



## INDOLE SPOT REAGENT

### 1- DESTINAZIONE D'USO

Reagente liquido per indolo spot test, come coadiuvante nella differenziazione delle *Enterobacteriaceae* e di altri generi.

### 2 – COMPOSIZIONE

p-dimetilaminocinnamaldeide 0.1 g  
acido cloridrico 10% 10 mL

### 3-DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

I batteri che possiedono l'enzima triptofanasi sono in grado di idrolizzare e deaminare il triptofano con la produzione di indolo, acido piruvico e ammoniaca.<sup>1</sup> Il requisito principale per la coltura di un organismo prima di eseguire il test dell'indolo è che il terreno contenga una quantità sufficiente di triptofano. In genere, il test dell'indolo può essere eseguito con il metodo in provetta e con lo spot test.<sup>1-3</sup> Il reagente Indole Spot è stato ideato per lo spot test. L'indole spot test si basa sulla formazione di un complesso di colore verde-blu quando l'indolo reagisce con il gruppo aldeidico della p-dimetilamminocinnamaldeide. La produzione di indolo è una caratteristica importante nell'identificazione di molti microrganismi, essendo particolarmente utile nella separazione di *E. coli* (positivo) da membri del gruppo *Klebsiella-Enterobacter-Hafnia-Serratia* (per lo più negativi). Viene utilizzato come parte delle procedure IMViC, una batteria di test progettati per distinguere tra i membri della famiglia *Enterobacteriaceae*.

### 4-CARATTERISTICHE DEL REATTIVO

Aspetto della soluzione limpida, gialla

### 5-MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Indole Spot Reagent	Reagente liquido	19171003	10 mL, confezione primaria: flacone con contagocce

### 6-MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Provette con tappo a vite, carta da filtro, anse sterili, terreni di coltura ricchi di triptofano, reagenti ausiliari per la completa identificazione delle colonie.

### 7-CAMPIONI

In microbiologia clinica e non clinica, i campioni sono costituiti da colonie cresciute su terreni su piastra. Il reagente di Kovács non può essere utilizzato per l'analisi diretta di campioni clinici.

### 8-PROCEDURA DELL'ANALISI

Inoculare il ceppo da testare su un agar contenente triptofano. È possibile utilizzare le piastre Tryptic Soy Agar (REF 402150) o Blood Agar Sheep (REF 541136). Incubare per 18-24 ore alla temperatura appropriata per consentire la crescita.

Toccare le colonie da testare con la punta di un tampone o inserire un pezzo di carta da filtro in una piastra Petri sterile e strisciare una colonia pura isolata utilizzando un'ansa sterile. Dispensare 2 gocce di Indole Spot Reagent sul tampone o sulla carta da filtro.

### 9-LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare l'area di reazione e registrare il colore.

Produzione di un colore verde-blu entro 30 secondi: ceppo indolo positivo.

Nessuna produzione di colore o produzione di colore arancione o viola entro 30 secondi: ceppo indolo negativo.

### 10-CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

Controllo positivo: *Escherichia coli* ATCC 25922

Controllo negativo: *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048

ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

### 11- CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Indole Spot Reagent viene testato con ceppi positivi e negativi. Ceppi positivi all'indolo: *E. coli* ATCC 25922, *P. vulgaris* ATCC 13315, *P. morgani* CB118\*, *P. rettgeri* ATCC 39944, *P. incostans* ATCC 33672.

Ceppi indolo negativi: *P. mirabilis* ATCC 12453, *E. aerogenes* ATCC 13048.

\* CB: Collezione Microbica Biolife

### 12-LIMITI DEL METODO

- Questo test deve essere utilizzato solo su colonie provenienti da terreni contenenti sufficiente triptofano e assenza di glucosio.<sup>4</sup>
- Le colonie da colture miste non devono essere utilizzate, poiché le colonie indolo-positive possono far apparire debolmente positive le colonie indolo-negative.<sup>4</sup>
- I microrganismi da testare con il metodo dell'indolo spot devono essere prelevati da un terreno contenente triptofano (ad esempio agar sangue) e mai da terreni MacConkey agar poiché hanno indicatori di pH e pigmentazione delle colonie lattosio-positive che renderanno l'interpretazione della reazione cromatica difficile.<sup>2</sup>
- L'indolo è un prodotto diffusibile. Per mitigare la diffusione dell'indolo, selezionare una colonia ben isolata per il test spot dell'indolo.<sup>2</sup>
- Il cambiamento di colore del reagente da giallo a marrone indica una conservazione impropria, che può causare reazioni più deboli.
- Si raccomanda di eseguire test biochimici, immunologici, molecolari o di spettrometria di massa per una completa identificazione delle colonie. Se pertinente, eseguire test di sensibilità antimicrobica.





### 13-PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il prodotto qui descritto è destinato a un uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Questo prodotto è classificato come pericoloso dalle norme europee vigenti. Prima dell'uso consultare la scheda di sicurezza.
- Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come reagenti, terreno di coltura o agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire le strisce usate e le piastre inoculate con campioni o ceppi microbici secondo la legislazione locale vigente.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it).
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

### 14 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Conservare il prodotto nella confezione originale con il tappo ben chiuso, a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. Se correttamente conservato, il prodotto può essere utilizzato fino alla data di scadenza. Non utilizzare il prodotto oltre questa data. Il contenitore aperto può essere utilizzato fino alla data di scadenza. Ripetute aperture del contenitore non pregiudicano le prestazioni del prodotto. Non utilizzare il reagente con colore marrone atipico.

### 15-BIBLIOGRAFIA

- Maria P. MacWilliams. Indole Test Protocol. ASM, 08 December 2009, American Society for Microbiology © 2016.
- Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigation, Indole test. TP 19, Issue 4, 2018.
- Cowan and Steel's Manual for identification of Medical Bacteria, 3rd ed. 1993.
- Atlas R, Snyder J. Reagents, Stains and Media: Bacteriology. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.

### TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	LOT Numero di lotto	Fabbricante	Utilizzare entro	Fragile, maneggiare con cura
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> test	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Lato superiore	Proteggere dalla luce

### CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del layout	05/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

