Instructions For Use
ENGLISH

ONPG Test

Rapid test for the detection of β-galactosidase activity.

INTENDED PURPOSE

Test for the detection of bacterial β-galattosidase. This test is intended as an aid in the diagnosis, requiring further tests to complete the diagnostic results.

DESCRIPTION

ONPG Test are filter paper discs impregnated with a reagent for differentiation and microbial identification, particularly of Gram-negative bacteria, based on the presence of enzyme β-galactosidase, which allows bacteria to metabolize lactose.

KIT CONTENT

- 30 tubes of ONPG Test

METHOD PRINCIPLE

The ability of bacteria to ferment lactose depends on two enzymes: permease and beta-galactosidase. Permease regulates the movement of lactose across the bacterial cell wall. Once lactose is inside the cell, it is broken down into the individual components, glucose, and galactose, by β-galactosidase. Some *Enterobacteriaceae* such as *E. coli*, *Klebsiella* spp. and *Enterobacter* spp., produce both β-galactosidase and permease, while late lactose fermenting organisms, like *Citrobacter* spp. and *Arizona* spp. produce only β-galactosidase. True lactose non-fermenters do not possess either of these enzymes (e.g. species of *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Providencia* and *Morganella*). The colourless ONPG (ortho-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside) is hydrolyzed by microorganisms that produce the enzyme β-galactosidase with the formation of o-nitrophenol, a yellow compound. In addition, ONPG is able to enter the bacterial cell more easily than lactose as it is not dependent on the presence of the permease enzyme.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: inoculating loop, pipettes, physiological solution (0.85% sterile saline), culture media, quality control organisms.

REAGENTS

- Each tube contains a desiccated medium whose formulation includes, among others, the ortho-nitrophenyl-galactopyranoside (ONPG), which is a specific substratum for the β-galactosidase.

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. Take the package from the fridge, take one or more tubes and and leave it for a few minutes on the bench until it has reached room temperature.
2. Add 0.2 mL of physiological solution to the tube.
3. With a sterile loop pick up one or more than one well isolated colony from a fresh culture plate (18-24 hours old) and emulsify in the tube.
4. Take a second tube and add 0.2 mL of physiological solution. Do not to inoculate this tube and use it as negative control.
5. Incubate tubes at 35 ± 2°C for up to 24 hours.
6. Examine for colour reactions after 4 h and for up to 24 h.

Note: Positive and negative controls should be run simultaneously with the organism to be tested (see QUALITY CONTROL).

INTERPRETING RESULTS

A positive ONPG reaction is indicated by development of a yellow colour.
No color change is a negative test, indicating the absence of β -galactosidase activity.

STORAGE

Store at 2-8°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

1 year.

QUALITY CONTROL

Control strain		Characteristic reactions
Escherichia coli	ATCC® 25922	Positive reaction: Colour change to yellow
Citrobacter freundii	ATCC® 8090	
Proteus mirabilis	ATCC® 25923	Negative reaction: No color change
Salmonella Enteritidis	ATCC® 13076	

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance testing of ONPG Test was carried out using the QC strains listed above. The results obtained met the established criteria.

LIMITATIONS

Cultures which naturally yield yellow colour cannot be tested in this media.

Inoculation of test organism should be done only from lactose- containing medium.

The reaction speed depends on the size of the inoculum.

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.
ONPG Test Disc	30 tests	88005

Revision History

Revision	Release Date	Change Summary
1	2024-09-16	Added notice to report any malfunction, defect or incident.
0	2023-05-15	Updated layout and content in compliance with IVDR 2017/746, version reset to revision 0

In case of malfunctions or defects, contact immediately Liofilchem (*) or the local representative.

In case of incident associated with the device, notify immediately Liofilchem (*) or its local representative and the National Competent Authority.

*Please login to https://www.liofilchemstore.it/login.php (user ID and password required) and click on Complaint.

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

liofilchem.com/ifu-sds

Istruzioni per l'uso

ITALIANO

ONPG Test

Test rapido per la ricerca della β-galattosidasi batterica

DESTINAZIONE D'USO

Test per la ricerca della beta-galattosidasi batterica. Il test è inteso come ausilio alla diagnosi, e sono necessari ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

DESCRIZIONE

Gli ONPG Test sono dischi di carta da filtro impregnati di un reagente per la differenziazione e l'identificazione microbica, in particolare di batteri Gram-negativi, basata sulla presenza dell'enzima β-galattosidasi, che permette ai batteri di metabolizzare il lattosio.

CONTENUTO DEL KIT

- 30 provette di ONPG Test

PRINCIPIO DEL METODO

La capacità dei batteri di fermentare il lattosio dipende da due enzimi: la permeasi e la beta-galattosidasi. La permeasi regola il movimento del lattosio attraverso la parete cellulare batterica. Una volta che il lattosio è all'interno della cellula, viene scomposto nei singoli componenti, glucosio e galattosio, dalla β-galattosidasi. Alcune Enterobacteriaceae come *E. coli*, *Klebsiella* spp. ed *Enterobacter* spp., producono sia β-galattosidasi che permeasi, mentre organismi che fermentano tardivamente il lattosio, come *Citrobacter* spp. e *Arizona* spp. producono solo β-galattosidasi. I veri lattosio non fermentanti non possiedono nessuno di questi enzimi (ad esempio specie di *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Providencia* e *Morganella*). L'ONPG incolore (orto-nitrofenil-β-D-galattopiranoside) viene idrolizzato da microrganismi che producono l'enzima β-galattosidasi con formazione di o-nitrofenolo, un composto giallo. Inoltre, l'ONPG è in grado di entrare nella cellula batterica più facilmente del lattosio in quanto indipendente dalla presenza dell'enzima permeasi.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e attrezzature microbiologiche standard quali: ansa da inoculo, pipette, soluzione fisiologica (0,85% salina), terreni di coltura, microrganismi per il controllo di qualità.

REAGENTI

- Ciascuna provetta contiene in forma essiccata, un terreno la cui formulazione comprende tra l'altro, l'orto-nitro-fenil-galattopiranoside (ONPG), substrato specifico per la β-galattosidasi.

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. Prendere la confezione dal frigo, prendere una o più provette e lasciarla per qualche minuto sul banco finché non avrà raggiunto la temperatura ambiente.
2. Aggiungere 0,2 mL di soluzione fisiologica alla provetta.
3. Con un'ansa sterile prelevare una o più colonie ben isolate da una piastra di coltura fresca (di 18-24 ore) ed emulsionare nella provetta.
4. Prendere una seconda provetta e aggiungere 0,2 mL di soluzione fisiologica. Non inoculare questa provetta e utilizzarla come controllo negativo.
5. Incubare le provette a 35 ± 2°C per un massimo di 24 ore.
6. Esaminare le reazioni cromatiche dopo 4 h e fino a 24 h.

Nota: i controlli positivi e negativi devono essere eseguiti simultaneamente con l'organismo da testare (vedere CONTROLLO DI QUALITÀ).

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Una reazione ONPG positiva è indicata dallo sviluppo di una colorazione gialla.
Nessun cambiamento di colore è un test negativo, che indica l'assenza di attività β-galattosidasica.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C al riparo dalla luce. Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza riportata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o segni di deterioramento.

VALIDITÀ

1 anno.

CONTROLLO QUALITÀ

Ceppi di controllo		Caratteristiche di reazione
Escherichia coli	ATCC® 25922	Reazione positiva: Sviluppo del colore giallo
Citrobacter freundii	ATCC® 8090	
Proteus mirabilis	ATCC® 25923	Reazione negativa: Nessun cambio di colore
Salmonella Enteritidis	ATCC® 13076	

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Il controllo delle prestazioni di ONPG Test è stato eseguito utilizzando i ceppi sopra elencati. I risultati ottenuti hanno soddisfatto i criteri stabiliti.

LIMITAZIONI

Le colture che producono naturalmente un colore giallo non possono essere testate su questo terreno.
L'inoculazione del microrganismo da testare deve essere effettuata solo da terreno contenente lattosio.
La velocità di reazione dipende dalla dimensione dell'inoculo.

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

Prodotto	Confezionamento	Ref.
ONPG Test	30 tests	88005

In caso di malfunzionamenti o difetti, contattare immediatamente Liofilchem (*) o il rappresentante locale.

In caso di incidente associato al dispositivo, avvisare immediatamente Liofilchem (*) o il suo rappresentante locale e l'Autorità Nazionale Competente.

*Si prega di effettuare il login su https://www.liofilchemstore.it/login.php (user ID e password richiesti) e cliccare su "Complaint".

Questo documento IFU e la SDS sono disponibili dal Support Center online: **liofilchem.com/ifu-sds**

References / Riferimenti

1. Public Health England. (2018). ONPG (β-Galactosidase) test. UK Standards for Microbiology Investigations. TP 24 Issue 4. https://www.gov.uk/guidance/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories
2. Lenette EH (1995) Manual of Clinical Microbiology.
3. Blazevic DJ, Ederer GM (1975) Principles of biochemical tests in diagnostic microbiology. 63-67. New York, John Wiley & Sons Lapage SP, Jayaraman MS (1964). Beta-galactosidase and lactose fermentation in the identification of enterobacteria including salmonellae. J Clin Path. 17:117.
4. Lederberg J (1950) The β-galactosidase of escherichia coli, strain K-12. J Bact. 60:381.

Table of Symbols / Tabella dei Simboli

LOT	Batch code / Codice del lotto
REF	Catalogue number / Numero di catalogo
IVD	*In Vitro* Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico *in vitro*
	Manufacturer / Fabbricante
	Use by / Utilizzare entro
	Fragile, handle with care / Fragile, maneggiare con cura
	Temperature limitation / Limiti di temperatura
Σ	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi
	Consult instructions for use / Consultare le istruzioni per l'uso
	Do not reuse / Non riutilizzare
	Keep away from sunlight / Tenere al riparo dalla luce solare

Liofilchem® s.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com

CE IVD