

TEST OXYDASE

Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram -.

Rappels

Les cytochromes sont des protéines qui appartiennent à la chaîne respiratoire, composée d'une succession de transporteurs d'électrons, en particulier les cytochromes porteurs de coenzymes hémiques.

La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celle des bacilles à Gram négatif. Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée à oxyder la forme réduite incolore de dérivés méthylés du paraphénylène diamine, en leur forme oxydée semi-quinonique rose violacé.

L'activité oxydasique ainsi déterminée est difficile à attribuer à tel ou tel élément de la chaîne respiratoire bien qu'une correspondance avec un cytochrome c soit avancée par plusieurs auteurs. Pour un certain nombre de bactéries oxydase négative, possédant donc une chaîne respiratoire complète et fonctionnelle comme les micro-organismes aérobies stricts *Micrococcus*, *Bacillus*, *Acinetobacter*. . . mais aussi des bactéries aéro-anaérobies comme les entérobactéries, le cytochrome c est remplacé par un autre cytochrome ne possédant pas la capacité de réagir avec le réactif utilisé.

Le terme de cytochrome oxydase pose problème: la cytochrome oxydase est la dernière enzyme de la chaîne respiratoire qui assure le transfert des électrons sur l'oxygène (ou un autre oxydant minéral).

Le terme d'oxydase est, d'autre part, réservé aux enzymes utilisant l'oxygène comme substrat. . . En bactériologie, il faut donc comprendre le terme d'oxydase comme la présence d'une enzyme réagissant avec un dérivé méthylé du paraphénylène diamine.

Principe

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : **la phénylène diamine oxydase** des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé.

Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : **le N diméthyl paraphénylène diamine**.

Ce réactif est incolore et en présence de l'enzyme, il libère un composé rose-rouge, noircissant à l'air.



Technique

Le réactif peut se trouver sous deux formes :

- soit en solution : sur une lame de verre, déposer un carré de papier filtre et l'imbiber d'une solution fraîchement préparée de réactif,
- soit sous la forme d'un disque pré-imprégné par le réactif.

Dans les deux cas, **écraser avec une effilure de pipette Pasteur une colonie de germes à étudier sur ce papier (instrument n'oxydant pas le réactif)**.

Lecture



test est positif.
Oxydase +



test est négatif.
Oxydase -

Causes d'erreurs :

- oxydase faussement positive :
- si utilisation d'une oëse métallique
 - si l'inoculum provient d'un milieu coloré
 - si lecture tardive
- oxydase faussement négative :
- si l'inoculum est trop faible
 - si la réaction est lente