

Reactivo Indol - Gotarios

USO PREVISTO

BBL Reactivo de Indol en Gotarios (reactivo Kovacs modificado) se utilizan en la determinación de la capacidad de las bacterias para producir indol mediante la desaminación de triptófano.

RESUMEN Y EXPLICACION

La producción de indol ha sido utilizada ampliamente como una ayuda para la diferenciación de algunos géneros y especies del mismo género.

Indole Reagent puede ser utilizado en los procedimientos de tubo de ensayo o de extracción, o con diversos equipos bioquímicos que precisan el uso de los reactivos de Kovacs o Ehrlich. Cada gotarios tiene un período de validez de un día después de romper la ampolla.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Una reacción positiva indica la presencia de la enzima triptofanasa que reacciona con el triptófano para producir indol. El indol producido reacciona en medio ácido con el *p*-dimetilaminobenzaldehído del reactivo de la prueba de indol para formar un compuesto quinoidal de color rojo violeta.

REACTIVOS

Reactivo Indol en Gotarios contienen 0,5 mL de 5% de *p*-dimetilaminobenzaldehído disuelto en una solución de 25% de ácido clorhídrico y 75% de alcohol isobutílico.

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico in vitro.

Seguir el procedimiento de laboratorio que ha sido establecido para la manipulación y desecho de materiales infecciosos. Indole reagent es muy ácido. Evitar el contacto con la piel. Si se derrama, enjuagar con abundante agua.

Provoca quemaduras. Irrita las vías respiratorias. En caso de contacto con los ojos, lavar inmediatamente con agua abundante y acudir a un médico. En caso de accidente o malestar, acudir inmediatamente al médico (si es posible, mostrarle la etiqueta).

Instrucciones para el almacenamiento: Conservar a temperatura ambiente (15 a 30 °C). Proteger de la luz.

Deterioro del producto: Este reactivo está sellado herméticamente en una ampolla, que protege la solución contra la inestabilidad química hasta la fecha de caducidad. El cambio de color del reactivo de amarillo pálido a café indica un almacenamiento inadecuado, lo que puede causar reacciones más débiles.

PROCEDIMIENTO

Material suministrado: Reactivo Indol en Gotarios.

Materiales necesarios pero no suministrados: Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiere para llevar a cabo este procedimiento.

Procedimientos y resultados de fueron análisis: Al usar Reactivo Indol en Gotarios, sostenerlo verticalmente **CON LA PUNTA DIRIGIDA HACIA AFUERA**. Sujetar el envase por la parte media entre el pulgar y el dedo índice y apretarlo con cuidado para romper la ampolla dentro del gotarios. **Precaución: Romper una sola vez la ampolla cerca de su parte central. No manipular más el gotarios, porque puede perforarse el plástico y causar lesiones.** Golpear suavemente unas cuantas veces la parte inferior del envase sobre la mesa. Cuando esté listo para utilizarse, invertir el gotarios para poder dispensar cómodamente el reactivo gota a gota.

A. Método de tubo rápido (Arnold y Weaver)

1. Inocular una muestra abundante de un cultivo puro de los organismos a analizar en 1 mL de caldo precalentado de 0,03% de triptófano, 0,1% de peptona y 0,5% de fosfato dipotásico (K₂HPO₄) en agua purificada. Se debe ajustar el pH del caldo a 7,4 – 7,8.

2. Incubar los tubos en un baño de María a 35 – 37 °C durante 2 h.

3. Agregar a los tubos el contenido de un gotarios de reactivo.

4. La presencia de un anillo rojo en la superficie del caldo a los 30 seg indica una reacción positiva a la producción de indol. Un color amarillo es negativo.

B. Método de tubo estándar

1. Inocular un cultivo puro del organismo a analizar en un tubo de cultivo que contiene 4 mL de **Caldo de soya Trypticase**.

2. Incubar durante 18 – 24 h a 35 – 37 °C.

3. Agregar al tubo el contenido de un gotario de reactivo. Agitar suavemente.
4. La presencia de un anillo rojo en la superficie del caldo a los 30 seg indica una reacción positiva a la producción de indol. Un color amarillo es negativo. Nota: Para obtener una reacción más sensible, se deben extraer asépticamente de 1 – 2 mL de cultivo del tubo e incubarlo 24 h más. Repetir la prueba. Una reacción negativa a las 48 h indica que no se ha producido indol.

C. Extracción con xileno

1. Inocular un cultivo puro del organismo a analizar en 4 mL de un medio de análisis apropiado. Para *Enterobacteriaceae* usar **BBL** Tryptophan (**Trypticase**) 1% Solution. Para otros, usar **BBL** Indole Nitrite Medium.
2. Incubar durante 18 – 24 h a 35 – 37 °C.
3. Agregar 1 mL de xileno. Mezclar bien.
4. Cuando las capas empiecen a separarse, agregar el contenido de un Indole Reagent Gotarios.
5. La presencia de un anillo rojo en la superficie del xileno a los 30 seg indica una reacción positiva a la producción de indol. Un color amarillo es negativo. Nota: Para obtener una reacción más sensible, se deben extraer asépticamente de 1 – 2 mL de cultivo del tubo e incubarlo 24 h más. Repetir la prueba. Una reacción negativa a las 48 h indica que no se ha producido indol.

- D. Otros métodos: Reactivo Indol en Gotarios pueden ser utilizados en las modificaciones de la prueba de indol que utilizan reactivo de indol de Kovacs o Ehrlich. Para pruebas puntuales usar **BBL** DMACA Reactivo Indol en Gotarios.

Control de calidad del usuario:

1. Examinar si el reactivo muestra evidencias de deterioro (véase "Deterioro del producto").
2. Se deben llevar a cabo controles positivos (*Escherichia coli* ATCC 25922) y negativos (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495) junto con los organismos de prueba. El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de NCCLS y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Dejar reposar al menos 30 seg para que se produzca el cambio de color antes de interpretar la prueba de indol como negativa. Los organismos pigmentados pueden producir resultados ambiguos.

CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO4

Miller y Wright probaron el reactivo de indol Kovacs, *p*-dimetilaminobenzaldehído (DMABA), el reactivo de indol Ehrlich y *p*-dimetilaminocinnamalaldehído (DMACA), como reactivos de indol rápidos para analizar 359 cepas de bacilos gram negativos que crecen en agar de sangre de oveja (SBA), agar de soja **Trypticase** (TSA) y agar MacConkey (MAC). Todos los reactivos detectaron con exactitud la producción de indol generada por los miembros de la especie *Enterobacteriaceae*, con la excepción de *Providencia alcalifaciens*, en el que los organismos fueron extraídos de SBA o TSA, pero no de MAC. Además, se evaluó la reactividad general del procedimiento de indol rápido con 183 cepas de control con resultado positivo a indol conocido. Estos resultados se resumen en la tabla a continuación.

Reactivos	N° de positivos (% positivos)	N° positivos detectados / N° de controles de positivos		
		SBA	TSA	MAC
Kovacs	156/183 (85)	168/183 (92)	41/183 (22)	
DMABA	156/183 (85)	168/183 (92)	41/183 (22)	
Ehrlich	155/183 (85)	168/183 (92)	41/183 (22)	
DMACA	183/183 (100)	183/183 (100)	42/183 (23)	

DISPONIBILIDAD N° de cat. Descripción 261185 **BBL** Reactivo Indol en Gotarios, pqt. de 50 gotarios/caja.