

مراجع

- Elmer W.Koneman, *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, Copyright 1997 by Lippincot-Raven Publishers.
- Jean F.MacFaddin, *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*, Copyright 2000 Lippincot Williams & Wilkins.
- NCCLS. Approved Guideline, M 35-A. Vol.22 No.18. 2002, Abbreviated Identification of Bacteria and Yeast.



معرف کواکس

Kovac's Reagent



کاربرد معرف کواکس

معرف کواکس (P-dimethylaminobenzaldehyde) برای ارزیابی وجود اندول در آزمون اندول مورد استفاده قرار می‌گیرد. آزمون اندول برای تعیین قابلیت باکتری‌ها در تجزیه اسید آمینه تریپتوфан به اندول می‌پاشد. محلول کواکس به روش ساده و تک مرحله‌ای برای آزمون افتراقی اندول که آزمون مهمی در شناسایی اعضای خانواده انتروباکتریا سے می‌پاشد، به کار می‌رود. مخصوصاً در جداسازی *Escherichia Coli* که اندول مثبت است از اعضای گروه *Hafnia-Serratia-Klebsiella-* و *Enterobacter* که اکثر آن دول منفی می‌باشند.

اصول آزمایش

باکتری‌هایی که آنزیم تریپتوفاناز تولید می‌کنند، تریپتوfan موجود

علام جهانی مربوط به فرآورده‌های تشخیص آزمایشگاهی

IVD	فقط برای مصرف در آزمایشگاه	in-vitro diagnostic use only
REF	شماره سفارش فرآورده	Product Code
LOT	شماره ساخت فرآورده	Lot Number
تاریخ پایداری	درجه حرارت نگهداری فرآورده	Use by/ Expiry date
برای روش استفاده فرآورده با	سازاندۀ تماس مکرر	Store at
		Consult instructions for use



* **واکنش منفی (-):** عدم ایجاد رنگ قرمز و باقی ماندن رنگ اولیه معرف (زرد)، که نشان دهنده عدم وجود اندول است.

* **واکنش متغیر (±):** ایجاد رنگ نارنجی، که نشان دهنده وجود متیل اندول (یک ترکیب بیتابینی) می‌باشد.



کنترل کیفی

هر فرآورده جدید از معرف کوآکس و همچنین به صورت هفتگی باید با سویه‌های کنترل مثبت و منفی آزمایش شود. در صورتی که با ارگانیسم‌های کنترل مثبت واکنش ضعیف یا منفی ایجاد نماید، باید دور اندخته شود.

* سویه کنترل مثبت: *Escherichia coli* ATCC 25922

* سویه کنترل منفی: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883

نگهداری و پایداری معرف کوآکس

هر قطره چکان حاوی ۱۰ میلی لیتر معرف کوآکس است. این محلول تا زمان یاد شده بر روی قطره چکان پایدار است. معرف کوآکس را در یخچال (۲-۸°C) و دور از نور نگهداری نمایید.

* نکته: معرف کوآکس به شکل طبیعی به رنگ کهربایی است، در صورتی که رنگ محلول به قهوه‌ای تیره گراید، از به کارگیری آن خودداری کنید.

* هشدار: این محلول شدیداً سوزاننده و مسموم است هنگام استفاده از آن دقت فرمایید. در صورت تماس با پوست بدن، محل آلوگری را با حجم زیادی از آب بشویید.

در محیط کشت راهیدرولیز و دامینه کرده و ایجاد اندول، پیروویک اسید و آمونیوم می‌نمایند. آزمون اندول براساس واکنش اندول با گروه آلدئیدی پارادی متیل آمینو بنزالدئید (معرف کوآکس) و ایجاد ترکیب قرمز رنگ می‌باشد. برای انجام یک آزمایش از یک محیط غنی از تریپتوفان مثل Indole Nitrate, Tryptophan or Pepton Broth از تریپتیکase broth (TSB) Sulphide Indole Motility (SIM), Motility Indole Ornithine (MIO) استفاده می‌شود.

جهت انجام آزمون اندول برای باکتری‌های سخت رشد (مانند گونه‌های هموفلوس و باسیل‌های گرم منفی غیرتخمیری (مانند گونه‌های فلاورو باکتریوم) که تولیدکننده مقادیر کمی از اندول هستند. اغلب از محیط Typticase broth (TSB) استفاده می‌شود.

روش انجام آزمایش

۱. باکتری ۱۸-۲۴ ساعته مورد نظر را در یکی از محیط‌های فوق تلقیح کرده، آن را به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۵°C انکوبه نمایید.

۲. پس از پایان این زمان ۵ الی ۱۰ قطره معرف کوآکس را مستقیماً به محیط اضافه نمایید.

۳. برای باکتری‌های سخت رشد و باسیل‌های گرم منفی غیرتخمیری جهت استخراج مقادیر کم اندول ابتدا بر روی کشت ۴۸ ساعت باکتری در محیط TSB، یک میلی لیتر گریلن (Xylene) افزوده و آن را خوب بهم می‌زنیم و پس از چند دقیقه حدود ۰/۵ml از معرف را به آن می‌افراییم.

تفسیر آزمایش

* **واکنش مثبت (+):** ایجاد حلقه قرمزرنگ در سطح محیط در مدت چند ثانیه بعد از افروزدن معرف، که نشان دهنده وجود اندول می‌باشد.

