

VERWENDUNGSZWECK

Das Spot Indolreagenz von Pro-Lab ist für den qualitativen Nachweis der Fähigkeit eines Organismus zur Abspaltung von Indol von Tryptophan bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Das Spot Indolreagenz wurde 1963 von Vracko und Sherris zur präsumptiven Differenzierung von *Proteus*-Arten und von *Escherichia coli* eingesetzt.¹ Die Arbeiten von Lowrance, Reich und Traub aus dem Jahr 1969 zeigen, dass p-Dimethylaminozimtsäurealdehyd das empfindlichste Indolreagenz ist und 3 µg Indol pro Milliliter Medium nachweisen kann.²

TESTPRINZIP

Die Aminosäure Tryptophan wird von bestimmten Bakterien mittels intrazellulärer Enzyme oxidiert, die unter dem Begriff Tryptophanase³ zusammengefasst werden, was zur Bildung von Indol führt. Das Indol wird mithilfe von p-Dimethylaminozimtsäurealdehyd nachgewiesen, wobei eine chemische Reaktion mit deutlichem, blauem Farbumschlag stattfindet. Das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von abgespaltenem Indol wird zur Identifizierung von Bakterien herangezogen.

MITGELIEFERTER MATERIALIEN

Das Spot Indolreagenz PL.391-10 von Pro-Lab ist als flüssige Reagenz in einer Menge von 10 ml in einer bernsteinfarbenen Tropfenspendertasche erhältlich. Das Reagenz ist gebrauchsfertig.

FORMULIERUNG

p-Dimethylaminozimtsäurealdehyd	10 g
Salzsäure	100 ml
Entionisiertes Wasser	900 ml

VORSICHTSHINWEISE

- Das Spot Indolreagenz PL.391-10 von Pro-Lab ist ausschließlich für die Verwendung in der *in vitro*-Diagnose bestimmt.
- Das Reagenz nach Ablauf des auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr einsetzen.
- Das Reagenz sollte nicht verwendet werden, wenn sich seine Farbe verändert hat.
- Während des Umganges mit dem Test und der Entsorgung der klinischen Proben sollten alle geltenden Sicherheitsvorschriften eingehalten werden, da es sich um infektiöses Material handeln könnte.
- Alle in dieser Testanleitung enthaltenen Hinweise zur Testdurchführung und -aufbewahrung sowie zu Vorsichtsmaßnahmen und Verfahrenseinschränkungen müssen genau befolgt werden, um gültige Ergebnisse zu erzielen.

AUFBEWAHRUNG

Das Spot Indolreagenz von Pro-Lab sollte bei 2-30°C in seinem Originalbehälter aufbewahrt werden. Nicht einfrieren oder starker Hitze aussetzen. Vor Lichteinfall schützen. Den Schraubverschluss fest verschlossen halten. Das unter diesen Bedingungen gelagerte Produkt ist bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.

PROBENGEWINNUNG UND KULTURVORBEREITUNG

Klinische Proben sollten auf ein geeignetes Isolationsmedium übertragen werden, um gut definierte, isolierte Kolonien für den Test zu erhalten. Zur genauen Anleitung der Probengewinnung und Herstellung einer Primärkultur sollte mikrobiologische Standardliteratur herangezogen werden.

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN

- Impfösen.
- Filterpapier (Whatman No. 1 oder Ähnliches)
- Baumwolltupfer
- Inkubator.
- Ergänzungsmedien.
- Organismen zur Qualitätskontrolle.

VERFAHREN

Alle Reagenzien müssen vor dem Gebrauch Raumtemperatur annehmen.

Filterpapiermethode:

- Geben Sie 1-2 Tropfen Spot Indolreagenz auf ein Stück Filterpapier (Whatman No. 1 oder Ähnliches).
- Verteilen Sie eine Kolonie aus einer aktiv wachsenden Kultur mithilfe einer Impföse auf dem mit dem Reagenz gesättigten Bereich des Filterpapiers.
- Prüfen Sie, ob sich auf dem Filterpapier innerhalb von 3 Minuten eine blaue Farbe entwickelt.

Tupfermethode:

- Geben Sie 1 bis 2 Tropfen Spot Indolreagenz auf die Spitze eines Baumwolltupfers.
- Berühren Sie mit der Spitze des gesättigten Tupfers eine Kolonie aus einer aktiv wachsenden Agarkultur.
- Prüfen Sie, ob sich an der Spitze des Baumwolltupfers innerhalb von 3 Minuten eine blaue Farbe entwickelt.

QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Qualitätskontrolle im Labor werden folgenden Referenzstämme empfohlen:

ORGANISMUS	ERWARTETES ERGEBNIS
<i>Bacteroides ovatus</i> ATCC #8483	positiv
<i>Escherichia coli</i> ATCC #25922	positiv
<i>Prevotella melaninogenica</i> ATCC #25845	negativ
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC #12453	negativ

Jede Charge des Spot Indolreagenzes wird bei Pro-Lab einer Qualitätskontrolle unterzogen, wobei eine Testreihe mit den oben genannten Organismen verwendet wird.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Positive Reaktion: Die Entwicklung einer blauen Farbe innerhalb von 3 Minuten.






Negative Reaktion: Die Entwicklung einer rosa Farbe innerhalb von 3 Minuten.



VERFAHRENS-EINSCHRÄNKUNGEN

- Zu testende Kolonien müssen auf glukosefreiem Medium gezüchtet werden, da Glukose die Indolherstellung hemmt.
- MacConkey (MAC)- oder Eosin-Methylenblau-Agar (EMB) dürfen nicht verwendet werden, um Organismen zu züchten, bei denen der Indoltest durchgeführt werden soll, da diese Medien Hemmstoffe enthalten, die die Farbentwicklung stören und zu falsch positiven Ergebnissen führen könnten.
- Einige Stämme von *Proteus vulgaris*, *Providencia* und *Aeromonas* ergeben im Spot Indoltest eine falsch negative Reaktion.³
- Testkolonien müssen auf Medien mit für die Indolreaktion ausreichendem Tryptophangehalt gezüchtet werden. Die Medien sollten mit bekannterweise positiven und negativen Kontrollorganismen überprüft werden.
- Es sollten nur Reinkulturen der Organismen getestet werden. Handelt es sich bei dem Inokulum um eine Mischkultur aus Indolpositiven und -negativen Organismen, können sich schwache, falsch positive Reaktionen ergeben, da benachbarte Kolonien dazu neigen, diffundiertes Indol aufzunehmen.⁴

QUELLEN

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

	= Hersteller
	= Medizinprodukt für die <i>in vitro</i> Diagnostik.
	= Temperaturbegrenzung
	= Beachten Sie die Gebrauchsanleitung
	= Enthält genügend (Material) für (n) Tests

EU		Ätzend
		Gefährlicher Inhaltsstoff: HCl (Salzsäure)
R34 - Verursacht Verätzungen.		
S26 - Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.		
S36/37/39 - Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.		
S45 - Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen (wenn möglich, dieses Etikett vorzeigen).		

Bei diesen Anleitungen handelt es sich um eine Fachübersetzung der englischen Originalversion. Bei Unklarheiten oder offensichtlichen Abweichungen wenden Sie sich bitte an Pro-Lab.