

VERWENDUNGSZWECK

Das TestOxidase™ Reagenz ist ein qualitatives Verfahren zum Nachweis der bakteriellen Zytochromoxidase.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Zytochrome sind häm-haltige Proteine und oxidative Enzyme in der Atmungskette von Bakterien, die ungebundenen Sauerstoff als terminalen Elektronenakzeptor nutzen. Das TestOxidase™ Reagenz reagiert mit oxidiertem Zytochrom C und bildet einen Farbkomplex. Der Test ist daher positiv für Bakterien, die Zytochrom C als Teil ihrer Atmungskette enthalten, und ist negativ für Bakterien, die kein Zytochrom C aufweisen.

TESTPRINZIP

Das TestOxidase™ Reagenz beruht auf der Oxidation von Tetramethyl-p-Phenylendiamin durch Bateriazytochrom bei Vorhandensein von Luftsauerstoff zur Bildung einer purpurfarbenen Verbindung (Wurster-Blau).

REAGENZIEN

Das TestOxidase™ Reagent PL.390 von PRO-LAB wird als stabiles, flüssiges Reagenz mit einem Volumen von 15 ml in einem opaken Tropfenspender geliefert. Die Menge an Tetramethyl-p-Phenylendiamin in jedem Fläschchen reicht aus für 400 Tests.

FORMEL

0,3% N,N,N'- Tetramethyl-p-Phenylendiamin in 0,003 M Puffer mit Reduktionsmitteln und organischen Stabilisatoren.

VORSICHTSHINWEISE

- Das TestOxidase™ Reagenz PL.390 von Pro-Lab ist ausschließlich für die Verwendung in der *in vitro*-Diagnose bestimmt.
- Das TestOxidase™ Reagenz nach Ablauf des auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr einsetzen.
- Kontakt mit Haut, Augen und Kleidung vermeiden.
- Reagenz sollte farblos, trüb oder leicht getönt sein. Nicht verwenden, wenn das TestOxidase™ Reagenz eine purpurne Farbe hat.
- Während und nach der Verwendung sollten alle Materialien entsprechend den Richtlinien der guten Laborpraxis behandelt werden; außerdem muss stets beachtet werden, dass alle estmaterialien bei Nichtbeachten dieser Richtlinien möglicherweise biogefährdend sind.
- Alle in dieser Testanleitung enthaltenen Hinweise zur Testdurchführung und -aufbewahrung sowie zu Vorsichtsmaßnahmen und Verfahrenseinschränkungen müssen genau befolgt werden, um gültige Ergebnisse zu erzielen.

AUFBEWAHRUNG

Das TestOxidase™ Reagenz PL.390 von Pro-Lab in der Originalpackung in einem Raum mit kontrollierten Temperaturbedingungen (15°-30°C) aufbewahren. Nicht einfrieren oder starker Hitze aussetzen. Vor Lichteinfall schützen. Den Schraubverschluss fest verschlossen halten. Das unter diesen Bedingungen gelagerte Produkt ist bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT GELIEFERTER MATERIALIEN

- Impföse.
- Filterpapierstreifen oder -pads.
- Inkubator.
- Ergänzungsmedien.
- Organismen zur Qualitätskontrolle.
- Wattestäbchen

VERFAHREN

Klinische Proben sollten auf ein geeignetes Isolationsmedium übertragen werden, um gut definierte, isolierte Kolonien für den Test zu erhalten. Es sollten nur frische Isolate (18-24 Stunden alt) verwendet werden, da ältere Kulturen oder abgebautes Medium zu falschen Ergebnissen führen kann.

1. Direkte Methode (mit Kolonien):

- Einen Tropfen TestOxidase™ Reagenz zu einer gut isolierten Kolonie auf der Oberfläche des empfohlenen Agarmediums geben.
- Die Kolonie 30 Sekunden lang hinsichtlich eines Farbwechsels beobachten. (Bringt das Testisolat sehr mukoide oder schleimige Kolonien hervor, kann die Farbentwicklung bis zu 1 Minute dauern).

2. Filterpapiermethode:

- 1-2 Tropfen des TestOxidase™ Reagenz auf ein Stück Filterpapier passender Größe geben. 1-2 Minuten warten, bis sich das Reagenz richtig verteilt hat.
- Nehmen Sie mithilfe eines hölzernen Mischstäbchens oder einer Einweg-Impföse (Nickelchromdrahtösen sind nicht empfehlenswert) eine Kolonie mittlerer Größe von der Oberfläche des empfohlenen Agarmediums auf und reiben Sie das Inokulum auf den mit dem Reagenz gesättigten Bereich des Filterpapiers.
- Das Filterpapier 30 Sekunden lang hinsichtlich eines Farbwechsels beobachten.

3. Wattestäbchen-Methode:

- Nehmen Sie mit einem Wattestäbchen eine mittelgroße Kolonie von der Oberfläche des Agar-Nährbodens.
- Geben Sie 1 bis 2 Tropfen des Reagenzstoffs TestOxidase™ auf die Kultur auf dem Wattestäbchen.
- Beobachten Sie, ob sich innerhalb von 30 Sekunden die Farbe des Wattestäbchens ändert.

QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Qualitätskontrolle im Labor werden folgenden Referenzstämme empfohlen:

Organismus	Erwartete Ergebnisse
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922/NCTC 12241	Negativ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853/NCTC 12934	Positiv

Alternativer / Zusätzlicher Referenzstrang:

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25668/NCTC 10662	Positiv
---	---------

Jede Charge des TestOxidase™ Reagenz wird bei Pro-Lab einer Qualitätskontrolle unterzogen.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Negative Reaktion: Abwesenheit einer eindeutig blauen oder purpurnen Farbe.






Positive Reaktion: Bildung einer eindeutig blauen oder purpurnen Farbe.



VERFAHRENS-EINSCHRÄNKUNGEN

- Das TestOxidase™ Reagenz PL.390 von Pro-Lab ist ausschließlich für die VERWENDUNG IN DER IN VITRO-DIAGNOSTIK bestimmt und sollte von geschultem Personal verwendet werden.
- Ergebnisse, die von Ergebnissen anderer biochemischer Reaktionen abweichen oder nicht dem erwarteten Organismus entsprechen, sollten wiederholt werden.
- Bei widersprüchlichen Ergebnissen sollten weitere Testverfahren zur Auflösung herangezogen werden.

QUELLEN

- Kovacs, N. 1956. Nature 178:703.
- Cowan, S.T. and K.J. Steel. 1966. Manual for the Identification of Medical Bacteria, Cambridge University Press, S.22 & 148-149.
- Steel, K.J. 1962. J. Appl. Bacteriol. 25:445.
- Steel, K.J. 1961. J. Gen. Microbiol. 25:297.
- Lennette, E.H., A. Balows, W.J. Hausler Jr. and H.J. Shadomy. 1985. Manual of Clinical Microbiology, 4. Auflage.

	= Hersteller
	= Autorisierter Repräsentant in der Europäischen Gemeinschaft
	= Medizinprodukt für die <i>in vitro</i> Diagnostik.
	= Temperaturbegrenzung
	= Beachten Sie die Gebrauchsanleitung

EU	F	Xi	Leichtentzündlich, Reizend
			R11 - Leichtentzündlich. R36 - Reizt die Augen. R67 - Dämpfe können Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.

Bei diesen Anleitungen handelt es sich um eine Fachübersetzung der englischen Originalversion. Bei Unklarheiten oder offensichtlichen Abweichungen wenden Sie sich bitte an Pro-Lab.

Revision: 2013 01

