

remel

**BactiDrop™
Indole (Ehrlich's)**

(English)

INTENDED USE

Remel BactiDrop Indole (Ehrlich's) is a reagent recommended for use in qualitative procedures for the detection of indole production by microorganisms grown in indole broth, especially nonfermenters and anaerobes.

SUMMARY AND EXPLANATION

Vracco and Sherris reported that the indole test could be performed using p-dimethylaminobenzaldehyde.¹ When performing the indole test, Ewing and Davis² recommend Ehrlich's reagent for use with nonfermenters such as *Flavobacterium*³ (*Chryseobacterium*) and with anaerobes.⁴

PRINCIPLE

Intracellular enzymes, collectively called "tryptophanase", mediate the production of indole by hydrolytic activity against the amino acid tryptophan. Indole combines with dimethylaminobenzaldehyde to form a red compound. The reaction occurs by a condensation process formed by an acid splitting of the protein. When using Ehrlich's reagent, small amounts of indole produced from the breakdown of tryptophan by tryptophanase must first be extracted with xylene before being detectable.⁵ Optimal results are dependent on the medium in which the indole test is performed. Use of an inadequate peptone broth or glucose-containing medium may cause aberrant results.⁶

REAGENTS (CLASSICAL FORMULA)*

p-Dimethylaminobenzaldehyde (CAS 100-10-7) .868 g
Hydrochloric Acid, Conc. (CAS 7647-01-0) 174.0 ml
Ethanol, 95% (CAS 64-17-5)..... 826.0 ml

*Adjusted as required to meet performance standards.

PRECAUTIONS

WARNING! Causes irritation and possible burns by all routes of exposure. Flammable liquid and vapor. This substance has caused adverse reproductive and fetal effects in humans. May cause central nervous system depression. May cause liver, kidney and heart damage. Repeated or prolonged exposure may cause erosion of exposed teeth. Corrosive to metal.

This product is for *In Vitro* diagnostic use and should be used by properly trained individuals. Precautions should be taken against the dangers of microbiological hazards by properly sterilizing specimens, containers, and media after use. Directions should be read and followed carefully. Refer to Material Safety Data Sheet for additional information.

STORAGE

This product is ready for use and no further preparation is necessary. Store product in its original container at 20-25°C until used. Do not freeze or overheat.

PRODUCT DETERIORATION

This product should not be used if (1) there is evidence of dehydration, (2) the color has changed, (3) the expiration date has passed, or (4) there are other signs of deterioration. The expiration date applies to the product in its intact container when stored as directed. Discard remaining portion of partially used ampule at end of workday.

SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, TRANSPORT

Specimens should be collected and handled following recommended guidelines.^{7,8}

MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

(1) Loop sterilization device, (2) Inoculating loop, swabs, collection containers, (3) Incubators, alternative environmental systems, (4) Supplemental media, (5) Quality control organisms, (6) Xylene, (7) Indole broth.

PROCEDURE

Place dropper in the assembled, reusable ampule crusher provided. Hold the dropper/crusher in an upright position and lightly tap the bottom to dislodge any bubbles that may have formed. Grasp the middle of the dropper/crusher with the thumb and forefinger, and with the tip pointing away, press gently to crush the ampule. Invert dropper and squeeze slightly to dispense in a dropwise fashion.

Test Procedure:

1. Inoculate a tube of indole broth with the test organism and incubate at 35-37°C for 18-24 hours.
2. After incubation, transfer 2 ml of broth to a separate tube.
3. Add 1 ml of xylene to the aliquot, shake the tube, and allow to stand so that the solvent rises to the surface.
4. Dispense 5 drops of BactiDrop Indole (Ehrlich's) down the side of the tube.
5. Observe for the development of a red ring just below the solvent layer.

INTERPRETATION

Positive Test - Development of a red color just below the solvent layer

Negative Test - No color development

NOTE: If the 24 hour culture is negative, reincubate the remaining portion for an additional 24 hours and then retest.

QUALITY CONTROL

All lot numbers of BactiDrop Indole (Ehrlich's) have been tested using the following quality control organisms and have been found to be acceptable. Testing of control organisms should be performed in accordance with established laboratory quality control procedures. If aberrant quality control results are noted, patient results should not be reported.

CONTROL
Bacteroides thetaiotaomicron
ATCC® 29741*Elizabethkingia meningoseptica*
ATCC® 13253*Clostridium sordellii*
ATCC® 9714*Prevotella melaninogenica*
ATCC® 25845*Pseudomonas aeruginosa*
ATCC® 27853*Veillonella parvula*
ATCC® 10790**RESULTS**

Positive

Positive

Positive

Negative

Negative

Negative

6. McFaddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
7. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and D.W. Warnock. 2011. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. ASM Press, Washington, D.C.
8. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO.

PACKAGING

BactiDrop Indole (Ehrlich's) (0.75 ml/Ampule):
REF 21520 50 Ampules/Pk

Symbol Legend

REF	Catalog Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
LAB	For Laboratory Use
	Consult Instructions for Use (IFU)
	Temperature Limitation (Storage Temp.)
LOT	Batch Code (Lot Number)
	Use By (Expiration Date)
EC REP	Authorized European Representative
	Manufacturer



Remel Inc.
12076 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215, USA
www.thermofisher.com
(800) 255-6730
International: (913) 888-0939



For technical information contact your local distributor.

BactiDrop is a trademark of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries.

ATCC is a registered trademark of American Type Culture Collection.
CAS (Chemical Abstracts Service Registry No.)

remel

BactiDrop™ Indole (Réactif d'Ehrlich)

(Français)

INDICATION

Le réactif Indole (Réactif d'Ehrlich) BactiDrop est recommandé dans le cadre des procédures qualitatives de détection de production d'indole par des microorganismes cultivés dans du bouillon d'indole, en particulier ceux qui n'ont pas de capacité de fermentation et ceux qui sont anaérobies.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Vracko et Sherris ont signalé que le test de l'indole pouvait être réalisé en utilisant du p-diméthylaminobenzaldéhyde.¹ Pour réaliser le test de l'indole, Ewing et Davis² recommandent d'utiliser de réactif d'Ehrlich avec les microorganismes n'ayant pas de capacité de fermentation comme *Flavobacterium*³ (*Chryseobacterium*) et avec les anaérobies.⁴

PRINCIPE

Les enzymes intracellulaires, appelés « tryptophanase », servent d'intermédiaire dans la production d'indole par l'activité hydrolytique affectant l'acide aminé tryptophane. L'indole se combine avec le diméthylaminobenzaldéhyde pour former un composé rouge. La réaction se produit par un processus de condensation formé par une dissociation acide de la protéine. Avec l'utilisation du réactif d'Ehrlich, les petites quantités d'indole produites à partir de la dissociation du tryptophane par la tryptophanase doivent d'abord être extraite avec du xylène avant de pouvoir les détecter.⁵ Des résultats optimaux seront obtenus en fonction du milieu dans lequel le test de l'indole est réalisé. L'utilisation d'un bouillon peptoné inapproprié ou d'un milieu contenant du glucose risque de donner des résultats aberrants.⁶

RÉACTIFS (FORMULE CLASSIQUE)*

p-diméthylaminobenzaldéhyde (CAS 100-10-7).8,68 g
Acide chlorhydrique, conc. (CAS 7647-01-0)...174,0 ml
Éthanol à 95% (CAS 64-17-5).....826,0 ml

*Avec ajustements éventuels pour satisfaire aux normes de performance.

PRÉCAUTIONS

ATTENTION ! Risque d'irritation et de brûlure de toutes les voies exposées. Liquide et vapeur inflammables. Cette substance a des effets adverses sur les fœtus et sur la reproduction humaine. Risque de dépression du système nerveux central et de lésions hépatiques, rénales ou cardiaques. Une exposition répétée ou prolongée risque d'entraîner une érosion des dents exposées. Corrosif pour les métaux.

Ce produit exclusivement destiné à un usage diagnostique *in vitro* ne doit être utilisé que par des personnes dûment formées. Toutes les précautions contre les risques microbiologiques doivent être prises et il est indispensable de bien stériliser les prélevements, les récipients et les milieux après usage. Toutes les instructions doivent être lues attentivement et

soigneusement suivies. Consulter la fiche de données de sécurité pour avoir des informations supplémentaires.

STOCKAGE

Le produit est prêt à l'emploi et aucune préparation supplémentaire n'est nécessaire. Le conserver dans son conditionnement d'origine entre 20 et 25°C, jusqu'à son utilisation. Ne pas congeler ni surchauffer.

DÉTÉRIORATION DU PRODUIT

Le produit ne doit pas être utilisé si (1) vous observez une déshydratation, (2) la couleur a changé, (3) la date de péremption est dépassée ou (4) d'autres signes de détérioration sont présents. La date de péremption s'applique au produit à condition que le récipient soit intact et qu'il soit stocké conformément aux instructions. À la fin de la journée de travail, le produit restant éventuellement dans l'ampoule doit être jeté.

RECUEIL, STOCKAGE ET TRANSPORT DES PRÉLÈVEMENTS

Les prélevements doivent être recueillis et manipulés conformément aux recommandations en usage dans la profession.^{7,8}

MATÉRIEL REQUIS NON FOURNI

(1) Dispositif de stérilisation, (2) oese d'inoculation, écouvillons, récipients de prélevement, (3) incubateurs, autres systèmes environnementaux, (4) milieux supplémentaires, (5) microorganismes de contrôle de qualité, (6) xylène, (7) bouillon d'indole.

PROCÉDURE

Placer le compte-gouttes dans le broyeur d'ampoules réutilisable fourni. Tenir bien droit l'ensemble compte-gouttes/broyeur et tapoter légèrement le bas pour en déloger les bulles qui s'y sont éventuellement formées. Saisir l'ensemble compte-gouttes/broyeur par le milieu entre le pouce et l'index et, la pointe dirigée vers l'extérieur, appuyer doucement pour écraser l'ampoule. Retourner le compte-gouttes et appuyer sans excès pour déposer les gouttes une à une.

Procédure de l'analyse:

1. Inoculer un tube de bouillon d'indole avec le microorganisme à analyser, puis incuber à 35-37°C pendant 18-24 heures.
2. Une fois l'incubation terminée, transférer 2 ml de bouillon dans un autre tube à essai.
3. Ajouter 1 ml de xylène à l'aliquote, agiter le tube et laisser reposer de sorte que le solvant revienne à la surface.
4. Déposer 5 gouttes de réactif d'indole (réactif d'Ehrlich) BactiDrop le long de la paroi du tube.
5. Observer et rechercher l'apparition d'un anneau rouge juste audessous de la couche de solvant.

INTERPRÉTATION DU TEST

Test Positif - Apparition d'une couleur rouge juste au-dessous de la couche de solvant

Test Négatif - Aucune apparition de couleur

REMARQUE: Si la culture de 24 heures est négative, incuber à nouveau la partie restante pendant 24 heures, puis retester.

CONTRÔLE QUALITÉ

Tous les numéros de lots d'Indole (réactif d'Ehrlich) BactiDrop ont été testés avec les microorganismes de contrôle de qualité suivants et reconnus acceptables. Les tests de microorganismes de contrôle doivent satisfaire aux critères établis pour les procédures de contrôle qualité en laboratoire. En cas de résultats de contrôle qualité aberrants, ne pas signaler les résultats du patient.

CONTRÔLE

Bacteroides thetaiotaomicron
ATCC® 29741

Elizabethkingia meningosepticaum
ATCC® 13253

Clostridium sordellii
ATCC® 9714

Prevotella melaninogenica
ATCC® 25845

Pseudomonas aeruginosa
ATCC® 27853

Veillonella parvula
ATCC® 10790

RÉSULTATS

Positif

Positif

Positif

Négatif

Négatif

Négatif

LIMITATIONS

1. Pour les bouillons peptonés (autres que les bouillons de tryptophane), il est nécessaire de vérifier qu'il est possible de les utiliser avec le test de l'indole en les essayant avec un micro-organisme connu produisant de l'indole.⁶
2. Il est déconseillé d'utiliser des milieux contenant du glucose pour détecter l'indole.⁶
3. Certains microorganismes produisent de l'indole, mais ils la dégradent aussi vite qu'ils la produisent. Vous pouvez obtenir un faux négatif, en particulier pour les *Clostridium*.⁶
4. Vous pouvez avoir des faux positifs (limite) si vous utilisez une culture mélangeant des micro-organismes indole-positifs et indole-négatifs. Ne tester que des cultures pures.⁶
5. Le réactif d'Ehrlich n'est pas spécifique de l'indole. En utilisant un solvant, comme le xylène, pour extraire l'indole, la couleur rouge obtenue dans la couche de solvant ne correspond qu'à l'indole et au scatole.⁶
6. Le pH optimal pour l'activité tryptophanase est un pH légèrement alcalin (entre 7,4 et 7,8). Un pH plus faible (plus acide) risque de donner des faux négatifs et des faux positifs (limite).⁶
7. Les cultures dont vous analysez la production d'indole doivent être incubées de façon aérobique. Une diminution de la tension en oxygène entraîne une diminution de la production d'indole.⁶

BIBLIOGRAPHIE

1. Vracko, R. and J.C. Sherris. 1963. Am. J. Clin. Pathol. 39:429-432.
2. Ewing, W.H. and B.R. Davis. 1970. Media and Tests for the Differentiation of *Enterobacteriaceae*. CDC, Atlanta, GA.

3. King, E.O. 1967. The Identification of Unusual Pathogenic Gram-Negative Bacteria. CDC, Atlanta, GA.
4. Holdeman, L.V., Cato, E.P., and W.E.C. Moore. 1977. Anaerobe Laboratory Manual. Virginia Polytechnic Institute, Blacksburg, VA.
5. Baron, E.J. and S.M. Finegold. 1990. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 8th ed. The C.V. Mosby Co., St. Louis, MO.
6. McFaddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
7. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and D.W. Warnock. 2011. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. ASM Press, Washington, D.C.
8. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO.

CONDITIONNEMENT

BactiDrop Indole (Réactif d'Ehrlich) (0,75 ml/ampoule):
REF R21520 50 ampoules/boîte

Légende des Symboles

REF	Numéro de référence
IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
LAB	Pour l'usage de laboratoire
	Lire les instructions avant utilisation (IFU = mode d'emploi)
	Limites de température (stockage)
LOT	Code de lot (numéro)
	À utiliser avant le (date de péremption)
	Représentant autorisé pour l'UE
	Fabricant


Remel Inc.
12076 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215, USA
www.thermofisher.com
(800) 255-6730
International: (913) 888-0939



Pour tout support technique, contacter le distributeur local.
BactiDrop est une marque commerciale de Thermo Fisher Scientific et ses filiales.

ATCC est une marque déposée d'American Type Culture Collection.
CAS (numéro de registre CAS)

remel

BactiDrop™ Indol (Ehrlich's)

(Deutsch)

ANWENDUNGSGEBIET

Remel BactiDrop Indol (Ehrlich's) wird als Reagenz für die qualitative Untersuchung der Indol-Produktion durch Mikroorganismen, insbesondere durch Nonfermenter und Anaerobier, die in Indol-Bouillon gewachsen sind, empfohlen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Vracko und Sherris berichteten, dass der Indol-Test mit p-Dimethylaminobenzaldehyd durchgeführt werden kann.¹ Ewing und Davis² empfahlen für die Durchführung des Indoltests bei Nonfermentern wie etwa *Flavobacterium*³ (*Chryseobacterium*) und Anaerobiern Ehrlich's Reagenz.⁴

PRINZIP

Intrazelluläre Enzyme, die kollektiv als "Tryptophanase" bezeichnet werden, vermitteln die Indol-Produktion durch Hydrolyse der Aminosäure Tryptophan. Indol verbindet sich mit Dimethylaminobenzaldehyd zu einer roten Verbindung. Die Reaktion tritt als Kondensationsprozess auf, der durch das Spalten des Proteins mittels Säure ausgelöst wird. Bei der Anwendung von Ehrlich's Reagenz müssen kleine Mengen Indol, die durch den Abbau von Tryptophan durch Tryptophanase produziert werden, zunächst mit Xylool extrahiert werden, bevor sie nachweisbar sind.⁵ Optimale Ergebnisse hängen von dem Kulturmedium ab, in dem der Indoltest durchgeführt wird. Die Verwendung einer ungeeigneten Pepton-Bouillon oder glukosehaltiger Medien kann zu falschen Ergebnissen führen.⁶

REAGENZIEN (KLASSISCHE FORMEL)*

p-Dimethylaminobenzaldehyd (CAS 100-10-7) 8,68 g
Salzsäure, konzentriert(CAS 7647-01-0)..... 174,0 ml
Ethanol, 95% (CAS 64-17-5)..... 826,0 ml

* Jeweils angepasst, um die Leistungscharakteristika zu erfüllen.

VORSICHTSMAßNAHMEN

WARNUNG! Führt bei jedem Kontakt zu Irritationen oder eventuell zu Verbrennungen. Entzündliche Flüssigkeit und Dämpfe. Diese Substanz hat beim Menschen nachteilige Effekte auf die Reproduktion und Föten hervorgerufen. Kann zu Beeinträchtigungen des zentralen Nervensystems führen. Kann Leber-, Nieren- und Herzschäden verursachen. Wiederholter oder längerer Kontakt kann zur Erosion ungeschützter Zähne führen. Korrosiv zu Metall.

In Vitro-Diagnostikum. Nur zur Verwendung durch Fachpersonal. Zur Vermeidung mikrobiologischer Risiken sind geeignete Vorsichtsmaßnahmen zu treffen. Nach dem Gebrauch sind das Probenmaterial, Behälter und Kulturmedien zu sterilisieren. Die Anweisungen sind sorgfältig zu lesen und zu befolgen. Zusätzliche Hinweise sind im Sicherheitsdatenblatt abgedruckt.

LAGERUNG

Dieses Produkt ist gebrauchsfertig. Das Produkt ist bis zur Verwendung bei 20-25°C in dem Originalbehälter aufzubewahren. Nicht einfrieren oder überhitzen.

PRODUKTBEEINTRÄCHТИGUNG

Dieses Produkt darf nicht angewendet werden, falls (1) Dehydrierung auftritt, (2) Farbveränderungen eingetreten sind, (3) das Verfallsdatum überschritten wurde oder (4) andere Anzeichen einer Beeinträchtigung des Produkts erkennbar sind. Das Verfallsdatum gilt unter der Voraussetzung, dass sich das Produkt im Originalbehälter befindet und gemäß den Anleitungen aufbewahrt wird. Reste teilweise verbrauchter Ampullen sind am Ende des Arbeitstages zu vernichten.

PROBENENTNAHME, LAGERUNG UND TRANSPORT

Die Probennahme und die weitere Handhabung sind nach den empfohlenen Richtlinien durchzuführen.^{7,8}

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN SIND

(1) Gerät zur Sterilisierung von Impfösen, (2) Impföse, Tupfer, Sammelbehälter, (3) Inkubator, alternative Anzuchtmethoden, (4) ergänzende Kulturmedien, (5) Qualitätskontrollorganismen, (6) Xylool, (7) Indol-Bouillon.

VERFAHREN

Ampulle in den mitgelieferten, wieder verwendbaren Tropfer/Ampullenöffner einsetzen. Ampullenöffner in aufrechter Position halten und leicht auf den Boden klopfen, um eventuelle Luftbläschen zu entfernen. Den Ampullenöffner mit Daumen und Zeigefinger in der Mitte umfassen, um die Ampulle zu zerdrücken. Ampulle umdrehen und die Flüssigkeit durch leichtes Drücken tropfenweise auftragen.

Testverfahren:

1. Ein Röhrchen der Indol-Bouillon mit dem Testorganismus beimpfen und für 18 bis 24 Stunden bei 35-37°C inkubieren.
2. Nach der Inkubation 2 ml der Bouillon in ein separates Röhrchen überführen.
3. Der Teilprobe 1 ml Xylool zufügen, das Röhrchen schütteln und eine Weile stehen lassen, damit die Lösung zur Oberfläche steigen kann.
4. 5 Tropfen BactiDrop Indol (Ehrlich's) an der Innenseite des Röhrchens hinein laufen lassen.
5. Auf die Bildung eines roten Ringes gerade unterhalb der Lösungsmittelschicht untersuchen.

INTERPRETATION

Positiver Test – Bildung einer roten Farbe gerade unterhalb der Lösungsmittelschicht

Negativer Test – Keine Farbentwicklung

HINWEIS: Wenn die 24-Stunden-Kultur negativ ist, den verbleibenden Teil der Indol-Bouillon-Kultur für weitere 24 Stunden inkubieren und den Test erneut durchführen.

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle Chargen von BactiDrop Indol (Ehrlich's) wurden mithilfe der folgenden Qualitätskontrollorganismen überprüft. Die Tests sollten entsprechend den üblichen Qualitätskontrollverfahren für Laboratorien durchgeführt werden. Falls die Qualitätskontrollergebnisse abweichen, sollten die Patientenergebnisse nicht angegeben werden.

KONTROLLE

Bacteroides thetaiotaomicron
ATCC® 29741

Elizabethkingia meningoseptica
ATCC® 13253

Clostridium sordellii
ATCC® 9714

Prevotella melaninogenica
ATCC® 25845

Pseudomonas aeruginosa
ATCC® 27853

Veillonella parvula
ATCC® 10790

ERGEBNISSE

Positiv

Positiv

Positiv

Negativ

Negativ

Negativ

EINSCHRÄNKUNGEN

- Pepton-Bouillon (mit Ausnahme von Tryptophan-Bouillon) sollte mit einem bekannten positiven Indol-produzierenden Organismus auf die Eignung für den Indoltest getestet werden.⁶
- Glukosehaltige Kulturmedien sollten nicht für die Testung auf Indol verwendet werden.⁶
- Einige Organismen produzieren Indol, bauen es aber ebenso schnell wieder ab. Eine falsch negative Reaktion kann insbesondere bei *Clostridium* auftreten.⁶
- Schwache falsch positive Reaktionen können auftreten, wenn eine Mischkultur aus Indol-positiven und Indol-negativen Organismen verwendet wird. Testen Sie nur Reinkulturen.⁶
- Ehrlich's Reagenz ist nicht spezifisch für Indol. Bei Anwendung eines Lösungsmittels wie etwa Xylool, um das Indol zunächst zu extrahieren, tritt die rote Farbe in der flüssigen Schicht nur bei Indol und Skatol auf.⁶
- Für die Tryptophanase-Aktivität ist ein leicht alkalischer pH-Wert (pH 7,4 bis 7,8) optimal. Eine Abnahme des pH-Werts (in Richtung Acidität) kann zu einem falsch negativen oder schwach falsch positiven Ergebnis führen.⁶
- Kulturen, die auf Indolproduktion getestet werden sollen, müssen aerob inkubiert werden. Eine Senkung der Sauerstoffspannung reduziert die Indolproduktion.⁶

BIBLIOGRAPHIE

- Vracko, R. and J.C. Sherris. 1963. Am. J. Clin. Pathol. 39:429-432.
- Ewing, W.H. and B.R. Davis. 1970. Media and Tests for the Differentiation of *Enterobacteriaceae*. CDC, Atlanta, GA.
- King, E.O. 1967. The Identification of Unusual Pathogenic Gram-Negative Bacteria. CDC, Atlanta, GA.

- Holdeman, L.V., Cato, E.P., and W.E.C. Moore. 1977. Anaerobe Laboratory Manual. Virginia Polytechnic Institute, Blacksburg, VA.
- Baron, E.J. and S.M. Finegold. 1990. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 8th ed. The C.V. Mosby Co., St. Louis, MO.
- McFaddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
- Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and D.W. Warnock. 2011. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. ASM Press, Washington, D.C.
- Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO.

VERPACKUNG

BactiDrop Indole (Ehrlich's) (0,75 ml/Ampulle):
REF 21520 50 Ampullen/Pk

Verwendete Symbole

REF	Katalognummer
IVD	In-vitro-Diagnostikum
LAB	Für Laborgebrauch
	Gebrauchsanweisung beachten
	Temperaturbeschränkungen (Lagerungstemp.)
LOT	Chargencode (Losnummer)
	Verfallsdatum
	Autorisierte Vertretung für U-Länder
	Hersteller



Bei technischen Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren zuständigen Vertriebspartner.

BactiDrop ist ein Warenzeichen von Thermo Fisher Scientific und deren Tochtergesellschaften.

ATCC ist ein eingetragenes Warenzeichen von American Type Culture Collection.

CAS (Chemical Abstracts Service) Registernummer

remel

BactiDrop™ Indolo (Reagente di Ehrlich)

(Italiano)

USO PREVISTO

L'indolo (Reagente di Ehrlich) BactiDrop di Remel è un reagente consigliato per procedure qualitative finalizzate al rilevamento della produzione di indolo attraverso la crescita in brodo indolo di microrganismi non fermentanti e anaerobi.

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Vracke e Sherris dimostrarono la possibilità di eseguire il test dell'indolo utilizzando p-dimetilaminobenzaldeide.¹ Quando si esegue il test dell'indolo, Ewing e Davis² raccomandano l'uso del reagente di Ehrlich per organismi non fermentatori quali *Flavobacterium*³ (*Chryseobacterium*) e anaerobi.⁴

PRINCIPIO

Gli enzimi intracellulari, noti collettivamente come "triptofanasi", mediane la produzione di indolo grazie all'attività idrolitica contro l'amminoacido triptofano. L'indolo si combina con la dimetilaminobenzaldeide per formare un composto di colore rosso. La reazione ha luogo per mezzo di un processo di condensazione costituito da una scissione acida della proteina. Quando si utilizza il reagente di Ehrlich, è necessario innanzitutto estrarre con xilene piccole quantità di indolo prodotte dalla scissione del triptofano per azione della triptofanasi prima che siano rilevabili.⁵ La qualità dei risultati dipende dal substrato su cui viene eseguito il test dell'indolo. L'uso di un brodo di peptone inadeguato o di un substrato contenente glucosio può determinare risultati errati.⁶

REAGENTI (FORMULA CLASSICA)*

p-dimetilaminobenzaldeide (CAS 100-10-7) 8,68 g
Acidocloridricoconc. (CAS 7647-01-0) 174,0 ml
Etanolo 95% (CAS 64-17-5) 826,0 ml

*La formulazione è regolata in base ai criteri di esecuzione richiesti.

PRECAUZIONI

AVVERTENZA! Causa irritazione e possibili ustioni in tutte le forme di esposizione. Liquido e vapori infiammabili. Negli esseri umani questa sostanza provoca gravi effetti a livello riproduttivo e fetale. Può causare depressione del sistema nervoso centrale. Può causare danni epatici, renali e cardiaci. L'esposizione ripetuta o prolungata può causare l'erosione dei denti esposti. Corrosivo per i metalli.

Il prodotto è indicato per l'uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato solo da personale competente ed esperto. Si raccomanda di adottare le dovute precauzioni contro eventuali rischi microbiologici sterilizzando opportunamente dopo l'uso campioni, contenitori e strumenti. Leggere con attenzione le istruzioni contenute in questo documento e attennervisi scrupolosamente. Per ulteriori informazioni consultare la scheda tecnica di sicurezza.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

Questo prodotto è pronto per l'uso e non necessita di ulteriore preparazione. Conservare il prodotto nel suo contenitore originale ad una temperatura di 20-25°C fino al momento dell'utilizzo. Non congelare né surriscaldare.

DETERIORAMENTO DEL PRODOTTO

Non utilizzare il prodotto (1) in presenza di segni evidenti di disidratazione, (2) se ha cambiato colore, (3) oltre la data di scadenza o (4) in presenza di altri segni di deterioramento. La data di scadenza del prodotto è considerata valida se il contenitore è integro e se il prodotto viene conservato secondo le indicazioni. Gettare la parte restante della fiala parzialmente utilizzata alla fine del giorno di lavoro.

RACCOLTA, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI

Prelevare e trattare i campioni attenendosi alle linee guida raccomandate.^{7,8}

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

(1) Dispositivo di sterilizzazione per anse, (2) ansa per inoculo, tamponi, contenitori di raccolta, (3) termostato o sistemi per la formazione di atmosfere modificate, (4) terreni di coltura supplementari, (5) microrganismi per il controllo qualità, (6) xilene, (7) brodo di indolo.

PROCEDIMENTO

Posizionare il contagocce nello strumento aprifiale montato e riutilizzabile fornito in dotazione. Tenere il contagocce/lo strumento aprifiale in posizione verticale e picchiettare leggermente la parte inferiore per eliminare eventuali bolle. Afferrare la parte centrale del contagocce/ dello strumento aprifiale con il pollice e l'indice e, con la punta orientata verso l'esterno, premere delicatamente per aprire la fiala. Capovolgere il contagocce e premere leggermente per una distribuzione goccia a goccia.

Procedura del test:

1. Inoculare una provetta di brodo indolo con il microrganismo del test e incubare ad una temperatura di 35-37°C per 18-24 ore.
2. Al termine dell'incubazione, trasferire 2 ml di brodo in una provetta a parte.
3. Aggiungere 1 ml di xilene, agitare la provetta e lasciarla a riposo in modo che il solvente salga in superficie.
4. Aggiungere 5 gocce di indolo BactiDrop (reagente di Ehrlich) lungo il bordo della provetta.
5. Osservare la formazione di un anello rosso appena sotto lo strato di solvente.

INTERPRETAZIONE DEL TEST

Test Positivo - Comparsa di una colorazione rossa appena sotto lo strato di solvente

Test Negativo - Nessuna comparsa di colorazione

NOTA: Se la coltura di 24 ore è negativa, incubare nuovamente la porzione restante per altre 24 ore quindi eseguire di nuovo il test.

CONTROLLO QUALITÀ

Ogni lotto di indolo (Reagente di Ehrlich) BactiDrop è stato testato utilizzando i microrganismi per il controllo di qualità di seguito indicati ottenendo risultati ritenuti soddisfacenti. I test di controllo qualità devono essere eseguiti conformemente alle procedure di controllo qualità definite dal laboratorio. Se i test di controllo qualità forniscono risultati aberranti, i risultati ottenuti con i campioni in esame non devono essere riferiti.

CONTROLLO

Bacteroides thetaiotaomicron
ATCC® 29741

Elizabethkingia meningoseptica
ATCC® 13253

Clostridium sordellii
ATCC® 9714

Prevotella melaninogenica
ATCC® 25845

Pseudomonas aeruginosa
ATCC® 27853

Veillonella parvula
ATCC® 10790

RISULTATO

Positivo

Positivo

Positivo

Negativo

Negativo

Negativo

LIMITAZIONI

1. I brodi di peptone (diversi dal brodo di triptofano) devono essere valutati per l'uso nel test dell'indolo sottoponendoli a test con un noto organismo in grado di produrre indolo positivo.⁶
2. Per il rilevamento dell'indolo non utilizzare substrati contenenti glucosio.⁶
3. Alcuni organismi producono indolo ma lo scindono con la stessa rapidità con cui lo producono. Può dare una reazione falsa negativa con *Clostridium*.⁶
4. Possono verificarsi reazioni debolmente false positive in caso di utilizzo di una coltura mista di microrganismi positivi e negativi all'indolo. Sottoporre a test solo colture pure.⁶
5. Il reagente di Ehrlich non è specifico per l'indolo. Utilizzando un solvente, come lo xilene per l'estrazione dell'indolo, la colorazione rossa nello strato di solvente compare con l'indolo e il metil-indolo.⁶
6. Il pH ottimale per l'attività della triptofanasi è leggermente alcalino (pH compreso tra 7,4 e 7,8). Una riduzione del pH (verso l'acidità) può determinare una reazione falsa negativa o una reazione leggermente falsa positiva.⁶
7. Le colture destinate al test per la produzione di indolo devono essere incubate in aerobiosi. Una riduzione nella tensione dell'ossigeno riduce la produzione di indolo.⁶

BIBLIOGRAFIA

1. Vracko, R. and J.C. Sherris. 1963. Am. J. Clin. Pathol. 39:429-432.
2. Ewing, W.H. and B.R. Davis. 1970. Media and Tests for the Differentiation of *Enterobacteriaceae*. CDC, Atlanta, GA.

3. King, E.O. 1967. The Identification of Unusual Pathogenic Gram-Negative Bacteria. CDC, Atlanta, GA.
4. Holdeman, L.V., Cato, E.P., and W.E.C. Moore. 1977. Anaerobe Laboratory Manual. Virginia Polytechnic Institute, Blacksburg, VA.
5. Baron, E.J. and S.M. Finegold. 1990. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 8th ed. The C.V. Mosby Co., St. Louis, MO.
6. McFaddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
7. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and D.W. Warnock. 2011. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. ASM Press, Washington, D.C.
8. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO.

CONFEZIONE

BactiDrop Indolo (Reagente di Ehrlich) (0,75 ml/fiala):
REF R21520.....50 fiale/confezione

Spiegazioni dei simboli

REF	Numero di codice
IVD	Dispositivo medico per uso diagnostico <i>in vitro</i>
LAB	Per uso del laboratorio
	Consultare le istruzioni per l'uso (IFU)
	Limitazioni per la temperatura (Temp. di conservazione)
LOT	Codice lotto (Numero di lotto)
	Da utilizzare entro (Data di scadenza)
	Rappresentante autorizzato per l'Europa
	Fabbricante



Per l'assistenza tecnica, rivolgersi al distributore di zona.
BactiDrop è un marchio di Thermo Fisher Scientific e delle sue sussidiarie.

ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection.
CAS (Numero del registro del Chemical Abstract Service)



BactiDrop™ Indol (de Ehrlich)

(Español)

USO PREVISTO

Remel BactiDrop Indol (de Ehrlich) es un reactivo recomendado para procedimientos cualitativos de detección de la producción de indol por los microorganismos que crecen en caldo indol, en especial los no fermentadores y los anaerobios.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Vracko and Sherris publicaron que se podía realizar la prueba del indol utilizando p-dimetilaminobenzaldehído.¹ Cuando se realiza la prueba del indol, Ewing y Davis² recomiendan utilizar el reactivo de Ehrlich con no fermentadores, como *Flavobacterium*³ (*Chryseobacterium*) y con anaerobios.⁴

PRINCIPIO

Las enzimas intracelulares colectivamente denominadas "triptofanasas" median la producción de indol a través de su actividad hidrolítica sobre el aminoácido triptófano. El indol se combina con el dimetilaminobenzaldehído para formar un compuesto rojo. La reacción se produce mediante un proceso de condensación por ruptura ácida de la proteína. Cuando se utiliza el reactivo de Ehrlich, hay que extraer primero con xileno las pequeñas cantidades de indol producido por la hidrólisis del triptófano mediante la triptofanasa antes de ser detectable.⁵ Los resultados óptimos dependen del medio en el que se realice la prueba del indol. El uso de un caldo de peptona inadecuado o de un medio que contenga glucosa puede provocar resultados anómalos.⁶

REACTIVOS (FÓRMULA CLÁSICA)*

p-Dimetilaminobenzaldehído (CAS 100-10-7) 8,68 g
Ácido clorhídrico conc. (CAS 7647-01-0) 174,0 ml
Etanol, 95% (CAS 64-17-5) 826,0 ml

*Ajustado según necesidad para adaptarse a los patrones de rendimiento.

PRECAUCIONES

ADVERTENCIA: Causa irritación y posibles quemaduras por todas las vías de exposición. Líquido y vapor inflamable. Esta sustancia ha causado efectos adversos en el feto y la reproducción en humanos. Puede provocar depresión del sistema nervioso central. Puede provocar lesión hepática, renal y cardiaca. La exposición repetida o prolongada puede provocar erosión de los dientes expuestos. Es corrosivo para los metales.

Es un producto para diagnóstico *in vitro* únicamente y debe ser utilizado por personas adecuadamente preparadas. Deben tomarse precauciones contra los peligros de riesgos microbiológicos mediante la esterilización adecuada de las muestras, los envases y los medios después de su uso. Hay que leer las instrucciones y seguir las meticolosamente. Consultar más información en la Ficha Técnica de Seguridad del material.

ALMACENAMIENTO

Este producto está listo para su uso y no se necesita más preparación. Guardar el producto en su envase original a 20-25°C hasta que se use. No congelar ni sobrecalentar.

DETERIORO DEL PRODUCTO

Este producto no debe utilizarse si (1) hay pruebas de deshidratación, (2) el color ha cambiado, (3) la fecha de caducidad ha pasado ó (4) hay otros signos de deterioro. La fecha de caducidad se refiere a este producto cuando está en su envase intacto y se almacena según las instrucciones. Desechar la porción restante de la ampolla parcialmente utilizada al final del día de trabajo.

RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Las muestras deben recogerse y manipularse siguiendo las pautas recomendadas.^{7,8}

MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO

(1) Esterilizador del asa, (2) Asa de inoculación, torundas, envases de recogida, (3) Incubadores, sistemas ambientales alternativos, (4) Medios de cultivo complementarios, (5) Microorganismos de control de calidad, (6) Xileno, (7) Caldo indol.

PROCEDIMIENTO

Colocar el cuentagotas en el triturador de la ampolla reutilizable que se suministra ya montado. Sostener el cuentagotas/triturador en posición vertical y golpear suavemente la base para liberar las burbujas que puedan haberse formado. Sujetar la parte media del cuentagotas/triturador con el pulgar y el índice y, apartando la punta, apretar suavemente para aplastar la ampolla. Invertir el cuentagotas y apretar suavemente para dispensar gota a gota.

Procedimiento de análisis:

1. Inocular un tubo de caldo indol con el microorganismo problema e incubar a 35-37°C durante 18-24 horas.
2. Despues de la incubación, transferir 2 ml de caldo a otro tubo.
3. Añadir 1 ml de xileno a la alícuota, agitar el tubo y dejar reposar para que el disolvente suba a la superficie.
4. Dispensar 5 gotas de BactiDrop Indol (de Ehrlich) en la pared del tubo para que desciendan.
5. Observar el desarrollo de un anillo rojo justo por debajo de la capa de disolvente.

INTERPRETACIÓN

Prueba Positiva - Desarrollo de un color rojo justo por debajo de la capa de disolvente

Prueba Negativa - No aparece color

NOTA: Si el cultivo de 24 horas es negativo, volver a incubar la porción restante durante otras 24 horas y luego volver a analizarlo.

CONTROL DE CALIDAD

Todos los números de lote de BactiDrop Indol (de Ehrlich) se han ensayado utilizando los siguientes microorganismos de control de calidad y se han encontrado aceptables. El análisis de los microorganismos control debe realizarse de acuerdo con procedimientos de control de calidad analíticos establecidos. Si se observan resultados anómalos en el control de calidad, no deben informarse los resultados de los pacientes.

CONTROL

Bacteroides thetaiotaomicron
ATCC®29741

Elizabethkingia meningoseptica
ATCC®13253

Clostridium sordellii
ATCC® 9714

Prevotella melaninogenica
ATCC® 25845

Pseudomonas aeruginosa
ATCC®27853

Veillonella parvula
ATCC® 10790

RESULTADOS

Positivo

Positivo

Positivo

Negativo

Negativo

Negativo

LIMITACIONES

1. Hay que comprobar que los caldos de peptona (distintos del caldo de triptófano) pueden utilizarse en la prueba de indol analizándolos con microorganismos productores de indol conocidos.⁶
2. No deben utilizarse medios que contengan glucosa para la detección de indol.⁶
3. Algunos microorganismos forman indol, pero lo descomponen con igual rapidez que lo producen. Puede producirse una reacción negativa falsa, en especial entre *Clostridium*.⁶
4. Pueden producirse reacciones positivas débilmente falsas si se utiliza un cultivo mixto de microorganismos indol positivos y negativos. Analizar sólo cultivos puros.⁶
5. El reactivo de Ehrlich no es específico para el indol. Utilizando un disolvente, como el xileno, para extraer primero el indol, el color rojo obtenido en la capa de disolvente sólo aparece con el indol y el escatol.⁶
6. El pH óptimo para la actividad triptofanasa es uno ligeramente alcalino (pH 7,4 a 7,8). Una reducción del pH (hacia la acidez) puede provocar una reacción falso negativa o falso positiva débil.⁶
7. Los cultivos en los que se vaya a analizar la producción de indol deben incubarse aerobicamente. Una disminución de la tensión de oxígeno reduce la producción de indol.⁶

BIBLIOGRAFÍA

1. Vracko, R. and J.C. Sherris. 1963. Am. J. Clin. Pathol. 39:429-432.
2. Ewing, W.H. and B.R. Davis. 1970. Media and Tests for the Differentiation of *Enterobacteriaceae*. CDC, Atlanta, GA.

3. King, E.O. 1967. The Identification of Unusual Pathogenic Gram-Negative Bacteria. CDC, Atlanta, GA.
4. Holdeman, L.V., Cato, E.P., and W.E.C. Moore. 1977. Anaerobe Laboratory Manual. Virginia Polytechnic Institute, Blacksburg, VA.
5. Baron, E.J. and S.M. Finegold. 1990. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 8th ed. The C.V. Mosby Co., St. Louis, MO.
6. McFaddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
7. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and D.W. Warnock. 2011. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. ASM Press, Washington, D.C.
8. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO.

PRESENTACIÓN

BactiDrop Indol (de Ehrlich) (0,75 ml/Ampolla):
REF R2152050 Ampollas/envase

Leyenda de los Símbolos

REF	Número de catálogo
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
LAB	Para el uso del laboratorio
	Consulte las instrucciones de uso
	Límite de temperatura (temperatura de almacenamiento)
LOT	Código de lote (número de lote)
	Fecha de caducidad
EC REP	Representante autorizado en Europa
	Fabricante



Para obtener asistencia técnica póngase en contacto con su distribuidor local.

BactiDrop es una marca de Thermo Fisher Scientific y sus filiales.

ATCC es una marca comercial registrada de American Type Culture Collection.

CAS (Nº de registro del servicio de resúmenes químicos)