



بهار افشان

## معرف‌های آزمایش VP VOGES-PROSKAUER

### اصول آزمایش

Voges-Proskauer مرکب از نام دو میکروپزشناس است که در قرن بیستم بر روی روش این آزمایش کار کردند. اسیدپروویک یکی از محصولات فرایند تخمیر گلوکز است. این محصول حد واسط در باکتری‌های گوناگون، بسته به سیستم آنزیمی آنها، به محصولات نهایی مختلفی متابولیزه می‌شود. در مسیر بوتیلن گلیکول، اسید پروویک به استوئین (استیل متیل کربونیل) تبدیل می‌شود که از نظر pH خنثی بوده و در حضور اکسیژن و هیدروکسید پتاسیم ۴۰٪ به دی‌استیل تبدیل شده و آلفانفتول به‌عنوان یک کاتالیزور، ترکیب قرمز رنگی ایجاد می‌کند.

### کاربرد آزمایش

#### الف) افتراق بین جنس‌ها

۱. گروه کلبسیلا، انتروباکتر، هافنیا و سراشیا (+)
۲. کلبسیلا پنومونیه ساب اسپس پنومونیه (+) و انتروباکتر (معمولاً +) از ایکلای (-)
۳. استافیلوکوک (معمولاً +) از میکروکوک (-)

۳. بعد از افزودن معرف‌ها، نتیجه آزمایش نباید پس از یک ساعت قرائت شود. زیرا ارگانسیم‌های VP منفی ممکن است رنگ مسی ایجاد نمایند که نتیجه مثبت کاذب است.

### نگهداری و پایداری

۱. معرف‌ها را در سرمای یخچال (۲-۸°C) و به دور از نور و رطوبت نگهداری کنید.
۲. در صورت وجود هرگونه آلودگی و کم‌رنگ‌بودن معرف‌ها از مصرف آن خودداری نمایید.
۳. این محلول تا زمان یاد شده بر روی قطره‌چکان پایدار است.

### مرجع

1. Mac Faddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. th ed. Williams and wilkins, Baltimore, MD.

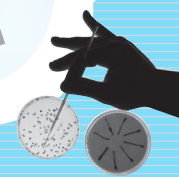
### علائم جهانی مربوط به فرآورده‌های تشخیص آزمایشگاهی

<b>IVD</b>	<i>in-vitro</i> diagnostic use only
<b>REF</b>	Product Code
<b>LOT</b>	Lot Number
تاریخ پایداری	Use by/ Expiry date
درجه حرارت نگهداری فرآورده	Store at
برای روش استفاده فرآورده با ساندن تماس بگیرید	Consult instructions for use

تهران، خیابان کارگر شمالی، نرسیده به پمپ‌بنزین، ساختمان آزمایشگاه بهار  
شماره ۱۶۲۷، صندوق پستی: ۷۶۸-۱۳۱۸۵  
تلفن: ۸۸۹۶۶۲۴۴-۸۸۹۶۱۸۶۹-۸۸۹۶۴۲۵، نمابر: ۸۸۹۶۴۲۵



بهار افشان



### ب) افتراق در گونه‌های مختلف

۱. کلبسیلا پنومونیه سباب اسپس پنومونیه (+) کلبسیلاکسی توکا (+)، کلبسیلاپلنتی کولا (+) و کلبسیلا تریچنا (+) از کلبسیلا پنومونیه سباب اسپس ازونه (-) و کلبسیلا پنومونیه سباب اسپس رینو اسکلر و مائیس (-).
۲. در استرپتوکوک‌های ویرندنس شایع: استرپتوکوک موتانس (+)، استرپتوکوک گروه میلیری (V)، استرپتوکوک بویس (+) و استرپتوکوک سالیو اریوس (V معمولاً +) از استرپتوکوک سانجیوس (-) و استرپتوکوک میتیس (-).

### ج) تشخیص

۱. هافنیا آلوتی: در  $25^{\circ}\text{C}$ – $22^{\circ}\text{C}$  (+)، در  $37^{\circ}\text{C}$  (V)
۲. برسینیا انتروکولیتیکا: در  $25^{\circ}\text{C}$ – $22^{\circ}\text{C}$  (V معمولاً +)، در  $37^{\circ}\text{C}$  (-)
۳. همه گونه‌های لیستریا: MR+ /VP+

### معرف‌ها

۱. معرف A: آلفا نفتول ۵٪
۲. معرف B: هیدروکسید پتاسیم ۴۰٪

### روش انجام آزمایش

توضیح: انجام دقیق مراحل بسیار مهم است و از جواب‌های منفی کاذب جلوگیری می‌کند.

۱. از کشت خالص ۲۴–۱۸ ساعته باکتری موردنظر روی KIA یا TSI به مقدار کم، در  $5\text{mL}$  محیط MR-VP تلقیح کنید و آن‌را حداقل به مدت ۲۴ ساعت در  $35^{\circ}\text{C}$  انکوبه نمایید.
۲. معرف‌های VP را مستقیماً به برات اضافه نمایید: ابتدا  $0.3\text{mL}$  معرف A سپس  $0.1\text{mL}$  معرف B. در صورت استفاده از قطره‌چکان کیت جهت پاسخ مناسب و ایجاد رنگ قرمز در مدت ۳۰–۱۵ دقیقه ۱۵ قطره از معرف A و ۵ قطره معرف B استفاده شود. لازم به ذکر است که این مقادیر برای حجم  $2/5$  از محیط VP تنظیم شده است.
۳. لوله را به آرامی به مدت ۳۰ ثانیه ۱ تا دقیقه تکان دهید، تا محیط برای اکسید شدن استوتین و ایجاد واکنش رنگی در معرض اکسیژن هوا قرار گیرد.

۴. اجازه دهید لوله حداقل به مدت ۱۵ دقیقه به حالت ایستاده در دمای محیط باقی بماند.
۵. در صورت انجام روش استاندارد رنگ قرمز پس از حدود ۱۵ دقیقه دیده شده و تا یک ساعت افزایش می‌یابد.
۶. کم کردن مقادیر توصیه شده باعث ایجاد رنگ ضعیف صورتی خواهد شد که ممکن است باعث تفسیر غلط آزمایش در افراد کم تجربه و یا واکنش‌های منفی کاذب شود.

### تفسیر آزمایش

- الف) واکنش VP مثبت: ایجاد رنگ قرمز در سطح محیط (حضور استوتین).  
ب) واکنش VP منفی: ایجاد رنگ زرد در سطح محیط (همان رنگ معرف).  
گاهی ممکن است رنگ مسی ایجاد شود که یک واکنش منفی است.

### کنترل کیفی

- هر شماره ساخت جدید محیط و معرف و حداقل یک بار در هر هفته کاری باید با سویه‌های کنترل مثبت و منفی کنترل کیفی شود:  
سویه کنترل مثبت: Enterobacter cloacae ATCC 13047  
سویه کنترل منفی: Escherichia coli ATCC 25922  
مشخصات ظاهری معرف: معرف A شفاف و قهوه‌ای رنگ است. معرف B شفاف و بی‌رنگ می‌باشد.

### محدودیت‌ها

۱. بعضی از کارکنان آزمایشگاه به اشتباه تصور می‌کنند ارگانیسمی که VP مثبت است، MR منفی می‌باشد یا برعکس. این صحیح است که واکنش‌های MR و VP در اغلب اعضای خانواده انتروباکتریاسه برعکس یکدیگر می‌باشند، اما بعضی ارگانیسیم‌ها مثل H.alvei (وقتی در  $30^{\circ}\text{C}$  انکوبه می‌شوند) و P.mirabilis ممکن است هم MR مثبت و هم VP مثبت باشند. اگر هافنیا آلوتی مطرح باشد، آزمایش VP را در  $25^{\circ}\text{C}$ – $22^{\circ}\text{C}$  تکرار نمایید.
۲. ترتیب اضافه کردن معرف‌ها بسیار مهم است. ابتدا آلفانفتول را اضافه نمایید، سپس پتاس. برعکس کردن ترتیب افزودن معرف‌ها نتیجه ضعیف یا منفی کاذب ایجاد می‌کند.

