

فرم: دستورالعمل کواگولاز صفحه: ۱ از ۳	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۷/۲۲ شماره سند:
بخش استقرار: میکروبیشناسی		محدوده توزیع: تضمین کیفیت

دستورالعمل آزمایش کواگولاز

هدف:

تست کواگولاز برای افتراق استافیلوکوک اورئوس (مثبت) که تولید کننده آنزیم کواگولاز می باشد از استافیلوکوک اپیدرمیس و استافیلوکوک ساپروفیتیکوس که سازنده آنزیم کواگولاز نیستند انجام میگیرد.

اقدامات وابسته :

قبل از انجام آزمایش پلاسمای خرگوش با سوش های استاندارد کنترل کیفی شود.

اصول تست کواگولاز :

کواگولاز یک پروتئین شبه آنزیم بوده و باعث لخته شدن پلاسما با تبدیل فیبرینوژن به فیبرین می گردد.

استافیلوکوک اورئوس دو فرم از کواگولاز تولید میکند.

۱-باند (پروتئین مرتبط با دیواره سلولی)

۲-کواگولاز آزاد (آنزیم خارج سلولی)

وسایل مورد نیاز :

-پلاسمای خرگوش دهیدراته ،حاوی ماده ضد انعقاد EDTA
-لام

-لوله آزمایش

-چراغ مطالعه

-انکوباتور ۳۷ درجه

روش انجام کار :

الف-روش کواگولاز روی لام :

(۱) ۱۰ لاند آب مقطر استریل را در مرکز لام شیشه ای قرار دهید.

فرم: دستورالعمل کواگولاز صفحه: ۲ از ۳	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۷/۲۲ شماره سند:
بخش استقرار: میکروبیشناسی		محدوده توزیع: تضمین کیفیت

۲) چند کلنی تازه از ارگانیسم مورد نظر را به صورت یکنواخت در قطره آب حل کنید تا سوسپانسیون یکنواخت شیری رنگی ایجاد شود.

۳) ۱-۳ ul پلاسمای خرگوش EDTA دار را به سوسپانسیون اضافه کنید و بلافاصله clumping را بررسی نمایید.

تفسیر:

نتیجه مثبت: ظاهر شدن آگلوتیناسیون سلولهای باکتری بعد از اضافه کردن پلاسما

نتیجه منفی: عدم آگلوتیناسیون

ب-روش کواگولاز لوله ای :

۱) لوله حاوی ۰/۵ml پلاسمای خرگوش را به دمای ۲۵ درجه سانتی گراد برسانید .

۲) یک کلنی از ارگانیسم رشد کرده برروی یک محیط غیر مهار کننده را به لوله حاوی پلاسما اضافه نمایید.

۳) لوله رابه مدت ۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد انکوبه کنید هر یک ساعت یک بار لوله را از نظر ایجاد لخته بررسی نمایید لوله را در حین مشاهده تکان ندهید و برای دیدن لخته آنرا به آرامی کج کنید.

۴) اگر لخته ای مشاهده نشد، لوله را در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار دهید و بعد از ۲۰ ساعت دوباره آنرا بررسی نمایید.

توجه: لوله را برای مدت بیش از ۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد قرار ندهید زیرا فیبرینو لیزین موجود در *S.aureus* لخته ایجاد شده را لیز می کند.

۵) اگر آزمایش کلا در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انجام شود ممکن است لخته دیرتر تشکیل گردد. ولی آزمایش دارای حساسیت بیشتری خواهد بود

تفسیر:

نتیجه مثبت: تشکیل لخته کامل یا هر میزان لخته قبل از ۲۴ ساعت

نتیجه منفی: عدم تشکیل لخته در مدت ۲۴ ساعت

فرم: دستورالعمل کوagulaz صفحه: ۳ از ۳	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۷/۲۲ شماره سند:
بخش استقرار: میکروبیشناسی		محدوده توزیع: تضمین کیفیت

کنترل کیفی :

معرف	ارگانیسم کنترل	شماره ATCC	نتیجه مورد انتظار	دفعات انجام آزمایش QC
Coagulase test	<i>Staph. aureus</i>	25923	مثبت (ایجاد لخته)	هر سری ساخت و خرید پلاسمای خرگوش، سپس هر روز کاری
	<i>Staph. epidermidis</i>	12228	منفی (عدم ایجاد لخته)	

ایمنی:

لام شیشه ای را در مخزن نمونه های عفونی دور بیندازید و سایر وسایل عفونی را به صورت ایمن دفع کنید.

محدودیت ها و عوامل مداخله گر :

- از پلاسمای خرگوشی که در یخچال و یا فریزر نگهداری نشده است و یا کدر می باشد استفاده نکنید.
- برای انجام آزمایش از کلنی های تازه (۱۸-۲۴ ساعته) از روی یک محیط غیر مهارکننده استفاده کنید.
- لوله آزمایش را در حین مشاهده برای دیدن لخته تکان ندهید. برای دیدن لخته آن را به آرامی کج کنید.

مراجع:

دستورالعملهای آزمایشگاه مرجع سلامت وزارت بهداشت و مراجع معتبر علمی

نام و امضاء تهیه کننده:	نام و امضاء تأییدکننده:	نام و امضاء تصویب کننده:
حوریه قربانی - کارشناس آزمایشگاه	حوریه قربانی - کارشناس آزمایشگاه علی حقی - مسئول آزمایشگاه مرجع	