

# Oxidase Reagent

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 in g/l d' acqua purificata.

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

N,N,N,N-tetrametil-1,4-fenilendiamina .....	10,0
Acido ascorbico .....	2,0

## 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* - December 1997". Per informazioni complementari sulle precauzioni nella manipolazione, fare riferimento a "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS Publication No. (CDC) 93-8395, 3rd Edition (May 1993)", oppure alla legislazione vigente nei paesi di utilizzazione.
- 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.**

## ECHANTILLONS

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, 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.

**SOLO A SCOPO INFORMATIVO  
NON PER USO APPLICATIVO**

**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	Codice del prodotto
IVD	Per diagnostica "in vitro"
	Prodotto da
	Conservare a X - Y°C
	Data di scadenza
LOT	Numero di lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Conservare al riparo della luce