Instructions For Use
ENGLISH

Ninhydrin 7% Reagent

Reagent for Hippurate Test.

INTENDED PURPOSE

Reagent to perform hippurate test on bacterial isolate. This test is intended as an aid in the diagnosis, requiring further tests to complete the diagnostic results.

DESCRIPTION

Ninhydrin 7% Reagent is used to detect the hydrolysis of sodium hippurate by certain bacteria. This test allows for example to differentiate Lancefield Group B Streptococci (GBS) from other β-hemolytic streptococci.

KIT CONTENTS

- 1 Dropper Bottle of Ninhydrin Reagent (10 ml)

METHOD PRINCIPLE

Group B streptococci (*Streptococcus agalactiae*) and some other bacteria such as *Gardnerella vaginalis*, *Legionella pneumophila*, and *Campylobacter jejuni*, produce the enzyme hippurate hydrolase (hippuricase) which hydrolyzes hippuric acid to sodium benzoate and glycine. The hydrolysis of hippuric acid is detected with ninhydrin, a strong oxidizing agent that deaminates α-amino groups of glycine with the release of ammonia and carbon dioxide. Then, ammonia reacts with residual ninhydrin to form a blue to purple colored complex.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: Paper discs impregnated with sodium hippurate (see ref. 88007), culture media, inoculating loop, quality control organisms, test tubes, physiological solution.

REAGENTS

- Ninhydrin Reagent: 7% ninhydrin dissolved in an organic solvent.

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. Add 0.2 ml of sterile physiological solution to a test tube.
2. Inoculate with 1-3 colonies of a fresh isolate and mix well.
3. Using forceps, drop a Hippurate Test disc into the microbial suspension.
4. Incubate tubes at 35 ± 2°C for 2 hours.
5. Add 2 drops of Ninhydrin 7% Reagent to the test tube, shake gently, re-incubate for 10 minutes. Do not exceed 30 minutes as false reactions may occur.

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

INTERPRETING RESULTS

Observe for a color change of the test suspension: A positive hippurate reaction is indicated by a color change of the test suspension to blue-purple. No color change is considered as a negative result.

STORAGE AND TRANSPORT CONDITIONS

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

Expected Response:

Appearance of Ninhydrin Reagent: Yellow liquid, clear.

Control strain		Characteristic reactions
Streptococcus agalactiae	ATCC® 13813 NCTC 8181	Positive reaction: Color change to blue
Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615 NCTC 12696	Negative reaction: No color change

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

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance testing of Ninhydrin 7% Reagent was carried out using the QC strains listed above. The results obtained met the established criteria.

LIMITATIONS

Identification obtained with Hippurate Test is presumptive and must be confirmed by further biochemical and serological tests.

Some strains of group D streptococci may give a weak positive result. Group B and D streptococci can be distinguished by subculture on Bile Aesculin Agar. Only group D streptococci hydrolyze esculin yielding a black color of the medium.

Incubation of the test culture for more than 30 min after the Ninhydrin Reagent has been added may yield false-positive results.

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.
Ninhydrin 7% Reagent	10 ml bottle	80273

Revision History

Revision	Release Date	Change Summary
1	2024-05-13	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

ITALIANO

Ninhydrin 7% Reagent

Reagente per il test dell'ippurato.

DESTINAZIONE D'USO

Kit per eseguire il test dell'ippurato su colonie batteriche. Il test è inteso come ausilio alla diagnosi, e sono necessari ulteriori test per completare i risultati diagnostici. Hippurate Test è un kit utilizzato per la determinazione rapida dell'idrolisi dell'ippurato come ausilio nell'identificazione di alcuni batteri.

DESCRIZIONE

Ninhydrin 7% Reagent viene utilizzato per rilevare l'idrolisi dell'ippurato di sodio da parte di alcuni batteri.
Questo test consente ad esempio di differenziare gli *streptococchi di gruppo B di Lancefield* (GBS) da altri *streptococchi β-emolitici*.

CONTENUTO DELLE CONFEZIONI

- 1 flacone contagocce di Ninhydrin 7% Reagent (10ml)

PRINCIPIO DEL METODO

Gli streptococchi di gruppo B ed alcuni altri batteri (*Gardnerella vaginalis*, alcuni specie di *Listeria*, *Campylobacter jejuni*) producono l'enzima ippurato idrolasi (ippuricasi) che idrolizza l'acido ippurico con formazione di sodio benzoato e glicina. L'idrolisi dell'acido ippurico può essere determinata con il reattivo Ninidrina, un forte ossidante che deamina i gruppi α-aminici della glicina con formazione di NH_3 e CO_2. Gli ioni ammonio reagiscono con la residua ninidrina portando alla formazione di una colorazione blu. Hippurate Test deve essere considerato come un ausilio nell'identificazione di alcune specie batteriche e per la differenziazione tra streptococchi di gruppo B ed altri streptococchi β- emolitici.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e attrezzature microbiologiche standard come: dischi di carta impregnati di ippurato di sodio (vedi rif. 88007), terreni di coltura, ansa per inoculo, microrganismi per controllo qualità, provette, soluzione fisiologica.

REAGENTI

- Ninhydrin Reagent: 7% di Ninidrina disciolta in un solvente organico.

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. Aggiungere 0,2 ml di soluzione fisiologica sterile in una provetta.
2. Inoculare con 1-3 colonie di un isolato fresco e miscelare bene.
3. Usando una pinza, far cadere un disco Hippurate Test nella sospensione microbica.
4. Incubare le provette a 35 ± 2°C per 2 ore.
5. Aggiungere 2 gocce di Ninhydrin 7% Reagent alla provetta, agitare delicatamente, incubare nuovamente per 10 minuti. Non superare i 30 minuti poiché potrebbero verificarsi false reazioni.

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

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Osservare il viraggio del colore della sospensione del test: una reazione Ippurato positiva è indicata dal viraggio del colore della sospensione del test al blu-viola. Nessun cambiamento di colore è considerato un risultato negativo.

CONSERVAZIONE

Conservare a 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 del Ninhydrin 7% Reagent: liquido giallo, trasparente.

Ceppi di controllo		Caratteristiche di reazione
Streptococcus agalactiae	ATCC® 13813 NCTC 8181	Reazione positiva: Sviluppo del colore blu
Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615 NCTC 12696	Reazione negativa: Nessun sviluppo di colore

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

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Il controllo delle prestazioni di Ninhydrin 7% Reagent è stato eseguito utilizzando i ceppi sopra elencati. I risultati ottenuti hanno soddisfatto i criteri stabiliti.

LIMITAZIONI

L'identificazione ottenuta con Hippurate Test è presuntiva e deve essere confermata da ulteriori test biochimici e sierologici.

Alcuni ceppi di streptococchi di gruppo D possono dare un risultato debolmente positivo. Gli streptococchi di gruppo B e D possono essere distinti mediante subcoltura su Bile Aesculin Agar. Solo gli streptococchi di gruppo D idrolizzano l'esculina producendo un colore nero del terreno.

L'incubazione della coltura del test per più di 30 minuti dopo l'aggiunta di Ninhydrin 7% Reagent può produrre risultati falsi positivi.

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.

INFORMAZIONI PER L'ORDINE

Prodotto	Confezionamento	Rif.
Ninhydrin 7% Reagent	10 ml bottle	80273

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 / Bibliografia

1. Finegold S.M., Martin W.J., Scott E.G. In: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 5th edition, p. 490. St. Louis, CV. Mosby, 1978.
2. Koneman E.W., Allen V.R.D., Sommers H.M. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 2nd ed. 1983.
3. Piot, P. Gardnerella vaginalis. In: Manual of Clinical Microbiology. Lennette E.H., Balowes A., Hausler W.J., Shadomy H.J. Eds. American Society for microbiology. Washington, D.C. 1985.
4. Chapin K.C., Lauderdale T.L. Reagents, Stain and Media: bacteriology. In: Manual of Clinical Microbiology. Murray P.R., Baron E.J., Jorgensen J.H., Pfaller M.A., Yolken R.H. Eds. American Society for microbiology. Washington, D.C. 2003.

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
	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