



Indole Test

Rapid test for detection of indole production.

INTENDED PURPOSE

Rapid test for evidence indole production in bacterial isolates. This test is intended as an aid in the diagnosis, requiring further tests to complete the diagnostic results.

DESCRIPTION

Indole test is used for the rapid qualitative determination of indole production as a first step in screening non-lactose fermenting colonies from agar plates.

KIT CONTENT

- 30 tubes of Indole Test
- 1 Kovac's reagent (3.0 ml)

METHOD PRINCIPLE

Bacteria that produce the enzyme tryptophanase can degrade the amino acid tryptophan into pyruvic acid, ammonia and indole. The indole produced reacts with p-dimethylaminobenzaldehyde of the Kovac's (indole) reagent to form a red-violet compound.

The production of indole from tryptophan is a characteristic absent in *Salmonella* but present in *E.coli*, *Morganella* and some species of *Klebsiella*, *Aerobacter* and *Citrobacter*.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: incubator, inoculating loop, pipettes, culture media, physiological solution (0,85% saline), test tubes, 0.5 McFarland turbidity standard, quality control organisms.

REAGENTS

- A tube of Indole Test contains desiccated biochemical substrates and nutritive components such as phenol red and tryptone, which includes tryptophane.
- Kovac's Reagent consist of 5% p-dimethylaminobenzaldehyde dissolved in a solution of 25% hydrochloric 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. Take the number of Indole Test tubes needed from the fridge and allow them to reach room temperature.
2. Add 0.3 ml of physiological solution to each tube.
3. Inoculate heavily with the test organism (*) from a fresh overnight pure culture.
4. Incubate at 35 ± 2 °C for up to 24 hours (**).
5. Examine tubes at intervals of 1,4 and 24 hours for broth colour change.
6. Add 2-3 drops of Kovac's Reagent to perform the Indole test.

*Microbial suspension equivalent to 0.5 McFarland turbidity standard (which corresponds to $1-2 \times 10^8$ CFU/ml for *E.coli*).

**Prolonged incubation may result in a false-positive test due to hydrolysis of proteins in the medium.

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

INTERPRETING RESULTS

The appearance of a red ring at the surface of the broth within 30 seconds (after addition of Kovac's Reagent) indicates a positive indole reaction.

Further tests are required for confirmation.

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

1 year.

QUALITY CONTROL

Appearance of Indole Test: Yellowish powder, yellow solution once reconstituted.

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

Control strain		Inoculum	Incubation	Characteristic reactions
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 ATCC® 25922 NCTC 12241	1-2 x 10 ⁸ CFU/ml	Up to 24 h/ 35 ± 2°C	Positive reaction: Formation of a red ring
<i>Proteus mirabilis</i>	WDCM 00023 ATCC® 29906 NCTC 11938			Negative reaction: Yellow/ brown ring
<i>Salmonella Tiphymurium</i>	WDCM 00031 ATCC® 14028 NCTC 12023			Negative reaction: Yellow ring

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

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

LIMITATIONS

Due to nutritional variation, some strains may result in poor growth or fail to grow on this medium providing false negative results.

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

Indole production 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.
Indole Test	30 tests	88017

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



Indole Test

Test rapido per la rilevazione della produzione di indolo.

DESTINAZIONE D'USO

Test rapido per evidenziare la produzione di indolo su isolati batterici. Il test è inteso come ausilio alla diagnosi, e sono necessari ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

DESCRIZIONE

Il test dell'indolo è usato per la determinazione qualitativa della produzione di indolo come primo passo nello screening di colonie non fermentanti il lattosio da piastre di agar.

CONTENUTO DEL KIT

- 30 provette di Indole Test
- 1 provetta di Kovac's Reagent (3.0 ml)

PRINCIPIO DEL METODO

I batteri che producono l'enzima triptofanasi sono in grado di degradare l'amminoacido triptofano in acido piruvico, ammoniaca e indolo. L'indolo prodotto reagisce con la p-dimetilamminobenzaldeide del Kovac's (Indole) Reagent formando un composto rosso-violetto.

La produzione di indolo dal triptofano è una caratteristica assente in *Salmonella* ma presente in *E.coli*, *Morganella* e alcune specie di *Klebsiella*, *Aerobacter* e *Citrobacter*.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e apparecchiature microbiologiche standard come: incubatore, ansa da inoculo, pipette, terreni di coltura, soluzione fisiologica (0,85% salina), provette, standard di torbidità 0.5 McFarland, microrganismi per il controllo qualità.

REAGENTI

- Una provetta di Indole Test contiene substrati biochimici essiccati e componenti nutritive come rosso fenolo e triptone, che include il triptofano.
- Kovac's Reagent è costituito dal 5% di p-dimetilamminobenzaldeide disciolto in una soluzione di acido cloridrico al 25% e alcool 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. Prelevare dal frigorifero il numero necessario di provette di Indole Test ed aspettare che raggiungano la temperatura ambiente
2. Aggiungere 0.3 mL di soluzione fisiologica in ciascuna provetta.
3. Inoculare con il microrganismo da esaminare (*) proveniente da una coltura recente incubata over night.
4. Incubare a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ fino a un massimo di 24 ore (**).
5. Osservare le provette a intervalli di 1, 4 e 24 ore per il cambio di colore del brodo.
6. Aggiungere 2-3 gocce di Kovac's Reagent per eseguire il Test Indolo

* Sospensione microbica equivalente allo standard di torbidità 0.5 McFarland (che corrisponde a $1-2 \times 10^8$ CFU/ml per *E. coli*).

** L'incubazione prolungata può dare luogo a un test falso positivo a causa dell'idrolisi delle proteine nel terreno.

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

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Un risultato positivo per Indole Test è indicato dallo sviluppo di un anello rosso sulla superficie del brodo entro 30 secondi (dopo l'aggiunta del Kovac's Reagent).

Ulteriori test sono necessari per la conferma.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C nella sua confezione originale. Tenere lontano da fonti di calore ed evitare eccessivi cambiamenti di temperatura. Utilizzare entro la data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni di deterioramento.

VALIDITÀ

1 anno.

CONTROLLO QUALITÀ

Aspetto dell'Indole Test: Polvere giallastra, soluzione gialla una volta ricostruita.

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

Ceppi di controllo		Inoculo	Incubazione	Caratteristiche di reazione
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 ATCC® 25922 NCTC 12241	1-2 x 10 ⁸ CFU/ml	Fino a 24 h/ 35 ± 2°C	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
<i>Salmonella</i> Tiphymurium	WDCM 00031 ATCC® 14028 NCTC 12023			Reazione negativa: Sviluppo di un anello giallo

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

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

LIMITAZIONI

A causa della variazione nutrizionale, alcuni ceppi possono causare una scarsa crescita o non crescere su questo terreno, fornendo risultati falsi negativi.

Attendere almeno 30 secondi affinché il colore si sviluppi prima di considerare negativo il test dell'indolo.

Gli organismi pigmentati possono produrre risultati ambigui.

La produzione di indolo da parte di alcuni anaerobi, come la specie *Clostridium*, può essere rapidamente degradata con conseguenti reazioni false negative.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- 1) Per uso diagnostico in vitro (IVD).**
- 2) Solo per uso professionale di laboratorio.**
- 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.
- Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle pratiche di manipolazione sicure.
- Non utilizzare se il prodotto o la confezione sembrano danneggiati.
- Seguire le precauzioni standard. Tutti i campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infetti e maneggiati di conseguenza.
- Maneggiare tutti i campioni come infetti utilizzando procedure di laboratorio sicure. Smaltire materiali pericolosi o biologicamente contaminati secondo le pratiche del proprio istituto.
- Evitare la contaminazione incrociata dei campioni utilizzando puntali monouso e sostituendole dopo ogni campione.
- 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	Rif.
Indole Test	30 tests	88017

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

References / Riferimenti

1. EN ISO 11133:2014+Amd1:2018+Amd2:2020. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. Public Health England. (2019). Urease test. UK Standards for Microbiology Investigations. TP 36 Issue 4. <https://www.gov.uk/guidance/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>
3. Public Health England. (2018). Indole test. UK Standards for Microbiology Investigations. TP 19 Issue 4
4. Iseberg H.D. and Sundheim L.H.(1980) Indole reactions in bacteria. J. Bacteriol. 75:682-690. Baltimore, Williams & Wilkins.
5. MacFaddin J.F. (1980) Biochemical tests for identification for medical bacteria. 2nd ed. 173-183. Baltimore, Williams & Wilkins.
6. Blazevic D.J. and Ederer, G.M.(1975) Principles of biochemical tests in diagnostic microbiology. 63-67. New York, John Wiley & Sons.

Table of Symbols / Tabella dei Simboli

	Batch code / Codice del lotto
	Catalogue number / Numero di catalogo
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i>
	Manufacturer / Fabbricante
	Use by / Utilizzare entro
	Fragile, handle with care / Fragile, maneggiare con cura
	Temperature limitation / Limiti di temperatura
	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

