αποκλειστικά για *in vitro* διαγνωστική χρήση.**
- **Αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση.**
- Όλα τα δείγματα και οι μικροβιακές καλλιέργειες θα πρέπει να θεωρούνται ως δυνητικώς μολυσματικά και να αντιμετωπίζονται καταλλήλως από εκπαιδευμένο και αρμόδιο προσωπικό. Άσηπτες τεχνικές και οι συνήθειες προφυλάξεις χειρισμού για τη μελετώμενη βακτηριακή ομάδα θα πρέπει να τηρούνται σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Βλέπε "NCCLS M29-A, Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Appropven Guideline - Τρέχουσα Αναθεώρηση". Για πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με τις προφυλάξεις κατά το χειρισμό, αναφερθείτε στο "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH, Τελευταία Έκδοση", ή στους ισχύοντες κανονισμούς της χώρας στην οποία χρησιμοποιούνται.

- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης.
- Το προϊόν αυτό δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται εάν:
 - έχει αλλάξει το χρώμα (το αντιδραστήριο είναι αρχικά άχρωμο έως ελαφρά κιτρινωπό),
 - έχει φθαρεί η συσκευασία,
 - υπάρχουν άλλες ενδείξεις αλλοίωσης (σπασμένη φύσιγγα)
- Τα δεδομένα απόδοσης της μεθόδου που παρουσιάζονται ελήφθησαν ακολουθώντας τη διαδικασία η οποία περιγράφεται σε αυτό το εσώκλειστο οδηγίων. Οποιαδήποτε αλλαγή ή τροποποίηση της διαδικασίας μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα.
- Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της εξέτασης πρέπει να γίνεται λαμβάνοντας υπόψη το ιστορικό του ασθενή, τη μορφολογία και την μικροσκοπική εικόνα των αποικιών και εάν χρειάζεται, τα αποτελέσματα από όποιες άλλες εξετάσεις έχουν πραγματοποιηθεί.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΦΥΛΑΞΗΣ

- Φυλάσσετε τα αντιδραστήρια στους 18°C-25°C στο κουτί τους μέχρι την ημερομηνία λήξης.
- Μην τα καταψύχετε.
- Προστατέψτε το προϊόν από το φως.
- Το αντιδραστήριο οξειδάσης αυτό-οξειδώνεται και χάνει την ευαισθησία του. Το μη χρησιμοποιημένο αντιδραστήριο θα πρέπει να απορρίπτεται μετά από 12 ώρες.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Το δείγμα αποτελείται από μια απομονωμένη αποικία για την οποία πρέπει να γίνει ανίχνευση παραγωγής του ενζύμου κυτοχρωμική οξειδάση.

Η αποικία θα πρέπει να συλλέγεται από μία καλλιέργεια διάρκειας 18-24 ωρών σε στερεό υλικό άγαρ.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Άνοιγμα της φύσιγγας :

1. Τοποθετήστε το σταγονόμετρο στο επαναχρησιμοποιημένο εργαλείο σύνθλιψης φύσιγγων.
2. Χτυπήστε ελαφρά το κάτω μέρος του σταγονόμετρου για να απελευθερώσετε τυχόν φυσαλίδες που έχουν σχηματιστεί.
3. Κρατήστε το σταγονόμετρο/εργαλείο σύνθλιψης από τη μέση και πιέστε μαλακά για να συνθλίψετε τη φύσιγγα που είναι μέσα.

Διαδικασία εξέτασης :

1. Διανείμετε **ακριβώς 1 σταγόνα** αντιδραστήριου στον μη-εμποτισμένο δίσκο (διαμέτρου 6 mm) (Ref. 54991).
2. Επιστρώστε την αποικία στο δίσκο.

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

- Μια θετική εξέταση υποδηλώνεται από την εμφάνιση ενός βιολετί έως πορφυρού χρώματος μέσα σε 10-30 δευτερόλεπτα.
- Οι καθυστερημένες αντιδράσεις ή η μη εμφάνιση χρώματος υποδηλώνουν μία αρνητική εξέταση.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ**Πρωτόκολλο :**

Η δραστηριότητα του αντιδραστηρίου μπορεί να εξεταστεί χρησιμοποιώντας τα ακόλουθα στελέχη που έχουν αναπτυχθεί σε άγαρ Τρυπτικάκη-Σόγια :

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

Αναμενόμενα αποτελέσματα:

Στέλεχος	Αποτελέσματα
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Θετικό: ανάπτυξη βιολετί χρώματος
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Αρνητικό: δεν παρατηρείται κανένας χρωματισμός

Σημείωση :

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να διεξάγει τον Ποιοτικό Έλεγχο λαμβάνοντας υπόψη την προοριζόμενη χρήση του υλικού, και σύμφωνα με τους εκάστοτε τοπικούς ισχύοντες κανονισμούς (συχνότητα, αριθμός στελεχών...).

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΜΕΘΟΔΟΥ

- Η εξέταση οξειδάσης δεν θα πρέπει να εκτελείται σε αποικίες που λαμβάνονται σε άγαρ EMB ή CHAPMAN 2, ή αποικίες από καλλιέργεια που αναπτύχθηκε επί 48 ώρες σε στερεά υλικά άγαρ.
- Η ανίχνευση οξειδάσης δεν θα πρέπει να εκτελείται σε απομονωμένες αποικίες στις οποίες αναπτύσσεται αυτόματα ένας χρωματισμός (βιολετί, ροζ, πράσινο, μαύρο...). Σε αυτή την περίπτωση, η ανάγνωση της εξέτασης είναι αδύνατη.
- Η χρήση υπερβολικά μεγάλου όγκου αντιδραστηρίου θα μπορούσε να οδηγήσει σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Χρησιμοποιήστε μόνο μια σταγόνα αντιδραστηρίου όπως υποδεικνύεται στις οδηγίες χρήσης.
- Ένας πλατινένιος ή πλαστικός κρίκος ενοφθαλμισμού ή βελόνα (7) συνιστάται για χρήση στην εξέταση οξειδάσης. Η παρουσία οποιουδήποτε ίχνους σιδήρου (κράματος νικελίου-χρωμίου) μπορεί να καταλύσει μια αντίδραση οξειδάσης, καταλήγοντας σε ψευδώς θετική αντίδραση.
- Απορρίψτε το υπόλοιπο μέρος ενός μερικώς χρησιμοποιημένου αντιδραστηρίου μετά από 12 ώρες.
- Οι παραγωγοί μικρής ποσότητας οξειδάσης π.χ. *Pasteurella*, μπορεί να δώσουν αρνητικά αποτελέσματα (4).
- Τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα προκύπτουν αν οι ανάμικτες καλλιέργειες περιέχουν τα γένη *Pseudomonas* και *Neisseria*. Μία ανασταλτική ουσία παράγεται από *Pseudomonas* spp η οποία παρεμβάλλεται με την παραγωγή οξειδάσης από *Neisseria* spp

ΑΠΟΔΟΣΗ

Πραγματοποιήθηκε μελέτη χρησιμοποιώντας 100 στελέχη.

Από τα 100 στελέχη που εξετάστηκαν, τα 92 περιγράφηκαν ως οξειδάση θετικά ή οξειδάση αρνητικά και χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της απόδοσης του αντιδραστηρίου: ευαισθησία και ειδικότητα. Τα άλλα 8 στελέχη περιγράφηκαν ως μεταβλητά στην οξειδάση (*Bacillus* και *Micrococcus*) και δεν ελήφθησαν υπόψη στους υπολογισμούς της απόδοσης.

Βάσει αυτής της μελέτης, προέκυψαν τα ακόλουθα αποτελέσματα:

- από τα 65 θετικά στελέχη τα οποία εξετάστηκαν, τα 4 έδωσαν αρνητικά αποτελέσματα: *Haemophilus parainfluenzae* (εξετάστηκαν 1 στα 2 στελέχη), *Pasteurella multocida* (εξετάστηκαν 1 στα 4 στελέχη) και *Photobacterium damsela* (εξετάστηκαν 2 στα 2 στελέχη).
- από τα 27 αρνητικά στελέχη τα οποία εξετάστηκαν, μόνο ένα βρέθηκε θετικό: *Pseudomonas oryzae* (εξετάστηκε 1 από 1 στέλεχος).

Αριθμός στελεχών	Ευαισθησία CI* (95%)	Ειδικότητα CI* (95%)
92	93,85% (84,98% – 97,62%)	96,30% (81,28% - 99,36%)

* διάστημα εμπιστοσύνης.

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Τα μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια μπορούν να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα.

Απορρίψτε τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια καθώς και οποιαδήποτε άλλα επιμολυσμένα αναλώσιμα υλικά ακολουθώντας τις διαδικασίες για μολυσματικά ή δυνητικώς μολυσματικά προϊόντα.

Αποτελεί ευθύνη κάθε εργαστηρίου να αντιμετωπίζει τα απόβλητα και τα υγρά εκροής που παράγονται σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους, να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

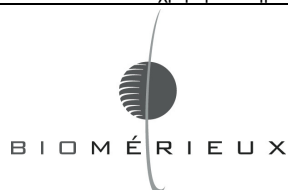
ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΩΝ

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.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

 ή REF	Αριθμός καταλόγου
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Κατασκευαστής
	Περιορισμοί θερμοκρασίας
	Ημερομηνία λήξης
	Αριθμός παρτίδας
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Προστατέψτε από το φως

Το ATCC αποτελεί χρησιμοποιημένο, καταχωρημένο ή/και προστατευόμενο εμπορικό σήμα που ανήκει στην American Type Culture Collection.



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

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



Η bioMérieux και ο κυανός λογότυπος αποτελούν χρησιμοποιημένα, κατατεθειμένα ή/και καταχωρημένα εμπορικά σήματα που ανήκουν στη bioMérieux SA ή μιας εκ των θυγατρικών της.

Oxidas Reagens

Detektion av enzymet cytokromoxidas

IVD

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Detta test används för detektion av produktion av enzymet cytokromoxidas av bakterier. Detta enzym är karakteristiskt för släktet *Neisseria* och för de flesta arter av *Pseudomonas*, vilket möjliggör differentiering av gramnegativa bakterier (1, 2).

METOD

Oxidastestet bygger på den bakteriella produktionen av ett intracellulärt oxidasenzym.

I närvaro av atmosfäriskt syre och cytokrom C oxiderar detta enzym fenyldiamin-reagens och bildar en lilafärgad förening, indofenol.

Reagenset innehåller askorbinsyra som reduktionsmedel för att reducera självoxidation och för att förbättra stabiliteten (6).

Denna formulering grundar sig på Kovacs oxidasreagensformel (3).

KITETS INNEHÅLL

REF 55 635 Reagens färdigt att använda

Kitinnehåll:

- 50 ampuller med 0,75 ml reagens per ampull
- 1 återanvändbar ampullkrossare
- + 1 bipacksedel

INNEHÅLLSDEKLARATION

Teoretisk formel.

Detta reagens kan anpassas enligt nödvändiga kriterier för utförandet.

N,N,N,N-tetrametyl-1,4-fenyldiamin	10,0 g
Askorbinsyra	2,0 g
Avjoniserat vatten	1 L

NÖDVÄNDIGT MATERIEL (SOM INTE MEDFÖLJER)

- Inokuleringsögla (platina eller plast)
- Icke-impregnerade skivor (diameter 6 mm)(Art nr. 54 991)

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- Endast för *in vitro*-diagnostik.
- Endast för professionell användning.
- Alla prover och mikrobiella odlingar ska behandlas som potentiellt infektiösa och ska handhas på lämpligt sätt av utbildad och kompetent personal. Sterilteknik och vanliga försiktighetsåtgärder för att handha den speciella gruppen av bakterier skall iaktas under hela proceduren. Se "NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline* - Aktuell revidering". För ytterligare information angående försiktighetsåtgärder vid hantering, se "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Senaste upplagan", eller de f.n. gällande reglerna i det aktuella landet.
- Använd inte reagenser efter sista förbrukningsdatum.
- Produkten ska inte användas om:
 - färgen ändrats (reagenset är ursprungligen färglöst till ljusgult),
 - förpackningen är skadad,

- det finns andra tecken på försämring (ampullen är sönder).

- Data angående prestanda som presenterats har erhållits med hjälp av den metod som anges i denna bipacksedel. Varje ändring i utförandet kan påverka resultaten.
- Tolkningen av testresultaten skall göras med hänsyn till patientens anamnes, kolonimorfologi och mikroskopisk morfologi och, om nödvändigt, resultat av andra utförda tester.

FÖRVARING

- Förvara reagenser vid 18-25°C i sin förpackning fram till sista förbrukningsdatum.
- Frys inte ned.
- Skydda mot ljus.
- Oxidasreagens självoxiderar snabbt och förlorar sin känslighet. Oanvänd reagens bör kastas efter 12 timmar.

PROVER

Provet består av en isolerad koloni för vilken produktionen av enzymet cytokromoxidas ska detekteras.

Kolonin bör tas från en 18-24-timmar gammal kultur odlad på ett fast agarmedium.

BRUKSANVISNING

Öppnande av ampull:

1. Placera pipetten i den återanvändbara ampullkrossaren.
2. Slå försiktigt på nedre delen av pipetten för att ta bort bubblor som kan ha bildats.
3. Håll i mitten på pipetten/krossaren och tryck försiktigt för att krossa ampullen inuti.

Testprocedur:

1. Dosera **exakt 1 droppe** reagens på den icke-impregnerade skivan (diameter 6 mm) (Art nr. 54 991).
2. Stryk ut kolonin på skivan.

AVLÄSNING OCH TOLKNING

- Ett positivt test uppvisas av att en violett till lila färg utvecklas inom 10-30 sekunder.
- Fördröjd reaktion eller ingen färgutveckling betyder att testet är negativt.

KVALITETSKONTROLL

Protokoll:

Reagensets aktivitet kan testas med följande stammar på Trypcase-Soy-agar:

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

Förväntade resultat:

Stam	Resultat
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Positivt: violett färgutveckling
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Negativt: ingen färgutveckling

Obs:

Det är användarens ansvar att utföra kvalitetskontroll med hänsyn till den planerade användningen av mediet, och i enlighet med lokalt tillämpliga förhållningsregler (frekvens, antal stammar...).

METODENS BEGRÄNSNINGAR

- Oxidastestet bör inte utföras på kolonier erhållna på EMB-agar, CHAPMAN 2 eller kolonier från en 48-timmar gammal odling odlad på fast agarmedia.
- Oxidasdetektion bör inte utföras på isolerade kolonier som visar en spontan färgutveckling (violett, rosa, grön, svart...). I detta fall är avläsning av testet omöjligt.
- Användning av för stora volymer reagens kan leda till falskt negativa resultat. Använd endast en droppe reagens som angivet i bruksanvisning.
- En inokuleringsögla av platina eller plast (7) rekommenderas för användning vid oxidastestning. Förekomst av något spår av järn (nichrome) kan katalysera en oxidationsreaktion, vilket ger en falskt positiv reaktion.
- Kasta återstående del av delvis använt reagens efter 12 timmar.
- Svaga oxidationsproducenter, t.ex. *Pasteurella*, kan ge negativa resultat (4).
- Falskt negativa resultat inträffar om en blandningsodling innehåller de två släktena *Pseudomonas* och *Neisseria*. En inhibitorisk substans bildas av *Pseudomonas spp* vilken interfererar med oxidationsbildningen hos *Neisseria spp*.

PRESTANDA

En studie utfördes på 100 stammar.

Av de 100 stammar som testades ansågs 92 vara oxidationspositiva eller oxidationsnegativa och användes för att räkna ut reagensprestanda: känslighet och specificitet. De andra 8 stammarna ansågs vara oxidationsvariabla (*Bacillus* och *Micrococcus*) och togs inte med i prestandaberäkningarna.

Följande resultat erhöles på basis av denna studie:

- av 65 positiva testade stammar gav 4 ett negativt resultat: *Haemophilus parainfluenzae* (1 av 2 testade stammar), *Pasteurella multocida* (1 av 4 testade stammar) och *Photobacterium damsela* (2 av 2 testade stammar).
- av 27 negativa testade stammar var endast en positiv: *Pseudomonas oryzihabitans* (1 av 1 testad stam).

Antal stammar	Känslighet CI* (95%)	Specificitet CI* (95%)
92	93,85% (84,98% - 97,62%)	96,30% (81,28% - 99,36%)

*konfidensintervall

AVFALLSHANTERING

Oanvända reagenser kan anses som ofarligt avfall och kan avlägsnas därefter.









Avfallshantering av använda reagenser, liksom av andra kontaminerade engångsmaterial, ska ske i enlighet med procedurer för infektiösa eller potentiellt infektiösa produkter.

Det är varje laboratoriums ansvar att handha avfalls- och avloppsprodukter enligt typ och farlighetsgrad och behandla och avlägsna dem (eller få dem behandlade och avlägsnade) i enlighet med alla tillämpliga föreskrifter.

REFERENSLITTERATUR

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.

SYMBOLER

Symboler	Betydelse
 eller REF	Katalognummer
	Medicintekniska produkter för in vitro diagnostik
	Tillverkare
	Temperaturbegränsning
	Använd före
	Lot nummer
	Se handhavandebeskrivningen
	Skyddas mot ljus

ATCC är ett använt, patentsökt och/eller registrerat varumärke som tillhör American Type Culture Collection.



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

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



bioMérieux och den blå logotypen är patentsökta och/eller registrerade varumärken som tillhör och används av bioMérieux SA eller något av dess dotterbolag.

Oxidase Reagent

Detektion af enzymet cytokrom oxidase

IVD

RESUMÉ OG FORKLARING

Denne test benyttes til at detektere bakteriers produktion af enzymet cytokrom oxidase. Dette enzym er karakteristisk for genus *Neisseria* og de fleste species af *Pseudomonas*. Det gør det også muligt at skelne mellem gramnegative baciller (1, 2).

PRINCIP

Oxidasetesten benyttes til at detektere bakteriers produktion af et intracellulært oxidaseenzym.

Ved tilstedeværelse af atmosfærisk ilt og cytokrom C, oxiderer dette enzym fenyldiaminreagenset, og danner en purpurfarvet forbindelse, indofenol.

Askorbinsyre er indeholdt i reagenset som reduktionsmiddel for at reducere autooxidation og forbedre stabiliteten (6).

Dette præparat er baseret på Kovacs oxidasereagensformel (3).

KITTETS INDHOLD

REF 55.635 Brugsklart reagens.

Kit-indhold:

- 50 ampuller med 0,75 ml reagens pr. ampul
- 1 genbrugs-ampulknuser
- + 1 indlægsseddel

SAMMENSÆTNING

Teoretisk sammensætning.

Dette reagens kan justeres og/eller suppleres efter de nødvendige ydelseskriterier.

N,N,N,N-tetrametyl-1,4-fenyldiamin	10,0 g
Askorbinsyre	2,0 g
Af-ioniseret vand	1 L

NØDVENDIGE MEN IKKE MEDFØLGENDE MATERIALER

- Inokulations Slyng (platin eller plast).
- Ikke-imprægnerede skiver (diameter 6 mm) (Ref. 54.991.)

ADVARSLER OG FORSİGTIGHEDSREGLER

- **Kun til *in vitro*-diagnostisk anvendelse.**
- **Kun til professionel brug.**
- Alle prøver og mikrobekulturer skal behandles som potentielt smittefarlige og håndteres korrekt af uddannet og fagligt kompetent personale. Der skal anvendes aseptisk teknik og sædvanlige forholdsregler for håndtering af den undersøgte bakteriekultur gennem hele denne procedure. Se venligst "NCCLS M29-A, Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline – gældende revision". For yderligere oplysninger om forsigtighedsforanstaltninger ved håndtering henvises til "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH, seneste udgave", eller de aktuelt gældende bestemmelser i det aktuelle land.
- Reagenserne må ikke anvendes efter udløbsdatoen.
- Dette produkt bør ikke anvendes, hvis:
 - farven har ændret sig (reagenset er oprindelig farveløst til lysegult),
 - emballagen er beskadiget,
 - der er andre tegn på nedbrydning (knækket ampul)

- De fremlagte præstationsdata blev fundet ved anvendelse af den procedure, der er angivet på denne indlægsseddel. Enhver ændring eller modifikation af denne procedure kan påvirke resultaterne.
- Ved fortolkning af testresultaterne skal der tages højde for patientens sygehistorie, den kolonimæssige og mikroskopiske morfologi samt om nødvendigt resultaterne af eventuelle andre udførte prøver.

OPBEVARINGSBETINGELSER

- **Reagenserne skal opbevares ved 18–25°C i deres æske, indtil udløbsdatoen.**
- Må ikke nedfryses.
- **Beskyttes mod lys.**
- **Oxidasereagenset autooxideres hurtigt og mister sin følsomhed. Ubrugte reagenser bør kasseres efter 12 timer.**

PRØVER

Prøven består af en isoleret koloni, for hvilken dannelse af cytokromoxidaseenzym skal detekteres.

Kolonien bør indsamles fra 18-24 timer gammel kultur, der er dyrket på et fast agarmedium.

BRUGSANVISNING

Åbning af ampullen:

1. Anbring dråbeenheden i flergangs-ampulknuseren.
2. Bank let på bunden af dråbeenheden for at fjerne eventuelle bobler, der kan have dannet sig.
3. Grib fat om midten af dråbeenheden/knuseren og tryk forsigtigt for at knuse ampullen indeni.

Testprocedure:

1. Fordel **nøjagtigt 1 dråbe** reagens på en ikke-imprægneret skive (diameter 6 mm) (Ref. 54.991).
2. Smør kolonien ud på skiven.

AFLÆSNING OG FORTOLKNING

- En positiv test angives ved, at der udvikles en violet til purpur farve i løbet af 10-30 sekunder.
- Forsinkede reaktioner eller ingen farveudvikling er tegn på en negativ test.

KVALITETSKONTROL

Protokol:

Reagensets aktivitet kan testes ved hjælp af følgende stammer dyrket på Trypcasesojaagar:

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

Forventede resultater:

Stamme	Resultater
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Positiv: violet farveudvikling
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Negativ: ingen farveudvikling

Bemærk:

Det er brugerens ansvar at gennemføre Kvalitetskontrol under hensyntagen til den tiltænkte anvendelse af mediet og i overensstemmelse med eventuelle lokalt gældende bestemmelser (frekvens, antal stammer...).

METODENS BEGRÆNSNINGER

- Oxidasetesten bør ikke udføres på kolonier, der er opnået på EMB eller CHAPMAN 2 agar eller på kolonier fra en 48 timer gammel kultur, der er dyrket på et fast agarmedium.
- Oxidasedetektion bør ikke foretages på isolerede kolonier, der udviser en spontan farveudvikling (violet, lyserød, grøn, sort...). I så fald er aflæsning af testen ikke mulig.
- Hvis der anvendes for store mængder reagens, kan det føre til falsk negative resultater. Anvend kun én dråbe reagens som angivet i brugsanvisningen.
- Det anbefales at anvende en inokulations-slynge eller – nål af platin eller plast (7) til brug ved oxidasetestning. Tilstedeværelse af det mindste spor af jern (nikrom) kan katalysere en oxidasereaktion og føre til en falsk positiv reaktion.
- Bortskaf den resterende portion af delvist brugt reagens efter 12 timer.
- Svage oxidasedannere f.eks. *Pasteurella*, kan give negative resultater (4).
- Falsk negative resultater kan forekomme, hvis blandede kulturer indeholder genera *Pseudomonas* og *Neisseria*. *Pseudomonas* spp danner et hæmmende stof, som påvirker *Neisseria* spp's oxidasedannelse.

PRÆSTATIONER

Der blev foretaget en undersøgelse på 100 stammer. Ud af de 100 testede stammer blev 92 beskrevet som oxidase-positive eller oxidase-negative, og disse blev brugt til beregning af reagensets præstation: sensitivitet og specificitet. De øvrige 8 stammer blev beskrevet som oxidase-variable (*Bacillus* og *Micrococcus*) og blev ikke taget i betragtning ved præstationsberegninger.

På basis af denne undersøgelse opnåedes følgende resultater:

- ud af de 65 positive testede stammer gav 4 negative resultater: *Haemophilus parainfluenzae* (1 ud af 2 testede stammer), *Pasteurella multocida* (1 ud af 4 testede stammer) og *Photobacterium damsela* (2 ud af 2 testede stammer).
- ud af de 27 negative testede stammer blev kun en testet positiv: *Pseudomonas oryzihabitans* (1 ud af 1 testet stamme).

Antal stammer	Sensitivitet CI* (95%)	Specificitet CI* (95%)
92	93,85% (84,98% – 97,62%)	96,30% (81,28% - 99,36%)

*konfidensinterval.

BORTSKAFFELSE AF AFFALD

Ubrugte reagenser kan betragtes som ufarligt affald og bortskaffes derefter.








Bortskaf brugte reagenser samt eventuelle andre kontaminerede engangsmaterialer efter procedurer for infektiøse eller potentielt infektiøse produkter.

Det er ethvert laboratoriums ansvar at håndtere det affald og spildevand, der opstår, i overensstemmelse med dets art og grad af farlighed, og at behandle og bortskaffe det (eller få det behandlet og bortskaffet) i henhold til gældende forskrifter.

LITTERATURHENVISNINGER

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.

SYMBOLFORTEGNELSE

REF	Katalognummer
	In vitro-diagnostisk medicinsk udstyr
	Fremstillet af
	Temperaturbegrænsning
	Anvendes før
	Batch-kode
	Se brugsanvisning
	Beskyttes mod lys

ATCC er et anvendt, under registrering og/eller registreret varemærke tilhørende American Type Culture Collection



 **bioMérieux® SA**
au capital de 12 029 230 €
673 620 399 RCS LYON

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



bioMérieux og det blå logo er anvendte, under registrering og/eller registrerede varemærker tilhørende bioMérieux SA eller et af dets datterselskaber.

Odczynnik do wykrywania oksydazy

IVD

Wykrywanie enzymu oksydazy cytochromowej

WPROWADZENIE

Test służący do wykrywania wytwarzania przez bakterie enzymu oksydazy cytochromowej. Enzym ten jest charakterystyczny dla rodzaju *Neisseria* i większości gatunków *Pseudomonas*. Pozwala na różnicowanie pałeczek Gram (-) (1, 2).

ZASADA DZIAŁANIA

Test na oksydazę oparty jest na wykrywaniu wytwarzania przez bakterie wewnątrzkomórkowego enzymu katalizującego reakcję utleniania.

W obecności tlenu atmosferycznego i cytochromu C, enzym ten utlenia odczynnik fenylodiaminę do formy zabarwionej na purpurowo indofenolu.

Dodatek do odczynnika kwasu askorbinowego jako czynnika redukującego obniża jego samoutlenianie oraz poprawia stabilność (6).

Test jest oparty na przepisie na odczynnik Kovacs'a do oznaczania oksydazy (3).

ZAWARTOŚĆ ZESTAWU

REF 55 635 Odczynnik gotowy do użycia

Zawartość zestawu:

- 50 ampulek z 0.75 ml odczynnika w każdej
- 1 przyrząd wielokrotnego użytku do otwierania ampulek
- + 1 instrukcja

SKŁAD

Teoretyczna zawartość składników.

Odczynnik ten można dostosowywać zgodnie z wymaganymi kryteriami.

N,N,N,N-tetrametylo-1,4- fenylodiamina	10,0 g
Kwas askorbinowy	2,0 g
Woda dejonizowana	1 L

WYPOSAŻENIE WYMAGANE NIE NALEŻĄCE DO ZESTAWU

- Ezy (platynowe lub plastikowe).
- Czyste krążki bibułowe (średnica 6 mm) (Ref. 54 991).

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- **Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.**
- **Do wykorzystania wyłącznie przez profesjonalistów.**
- Wszystkie próbki pobrane od pacjentów i hodowle bakteryjne są potencjalnie zakaźne i powinien nimi operować wyszkolony i kompetentny personel. Należy stosować techniki aseptyczne i zwykłe procedury obowiązujące przy pracy ze szczepami bakteryjnymi zgodnie z "NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline* – Bieżąca wersja". Dodatkowe środki ostrożności zawarte są w "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH, Ostatnie wydanie", lub regulowane przepisami właściwymi dla poszczególnych państw.
- Nie używać odczynników przeterminowanych.

- Produktu nie należy używać jeśli:
 - zmienił kolor (odczynnik jest pierwotnie bezbarwny do blado żółtego),
 - opakowanie jest uszkodzone,
 - są jakiegokolwiek inne oznaki utraty pierwotnych właściwości (połknięta ampulka)
- W celu osiągnięcia odpowiednich wyników należy stosować procedurę zawartą w opakowaniu. Każda modyfikacja procedury może wpływać na wyniki.
- W interpretacji wyników testu należy wziąć pod uwagę historię choroby pacjenta, miejsce pobrania materiału, makro- i mikroskopową morfologię oraz jeśli będzie konieczne, wyniki innych przeprowadzonych testów.

PRZECHOWYWANIE

- **Produkt należy przechowywać w oryginalnych opakowaniach w temperaturze 18°C-25°C.**
- Nie zamrażać.
- **Chronić przed światłem.**
- **Odczynnik do oznaczania oksydazy szybko ulega autoutlenieniu i traci swoją czułość. Niezużyty odczynnik należy wyrzucić po 12 godzinach.**

MATERIAŁ DO BADAŃ

Materiał do badań stanowią wyizolowane kolonie, dla których chce się oznaczyć wytwarzanie enzymu oksydazy cytochromowej.

Kolonie należy zebrać z 18-24-godzinnej hodowli z podłoża stałego.

SPOSÓB WYKONANIA

Otwieranie ampulek:

1. Umieścić kroplomierz ampulki w przyrządzie do otwierania.
2. Trzymając ampulkę w pionowej pozycji delikatnie popukać w dno, aby pozbyć się ewentualnych pęcherzyków powietrza.
3. Ująć ampulkę po środku nałożonej nasadki łamiącej między kciuk i palec wskazujący. Następnie naciskając lekko od siebie końcówkę nasadki, złamać ampulkę.

Procedura testu:

1. Nakropić **dokładnie 1 kroplę** odczynnika na czysty krążek bibułowy (średnica 6 mm) (Ref. 54 991).
2. Rozprowadzić kolonię na krążku.

ODCZYT I INTERPRETACJA

- Na wynik pozytywny wskazuje pojawienie się barwy od fioletowej do purpurowej w ciągu 10-30 sekund.
- Późniejsza reakcja lub brak zabarwienia wskazuje na wynik negatywny.

KONTROLA JAKOŚCI

Protokół:

Aktywność odczynnika można ocenić przy użyciu następujących szczepów wyhodowanych na agarze tryptozowo-sojowym:

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

Zakres spodziewanych wyników :

Szczep	Wyniki
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Dodatni: kolor fioletowy
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Ujemny: brak zabarwienia

Uwaga :

Obowiązkiem użytkownika jest prowadzenie kontroli jakości biorąc pod uwagę zamierzony sposób wykorzystania podłoża i zgodność z lokalnymi przepisami (częstośćliwość, liczba szczepów...).

OGRANICZENIA TESTU

- Testu na oksydazę nie należy wykonywać z 48-godzinnych kolonii wyhodowanych na agarze EMB lub CHAPMAN 2, które wyrosły na podłożach stałych.
- Do testu na oksydazę nie należy używać wyizolowanych kolonii, które wykazują spontaniczne zabarwienie (fioletowe, różowe, zielone, czarne...). W tym przypadku odczyt testu jest niemożliwy.
- Używając zbyt dużą ilość odczynnika można otrzymać wyniki fałszywie ujemne. Stosuje się tylko jedną kroplę odczynnika, jak to podano w sposobie wykonania testu.
- Do wykonania testu poleca się używać ez lub igieł platynowych albo plastikowych (7). Obecność nawet śladów żelaza (chromu) może katalizować reakcję utleniania i dawać fałszywie dodatnie wyniki.
- Należy wyrzucić pozostałą część odczynnika po 12 godzinach.
- Bakterie wytwarzające małe ilości oksydazy np. *Pasteurella*, mogą dać wynik ujemny (4).
- Fałszywie ujemne wyniki mogą pojawić się przy mieszanej hodowli dwóch rodzajów *Pseudomonas* i *Neisseria*. *Pseudomonas* spp produkuje substancję, które hamują wytwarzanie oksydazy przez *Neisseria* spp.

OCENA TESTU

Badania przeprowadzono na 100 szczepach. Ze 100 przebadanych szczepów 92 były opisane jako oksydazo-ujemne lub –dodatnie i użyte zostały do oceny przydatności testu: czułości i swoistości. Pozostałe 8 szczepów, opisywanych jako oksydazo-zmienne (*Bacillus* i *Micrococcus*) nie brano w ocenę pod uwagę.

W wyniku tych badań otrzymano następujące wyniki:

- z 65 badanych dodatnich szczepów, 4 dały ujemne wyniki: *Haemophilus parainfluenzae* (1 z 2 badanych szczepów), *Pasteurella multocida* (1 z 4 badanych szczepów) i *Photobacterium damsela* (2 z 2 badanych szczepów).
- z 27 badanych ujemnych szczepów, tylko jeden dał wynik dodatni: *Pseudomonas oryzihabitans* (1 na 1 badany szczep).

Liczba szczepów	Czułość Pu* (95%)	Specyficzność Pu* (95%)
92	93.85% (84.98% – 97.62%)	96.30% (81.28% - 99.36%)

* Poziom ufności.

POSTĘPOWANIE ZE ZUŻYTYMI TESTAMI

Niezużyty odczynnik należy traktować jako bezpieczny biologicznie i utylizować zgodnie z tym wskazaniem.


Zużytych odczynników, jak i zanieczyszczonych sprzętów jednorazowych, należy pozbywać się zgodnie z procedurami dla materiałów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych.

Obowiązkiem każdego laboratorium jest pozbywanie się zużytych testów i wytworzonych ścieków w zależności od ich typu i stopnia zabezpieczenia laboratorium oraz dezynfekowanie ich i usuwanie (zlecenie dezynfekcji i usuwania) zgodnie z zatwierdzonymi procedurami.

PIŚMIENNICTWO

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.

TABELA SYMBOLI

Symbol	Znaczenie
 lub REF	Numer katalogowy
	Wyrób do diagnostyki In Vitro
	Producent
	Przestrzegać zakresu temperatury
	Użyć przed
	Kod partii
	Sprawdź w instrukcji obsługi
	Chronić przed światłem

ATCC jest znakiem towarowym używanym, w trakcie rejestracji lub zastrzeżonym, należącym do American Type Culture Collection.



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

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


Wydrukowano w
France

bioMérieux i jego niebieskie logo są znakami towarowymi używanymi, w trakcie rejestracji i/lub zastrzeżonymi, należącym do bioMérieux SA lub jednego z przedstawicieli.