



## Kovac's Reagent

Reagent for indole test of Enterobacteriaceae.

### INTENDED PURPOSE

Reagent for execution of indole test for *Enterobacteriaceae*. This test is intended as an aid in the diagnosis, requiring further tests to complete the diagnostic results.

### DESCRIPTION

Kovac's Reagent is used in determining the ability of bacteria, primarily Enterobacteriaceae, to produce indole by the deamination of tryptophan.

### KIT CONTENT

- 4 Bottles of Kovac's Reagent (25 ml).

### METHOD PRINCIPLE

The production of indole has been widely used as an aid in differentiating certain genera and species within the same genus. Bacteria that produce the enzyme tryptophanase are able to degrade the amino acid tryptophan into pyruvic acid, ammonium and indole. The indole produced reacts with p-dimethylaminobenzaldehyde of the Kovac's (indole) reagent to form a red-violet compound. The chief requirement for culturing an organism prior to performing the indole test is that the medium contains a sufficient quantity of tryptophan.

### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: inoculating loop, pipettes, culture media, physiological solution (0,85% saline), quality control organisms.

### REAGENTS

- 5% (w/v) p-dimethylaminobenzaldehyde dissolved in a solution of 25% hydrochloridric acid and 75% isobutyl alcohol

### SPECIMEN

Collect specimens in sterile containers or with sterile swabs and transport to the laboratory. Process each specimen using procedures appropriate for that sample. This product is recommended for use only with pure cultures.

Refer to specific guidelines for more detailed information.

### TEST PROCEDURE

1. Inoculate a pure culture of the organism to be tested into a tube with a tryptophan containing medium, such as peptone water or tryptic soy broth.
2. Incubate tubes at  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  for 24-48 hours.
3. Add 2-3 drops of Kovac's Reagent directly to the tube.

### INTERPRETING RESULTS

The formation of a red to purple color ("cherry-red ring") at the surface of the broth within 30 seconds (after addition of Kovac's Reagent) indicates a positive reaction for indole production. No color change (the reagent layer remains yellow/brown) is considered as a negative result.

### STORAGE

2-8°C in its original packaging. Keep away from sources of heat and avoid excessive changes of temperature. Use until the expiry date indicated on the label. Eliminate without using if there are signs of deterioration.

### SHELF LIFE

2 years.

## QUALITY CONTROL

**Appearance of Kovac's Reagent:** Yellow-green liquid, clear.

Control strain	Characteristic reactions	
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 ATCC® 25922 NCTC 12241	Positive reaction: Development of a red ring
<i>Proteus mirabilis</i>	WDCM 00023 ATCC® 29906 NCTC 11938	Negative reaction: Yellow/brown ring

Please refer to the actual batch related Certificate of Analysis (CoA).

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance testing of Kovac's Reagent was carried out using the QC strains listed above. The results obtained met the established criteria.

## LIMITATIONS

Organisms to be tested must be grown in a tryptophan containing media (for example tryptone water).

Media such as MacConkey Agar should not be used as they contain indicators which could result in the carryover of colour resulting in false positive colour interpretations.

Media containing glucose should not be used as acid production may inhibit indole production. Only pure cultures should be tested as false positive reactions with mixed cultures (of both indole positive and indole negative) are possible.

Allow at least 30 seconds for the color to develop before considering the indole test negative. Pigmented organisms may yield ambiguous results.

Indole produced by certain anaerobes, such as *Clostridium* species, can be rapidly degraded resulting in false negative reactions.

## WARNING AND PRECAUTIONS

- 1) **For *in vitro* diagnostic use (IVD).**
- 2) **For laboratory professional use only.**
- 3) Operators must be trained and have certain experience. Please read the instructions carefully before using the product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.
- 4) Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.
- 5) Do not use if the product or packaging appears to be damaged.
- 6) Follow standard precautions. All patient specimens should be considered potentially infectious and handled accordingly.
- 7) Handle all specimens as if infectious using safe laboratory procedures. Dispose of hazardous or biologically contaminated materials according to the practices of your institution.
- 8) Avoid cross-contamination of samples by using disposable tips and changing them after each sample.
- 9) Do not mix reagents of different batches. Please use the product within the validity period.
- 10) Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics or handle contact lenses in areas where reagents and human specimens are handled.
- 11) Results should be interpreted by a trained professional in conjunction with the patient's history and clinical signs and symptoms, and epidemiological risk factors.
- 12) Ensure laboratory equipment is calibrated and maintained in accordance with the laboratory's procedure.
- 13) When test results are transmitted from the laboratory to an informatics centre, attention has to be done to avoid erroneous data transfer.

## DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

## BIBLIOGRAPHY

See the references at the end of this document.

## TABLE OF SYMBOLS

See the table of symbols at the end of this document.

## ORDER INFORMATION

Product	Packaging	Ref.
Kovac's Reagent	4 x 25 ml (100-200 tests)	80271

## Revision History

Revision	Release Date	Change Summary
0	2023-05-15	Updated layout and content in compliance with IVDR 2017/746, version reset to revision 0

This IFU document and the SDS are available from the online Support Center:

[liofilchem.com/ifu-sds](https://liofilchem.com/ifu-sds)



## Kovac's Reagent

Reagente per il test dell'indolo sulle Enterobacteriaceae.

### DESTINAZIONE D'USO

Reagente per l'esecuzione del test dell'indolo sulle Enterobacteriaceae. Il test è inteso come ausilio alla diagnosi, e sono necessari ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

### DESCRIZIONE

Kovac's Reagent è utilizzato per determinare la capacità di batteri, soprattutto *Enterobacteriaceae*, di produrre indolo attraverso la deaminazione del triptofano.

### CONTENUTO DEL KIT

- 4 flaconi di Kovac's Reagent (25ml)

### PRINCIPIO DEL METODO

La produzione di indolo è stata ampiamente utilizzata come aiuto nella differenziazione di alcuni generi e specie all'interno dello stesso genere. I batteri che producono l'enzima triptofanasi sono in grado di degradare l'amminoacido triptofano in acido piruvico, ammonio e indolo. L'indolo prodotto reagisce con la p-dimetilaminobenzaldeide del Kovac's Reagent (indolo) formando un composto rosso-violetto. Il requisito principale per la coltura di un microrganismo prima di eseguire il test dell'indolo è che il terreno contenga una quantità sufficiente di triptofano.

### MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e apparecchiature microbiologiche standard come: ansa da inoculo, pipette, provette, soluzione fisiologica (0.85% salina), acqua peptonata, microrganismi per il controllo qualità.

### REAGENTI

- p-Dimetilaminobenzaldeide al 5% (p/v) disciolta in una soluzione di acido cloridrico al 25% ed alcol isobutilico al 75%.

### CAMPIONI

Raccogliere i campioni prelevati in contenitori sterili o con tamponi sterili e trasportarli in laboratorio. Trattare i campioni secondo la procedura appropriata per ognuno di loro. Questo prodotto è consigliato per l'uso esclusivamente con colture pure.

Fare riferimento alle linee guida specifiche per informazioni più dettagliate.

### PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare una coltura pura dell'organismo da testare in una provetta con un terreno contenente triptofano, come acqua peptonata o brodo di soia triptico.
2. Incubare le provette a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  per 24-48 ore.
3. Aggiungere 2-3 gocce di Kovac's Reagent direttamente nella provetta.

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La formazione di un colore da rosso a viola ("anello rosso ciliegia") sulla superficie del brodo entro 30 secondi (dopo l'aggiunta del Kovac's Reagent) indica una reazione positiva per la produzione di indolo. Nessun cambiamento di colore (lo strato di reagente rimane giallo/marrone) è considerato un risultato negativo.

### CONSERVAZIONE

2-8°C nella sua confezione originale. Tenere lontano da fonti di calore ed evitare eccessivi sbalzi di temperatura. Utilizzare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Eliminare senza utilizzare se vi sono segni di deterioramento.

### VALIDITÀ

2 anni.

## CONTROLLO QUALITÀ

**Aspetto Kovac's Reagent:** Liquido giallo-verde, limpido.

Ceppi di controllo		Caratteristiche di reazione
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 ATCC® 25922 NCTC 12241	Reazione positiva: Sviluppo di un anello rosso
<i>Proteus mirabilis</i>	WDCM 00023 ATCC® 29906 NCTC 11938	Reazione negativa: Sviluppo di un anello giallo/marrone

Fare riferimento al certificato di analisi (CoA) relativo al lotto effettivo.

## CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Il controllo delle prestazioni del Kovac's Reagent è stato eseguito utilizzando i ceppi sopra elencati. I risultati ottenuti hanno soddisfatto i criteri stabiliti.

## LIMITAZIONI

Gli organismi da testare devono essere coltivati in un terreno contenente triptofano (ad esempio acqua triptonica).

Terreni come l'agar MacConkey non devono essere utilizzati in quanto contengono indicatori che potrebbero provocare il cambiamento del colore con conseguenti interpretazioni del colore falsamente positive.

I terreni contenenti glucosio non devono essere utilizzati poiché la produzione di acido può inibire la produzione di indolo. Solo le colture pure devono essere testate poiché (sia indolo positive che indolo negative) sono possibili reazioni false positive.

Attendere almeno 30 secondi affinché il colore si sviluppi prima di considerare negativo il test dell'indolo. Gli organismi pigmentati possono produrre risultati ambigui.

L'indolo prodotto da alcuni anaerobi, come le specie *Clostridium*, può essere rapidamente degradato provocando reazioni false negative.

## AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- 1) **Per uso diagnostico in vitro (IVD).**
- 2) **Solo per uso professionale di laboratorio.**
- 3) Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza. Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare il prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita in caso di deviazioni dalle istruzioni contenute in questo documento.
- 4) Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle pratiche di manipolazione sicure.
- 5) Non utilizzare se il prodotto o la confezione sembrano danneggiati.
- 6) Seguire le precauzioni standard. Tutti i campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infetti e maneggiati di conseguenza.
- 7) Maneggiare tutti i campioni come infetti utilizzando procedure di laboratorio sicure. Smaltire materiali pericolosi o biologicamente contaminati secondo le pratiche del proprio istituto.
- 8) Evitare la contaminazione incrociata dei campioni utilizzando puntali monouso e sostituendole dopo ogni campione.
- 9) Non mescolare reagenti di lotti diversi. Si prega di utilizzare il prodotto entro il periodo di validità.
- 10) Non mangiare, bere, fumare, applicare cosmetici o maneggiare lenti a contatto nelle aree in cui vengono manipolati reagenti e campioni umani.
- 11) I risultati devono essere interpretati da un professionista qualificato insieme alla storia del paziente, ai segni e sintomi clinici e ai fattori di rischio epidemiologici.
- 12) Assicurarsi che le apparecchiature di laboratorio siano calibrate e mantenute in conformità con la procedura del laboratorio.
- 13) Quando i risultati dei test vengono trasmessi dal laboratorio a un centro informatico, è necessario prestare attenzione per evitare trasferimenti di dati errati.

## SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

### **BIBLIOGRAFIA**

Vedere i riferimenti bibliografici alla fine di questo documento

### **TABELLA DEI SIMBOLI**

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento

### **INFORMAZIONI PER L'ORDINE**

<b>Prodotto</b>	<b>Confezionamento</b>	<b>Rif.</b>
Kovac's Reagent	4 x 25 ml (100-200 tests)	80271

Questo documento IFU e la SDS sono disponibili dal Support Center online: [liofilchem.com/ifu-sds](http://liofilchem.com/ifu-sds)

DOMINIQUE DUTSCHER SAS



## Kovac's Reagent

Odczynnik do określania zdolności do produkcji indolu u Enterobacteriaceae.

### PRZEZNACZENIE

Odczynnik do wykonania testu indolowego na obecność Enterobacteriaceae. Test ten ma na celu pomoc w diagnozie i wymaga dalszych badań w celu uzupełnienia wyników diagnostycznych.

### OPIS

Odczynnik Kovaca służy do określania zdolności bakterii, głównie Enterobacteriaceae, do wytwarzania indolu poprzez deaminację tryptofanu.

### ZAWARTOŚĆ ZESTAWU

- 4 Butelki Kovac's Reagent (25 ml).

### ZASADA METODY

Produkcja indolu jest szeroko stosowana jako pomoc w różnicowaniu niektórych rodzajów i gatunków w obrębie tego samego rodzaju. Bakterie wytwarzające enzym tryptofanazę są zdolne do rozkładu bez aminokwasu po prostu tryptofanu do kwasu pirogronowego, amonu i indolu. Wytworzony indol reaguje z p-dimetyloaminobenzaldehydem z odczynnika Kovac's (indol), tworząc czerwono-fioletowy związek. Głównym wymaganiem w przypadku hodowli organizmu przed wykonaniem testu indolowego jest to, aby pożywka zawierała wystarczającą ilość tryptofanu.

### MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOŁĄCZONE

Standardowe zaopatrzenie i wyposażenie mikrobiologiczne takie jak: eza inokulacyjna, pipety, pożywki hodowlane, roztwór fizjologiczny (0,85% soli fizjologicznej), to jeszcze dodatkowo jeśli chodzi o kontrolę jakości.

### ODCZYNNIKI

- 5% (w/v) p-dimetyloaminobenzaldehydu rozpuszczonego w 25% roztworze kwasu solnego i 75% alkoholu izobutyloвого

### PRÓBKA

Pobrać od pacjentów do sterylnych pojemników lub użyć sterylnych wymazówek i przetransportować do laboratorium. Opracować każdą próbkę przy użyciu procedur odpowiednich dla tej próbki. Ten produkt jest zalecany do stosowania tylko z czystymi hodowlami.

Więcej szczegółowych informacji można znaleźć w konkretnych wytycznych.

### PROCEDURA TESTU

1. Zaszczepić czystą kulturę badanego organizmu do próbki z pożywką zawierającą tryptofan, taką jak woda peptonowa lub tryptic soy broth.
2. Inkubować próbki w temperaturze  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  przez 24-48 godzin.
3. Dodaj 2-3 krople odczynnika Kovaca bezpośrednio do próbki.

### INTERPRETACJA WYNIKÓW

Tworzenie się zabarwienia od czerwonego do fioletowego („wiśniowoczerwony pierścień”) na powierzchni bulionu w ciągu 30 sekund (po dodaniu Kovac's Reagent) wskazuje na pozytywną reakcję (bakterie produkują indol) Brak zmiany koloru (warstwa odczynnika pozostaje żółto-brązowa) uważa się za wynik negatywny.

### PRZECHOWYWANIE

2–8°C w oryginalnym opakowaniu. Trzymać z dala od źródeł ciepła i unikać nadmiernych zmian temperatury. Nie używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie. Jeśli widoczne są oznaki pogorszenia jakości produktu, należy go wyrzucić bez używania.

### OKRES TRWAŁOŚCI

2 lata.

## KONTROLA JAKOŚCI

**Pojawienie się Kovac's Reagent:** Żółto-zielona ciecz, przezroczysta.

Szczepy kontrolne	Reakcje charakterystyczne	
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 ATCC® 25922 NCTC 12241	Dodatnia reakcja: Rozwój czerwonego pierścienia
<i>Proteus mirabilis</i>	WDCM 00023 ATCC® 29906 NCTC 11938	Negatywna reakcja: Pierścień żółto-brązowy

Proszę zapoznać się z aktualnym Certyfikatem Analizy (CoA) związanym z partią.

## CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA

Testowanie działania Kovac's Reagent przeprowadzono przy użyciu szczepów kontroli jakości wymienionych powyżej. Uzyskane wyniki spełniły założone kryteria.

## OGRANICZENIA

Organizmy przeznaczone do badania muszą być hodowane w pożywce zawierającej tryptofan (np. wodzie tryptonowej).

Nie należy stosować podłoży takich jak MacConkey Agar, ponieważ zawierają one wskaźniki, które mogą spowodować przeniesienie koloru i fałszywie dodatnią interpretację kolorów.

Nie należy stosować podłoży zawierających glukozę, ponieważ wytwarzanie kwasu może hamować wytwarzanie indolu. Należy badać wyłącznie czyste kultury, ponieważ możliwe są fałszywie dodatnie reakcje w przypadku kultur mieszanych (zarówno indolo-dodatnich, jak i indoloujemnych).

Zanim wynik testu indolowego zostanie uznany za negatywny, należy odczekać co najmniej 30 sekund, aż zabarwienie się rozwinie. Organizmy pigmentowane mogą dawać niejednoznaczne wyniki.

Indol wytwarzany przez niektóre beztlenowce, takie jak gatunki *Clostridium*, może ulegać szybkiemu rozkładowi, co powoduje fałszywie ujemne reakcje.

## OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1) **Wyłącznie do zastosowania w diagnostyce *in vitro* (IVD).**

2) **Wyłącznie do profesjonalnego zastosowania laboratoryjnego.**

3) Operatorzy muszą być przeszkoleni i posiadać pewne doświadczenie. Przed użyciem zestawu należy uważnie przeczytać instrukcję obsługi. Wiarygodność wyników badania nie może być zagwarantowana, jeśli występują jakiegokolwiek odstępstwa od instrukcji zawartych w niniejszym dokumencie.

4) Należy zapoznać się z kartą charakterystyki (SDS) w celu uzyskania informacji na temat zagrożeń i praktyk bezpiecznego postępowania.

5) Nie używać, jeśli panel, probówka lub opakowanie wydają się uszkodzone.

6) Należy przestrzegać standardowych środków ostrożności. Wszystkie próbki pobrane od pacjentów należy uznać za potencjalnie zakaźne i postępować z nimi w odpowiedni sposób.

7) Ze wszystkimi próbkami należy postępować tak, jakby były zakaźne, stosując bezpieczne procedury laboratoryjne. Materiały niebezpieczne lub biologicznie skażone należy utylizować zgodnie z praktykami stosowanymi w danej instytucji.

8) Unikać zanieczyszczenia krzyżowego próbek, stosując jednorazowe końcówki i wymieniając je po każdej próbce.

9) Nie mieszać odczynników z różnych partii. Należy korzystać z zestawu w okresie jego przydatności do użycia.

10) Nie jeść, nie pić, nie palić, nie nakładać kosmetyków ani nie dotykać soczewek kontaktowych w miejscach pracy z odczynnikami i próbkami ludzkimi.

11) Wyniki powinny być interpretowane przez przeszkolonego specjalistę w powiązaniu z historią pacjenta i objawami klinicznymi oraz epidemiologicznymi czynnikami ryzyka.

12) Należy upewnić się, że sprzęt laboratoryjny jest skalibrowany i konserwowany zgodnie z procedurą laboratoryjną.

13) Gdy wyniki badań są przekazywane z laboratorium do centrum informatycznego, należy zachować ostrożność, aby uniknąć błędnego przesłania danych.

## UTYLIZACJA ODPADÓW



Odpady należy usuwać zgodnie z obowiązującymi przepisami krajowymi i lokalnymi.

### SZCZEGÓŁY ZAMÓWIENIA

Produkt	Opakowanie	Ref.
Kovac's Reagent	4 x 25 ml (100-200 testów)	80271

Ten dokument jest dostępny w internetowym Centrum Wsparcia:












[liofilchem.com/ifu-sds](http://liofilchem.com/ifu-sds)

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

## References / Bibliografia

1. Murray, Baron, Pfaller, Tenorev and Tenover: Manual of Clinical Microbiology (1995).
2. Bayley and Scott's: Diagnostic Microbiology (1986).
3. Edwin H. Lennette: Manual of Clinical Microbiology (1995).

## Table of Symbols / Tabella dei Simboli / Tabela Symboli

	Batch code / Codice del lotto / Kod partii
	Catalogue number / Numero di catalogo / Numer katalogowy
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i> / Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Manufacturer / Fabbricante / Producent
	Use by / Utilizzare entro / Używany przez
	Fragile, handle with care / Fragile, maneggiare con cura / Delikatne, obchodzić się ostrożnie
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Ograniczenie temperatury
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi / Zawiera ilość wystarczającą na testów
	Consult instructions for use / Consultare le istruzioni per l'uso / Zapoznaj się z instrukcją użytkowania
	Do not reuse / Non riutilizzare / Nie używać ponownie
	Keep away from sunlight / Tenere al riparo dalla luce solare / Trzymaj z dala od światła słonecznego



**Liofilchem® s.r.l.**

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy

Tel. +39 0858930745

Fax +39 0858930330

www.liofilchem.com

liofilchem@liofilchem.com



**IVD**