

IMPIEGO PREVISTO

Il reagente all'indolo per spot di Pro-Lab deve essere utilizzato con il metodo qualitativo per determinare la capacità di un organismo di separare l'indolo dalla molecola di triptofano.

INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

Il reagente all'indolo per spot è stato utilizzato da Vracko e Sherris nel 1963 per la differenziazione presuntiva delle specie *Proteus* ed *Escherichia coli*¹. Il lavoro di Lowrance, Reich e Traub nel 1969, indicò che la p-dimetilamminocinnamaldeide è il reagente all'indolo più sensibile, in grado di rilevare 3 mcg di indolo per millilitro di mezzo².

PRINCIPIO DEL METODO

L'amminoacido triptofano può essere ossidato da determinati batteri con l'impiego di enzimi intracellulari chiamati collettivamente 'triptofanasi', che sfociano nella produzione di indolo. L'indolo viene rilevato dalla p-dimetilamminocinnamaldeide, che prevede una combinazione chimica risultante in una colorazione blu ben definita. La presenza o l'assenza della formazione di indolo è utilizzata per l'identificazione batterica.

MATERIALE FORNITO

Il reagente all'indolo per spot Pro-LAB PL.391-10 è fornito come liquido reagente da 10 ml in un flacone ambra con gocciolatore. Il reagente è pronto all'uso.

FORMULA

p-Dimetilamminocinnamaldeide	10 g
Acido cloridrico	100 ml
Acqua deionizzata	900 ml

AVVERTENZE

1. Il reagente all'indolo per spot Pro-LAB PL.391-10 è concepito solo per un uso diagnostico *in vitro*.
2. Non usare il reagente oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.
3. Il reagente non deve essere utilizzato se ha cambiato colore.
4. È opportuno seguire appropriate misure di sicurezza nel maneggiare, processare ed eliminare tutti i campioni clinici in quanto potrebbero essere presenti organismi patogeni.
5. Per ottenere risultati attendibili, è necessario seguire scrupolosamente le procedure, le condizioni di conservazione, le precauzioni e le limitazioni descritte in queste istruzioni.

CONSERVAZIONE

Il reagente all'indolo per spot Pro-LAB deve essere conservato a 2-30°C nel contenitore originale. Non congelare né surriscaldare. Proteggere dalle radiazioni solari. Tenere il tappo a vite ermeticamente chiuso. Il prodotto conservato a queste condizioni rimarrà stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.

RACCOLTA DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE DELLE COLTURE

Per ottenere colonie isolate ben definite ai fini dell'esecuzione dei test, i campioni clinici devono essere inoculati su opportuni mezzi di isolamento. Per le procedure specifiche di raccolta e preparazione delle colture primarie fare riferimento ad un manuale di normali tecniche microbiologiche.

MATERIALE NECESSARIO, MA NON FORNITO

1. Anse per inoculazione
2. Carta filtrante (Whatman n° 1 o equivalente)
3. Tamponi con punta in cotone
4. Incubatore
5. Mezzi supplementari
6. Organismi di controllo qualità

PROCEDURA

Prima dell'uso consentire al reagente di raggiungere la temperatura ambiente.

Tecnica con carta filtrante:

1. Dispensare da 1 a 2 gocce di reagente all'indolo per spot su un pezzo di carta filtrante (Whatman n° 1 o equivalente).
2. Con l'impiego di un'ansa per inoculazione, strisciare la crescita di una coltura in fase di sviluppo sull'area saturata con reagente della carta filtrante.
3. Osservare la carta filtrante per verificare lo sviluppo di una colorazione blu entro 3 minuti.

Tecnica con tampone:

1. Dispensare da 1 a 2 gocce di reagente all'indolo per spot sulla punta di un tampone di cotone.
2. Toccare con la punta del tampone saturato la parte superiore della colonia di una coltura in fase di sviluppo sulla superficie del terreno agarizzato.
3. Osservare la punta in cotone per verificare lo sviluppo di una colorazione blu entro 3 minuti.

PROCEDURA DI CONTROLLO QUALITÀ

Per il controllo di qualità del laboratorio sono raccomandati i ceppi di riferimento indicati di seguito:

ORGANISMO	RISULTATO PREVISTO
<i>Bacteroides ovatus</i> ATCC #8483	positivo
<i>Escherichia coli</i> ATCC #25922	positivo
<i>Prevotella melaninogenica</i> ATCC #25845	negativo
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC #12453	negativo

Ogni lotto del reagente all'indolo per spot è sottoposto ad un controllo di qualità presso Pro-Lab che si avvale di un test panel che include gli organismi summenzionati.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI






Reazione positiva: Lo sviluppo di una colorazione blu entro 3 minuti.
 Reazione negativa: Lo sviluppo di una colorazione rosa entro 3 minuti.


LIMITI DEL METODO

1. Le colonie da analizzare devono essere cresciute in mezzi che non contengono glucosio perché inibisce la produzione di indolo.
2. L'agar MacConkey (MAC) o l'agar eosina blu metilene (EMB) non possono essere utilizzati per coltivare organismi per il test all'indolo, poiché questi terreni contengono indicatori che potrebbero determinare un trascinamento di colore risultante in interpretazioni falso positive.
3. Alcuni ceppi di *Proteus vulgaris*, *Providencia* e *Aeromonas* mostrano una reazione falso negativa con il test all'indolo per spot³.
4. Le colonie da analizzare devono essere coltivate su mezzi con un tenore di triptofano adeguato, in quanto è necessario per produrre la reazione dell'indolo. I mezzi devono essere controllati con organismi di controllo noti positivi e negativi.
5. Devono essere testate solo colture di organismi pure. Se l'inoculo è una coltura mista di organismi indolo-positivi e indolo-negativi possono manifestarsi reazioni debolmente falso positivo, le colonie adiacenti potrebbero infatti inglobare l'indolo così diffuso⁴.

BIBLIOGRAFIA

1. Vracko, R. and J.C. Sherris. (1963). Am. J. Clin. Path. 39:429-432.
2. Lowrance, B.L., P. Reich and W.H. Traub. (1969). Appl. Microbiol. 17:923-924.
3. Balzevic, D.J. and G.M. Ederer. (1975). Principles of Biochemical Tests in Diagnostic Microbiology. John Wiley & Sons, New York, NY.
4. Sutter, V.L. and W.T. Carter. (1972). Am. J. Clin. Path. 58:335-338.

	= Produttore
	= Dispositivo medico diagnostico in vitro
	= Limiti di temperatura
	= Per l'uso consultare le istruzioni
	= Quantità sufficiente per (n) test

EU	C	Corrosivo
		Ingrediente pericoloso: HCl (Acido cloridrico)
R34 - Provoca ustioni.		
S26 - In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico.		
S36/37/39 - Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.		
S45 - In caso di incidente o di malessere consultare immediatamente il medico (se possibile, mostrargli l'etichetta).		

Le presenti istruzioni per l'uso sono state accuratamente tradotte dalla versione originale in lingua inglese. In caso di ambiguità o apparente discrepanza rivolgersi al servizio assistenza Pro-Lab.