

Il test dell'**ossidasi**

Obiettivo Realizzare il test dell'ossidasi su campioni batterici per identificare i microrganismi che possiedono l'enzima citocromo ossidasi e sono in grado di utilizzare l'ossigeno come accettore finale di elettroni nella respirazione aerobia.

Autore Assunta Croce, PhD



Materiali e reagenti

- Ceppi batterici da testare in piastra
- Piastre Petri sterili
- Pinzette
- Micropipette
- Puntali
- Acqua distillata sterile
- Oxidase test strips, striscette di carta imbibite con N,N,N',N'-Tetrametil-p-fenilendiamina dicloridrato ed essiccati



Strumenti

- Cappa a flusso laminare
- Micropipette



Sicurezza

- Camice
- Guanti



Tempo

30 minuti circa



Procedimento

1. Predisporre tante strisce di carta Oxigen test strips quanti sono i ceppi batterici da analizzare e disporli su una piastra Petri aperta che funge da supporto.
2. Con un puntale sterile, trasferire un paio di gocce di acqua distillata sterile sulla striscia per inumidirla.
3. Con un puntale sterile toccare la colonia da testare e strisciarla sulla porzione di carta inumidita.
4. Esaminare l'area strisciata con i batteri entro 30 secondi. Gli organismi ossidasi positivi daranno luogo a una reazione chimica che svilupperà colore grigio-blu. La colorazione sarà invece assente nei batteri ossidasi-negativi.
5. Procedere con i punti 2, 3 e 4 per tutte le colonie da analizzare.

Note

- I batteri che posseggono l'enzima citocromo ossidasi, in presenza di ossigeno, ossidano il substrato contenuto nella striscia (*N,N,N',N'*-Tetrametil-*p*-fenilendiamina dicloridrato), che allo stato ridotto è incolore mentre allo stato ossidato è colorato (blu-violetto).
- Per questa attività sperimentale sono state utilizzate le strisce reattive Oxidase Test Strips di Biolife Italiana (codice articolo 191040ST). In commercio esistono tante soluzioni equivalenti come ad esempio Oxidase Test dischi (codice articolo O.80259) di Microbiol Diagnostici, oppure Ossidasi Dischi (codice articolo 538349) di Bio-Rad.