

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
- Puntali
- Acqua distillata sterile
- Oxidase Test Strips, striscette di carta imbibite con N,N,N',N'-Tetrametil-p-fenilendiamina dicloridrato ed essiccate



Strumenti

- Cappa a flusso laminare
- Micropipette



Sicurezza

- Camice
- Guanti



Tempo

30 minuti circa



Procedimento

- 1.** Predisporre tante strisce di carta Oxidase Test Strips quanti sono i ceppi batterici da analizzare e disporle 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.