



VP (NaOH) Reagent

Reagents for performing the Voges-Proskauer test

INTENDED PURPOSE

Kit of reagents for the execution of Voges-Proskauer test used as qualitative test to distinguish between members of Enterobacteriaceae on the basis of the capability to produce acetylmethylcarbinol (acetoin) as a fermentation product from glucose. This test is intended as an aid in the diagnosis, requiring further tests to complete the diagnostic results.

DESCRIPTION

VP (NaOH) Reagent is used for the identification of bacteria, particularly in the Enterobacteriaceae family, based on production of acetylmethylcarbinol (acetoin) from glucose metabolism.

KIT CONTENT

- 5 Vials of Sodium Alpha-naphthol (10 ml)
- 5 Vials of Potassium Hydroxide (10 ml)
- 2 Empty dropper bottles

METHOD PRINCIPLE

Certain bacteria metabolize glucose to produce acetylmethylcarbinol when cultivated in specific media such as MR-VP broth. Upon addition of Voges-Proskauer reagents, acetylmethylcarbinol is oxidized to diacetylmethylcarbinol, which in turn reacts with creatine (from the broth) to form a red-colored compound.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: inoculating loop, pipettes, culture media, quality control organisms.

REAGENTS

- 5% (w/v) solution of alpha naphthol in ethyl alcohol
- 40% (w/v) solution of potassium hydroxide in distilled water

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

Empty the contents of a reagent vial into the relevant dropper bottle provided with the kit (optional).

Test Methods

Standard Method (Barritt's Modification)

1. Inoculate a tube of MR-VP broth with a pure culture of the test organism and incubate at $35 \pm 2^\circ\text{C}$ for 24-72 hours.
2. Following incubation, aseptically transfer 1-2 ml of the broth culture to a separate test tube.
3. Add 0.6 ml (12 drops) of alpha-naphthol and 0.2 ml (4 drops) of NaOH 40% and shake well to expose the medium to atmospheric oxygen (necessary for oxidation of acetoin to obtain a colour reaction).

Other Methods

VP (NaOH) Reagent can be used in association with commercially prepared bacterial identification systems (e.g. EnteroPluri-Test). Follow the manufacturer's instructions for use.

INTERPRETING RESULTS

A positive test is given by the development of a pink to bright red colour within 20 minutes after addition of reagents. No color development indicates a negative reaction.

STORAGE

Store at 2-8°C away from light in its original package, until the expiry date shown on the label. Eliminate if signs of deterioration or contamination are evident.

SHELF LIFE

2 years.

QUALITY CONTROL

Appearance control: The alpha-naphthol solution appears limpid and beige; the potassium hydroxide solution appears clear limpid colourless

Control strain		Characteristic reactions
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b	WDCM 00021 ATCC® 13932 NCTC 10527	Positive reaction: Formation of a pink to bright red colour
<i>Enterobacter cloacae</i>	WDCM 00083 ATCC® 13047 NCTC 10005	
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 ATCC® 25922 NCTC 12241	Negative reaction: No colour change

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance testing of VP (NaOH) Reagent was carried out using the QC strains listed above. The results obtained met the established criteria.

LIMITATIONS

One should at least 20 min for color to develop before considering the Voges-Proskauer test negative.

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.
VP (NaOH) Reagent	5 x 10 ml vials 5 x 10 ml vials	80280

Revision History

Revision	Release Date	Change Summary
5	2024-05-13	Added notice to report any malfunction, defect or incident.
4	2023-05-15	Updated layout and content in compliance with IVDR 2017/746
3	2022-05-25	Updated: Kit Content, Table of Symbols

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



VP (NaOH) Reagent

Reagenti per l'esecuzione del test Voges-Proskauer

DESTINAZIONE D'USO

Kit di reagenti per l'esecuzione del test di Voges-Proskauer utilizzato come test qualitativo per differenziare le Enterobacteriaceae sulla base della capacità di produrre acetil metilcarbinolo (acetoina) fermentando il glucosio. Il test è inteso come ausilio alla diagnosi, e sono necessari ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

DESCRIZIONE

VP (NaOH) Reagent è utilizzato per l'identificazione dei batteri, in particolare della famiglia delle Enterobacteriaceae, in base alla produzione di acetilmetilcarbinolo (acetoina) dal metabolismo del glucosio.

CONTENUTO DEL KIT

- 5 fiale di sodio alfa-naftolo (10 ml)
- 5 fiale di idrossido di potassio (10 ml)
- Flaconcini contagocce vuoti

PRINCIPIO DEL METODO

Alcuni batteri se coltivati in terreni specifici come il brodo MR-VP metabolizzano il glucosio per produrre acetilmetilcarbinolo. All'aggiunta dei reagenti Voges-Proskauer a una provetta di coltura contenente brodo MR-VP, l'eventuale acetilmetilcarbinolo presente viene ossidato in metildiacetilcarbinolo, il quale reagisce con la creatina (del brodo) e forma un composto di colore rosso.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e apparecchiature microbiologiche standard come: ansa da inoculo, pipette, terreni di coltura, microrganismi per il controllo qualità.

REAGENTI

- Soluzione al 5% (p/v) di alfa-naftolo in alcol etilico
- Soluzione al 40% (p/v) di idrossido di potassio in acqua distillata

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

Svuotare il contenuto di una fiala di reagente nell'apposito flacone contagocce fornito con il kit (opzionale).

Metodiche dei test

Metodo standard (modifica di Barritt)

1. Inoculare una provetta di brodo MR-VP con una coltura pura del microrganismo da testare e incubare a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ per 24-72 ore.
2. Dopo l'incubazione, trasferire asetticamente 1-2 ml di brodo di coltura in una provetta separata.
3. Aggiungere 0,6 ml (12 gocce) di alfa-naftolo e 0,2 ml (4 gocce) di NaOH 40% e agitare bene per esporre il terreno all'ossigeno atmosferico (necessario per l'ossidazione dell'acetoina per ottenere una reazione cromatica).

Altre metodiche

VP (NaOH) Reagent possono essere usati per eseguire test estremamente accurati con i sistemi commerciali di identificazione batterica. Seguire le istruzioni per l'uso del produttore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Un test positivo è dato dallo sviluppo di una colorazione dal rosa al rosso vivo entro 20 minuti dall'aggiunta dei reagenti.

L'assenza di sviluppo del colore indica una reazione negativa.

Note: lo sviluppo di una colorazione ramata è da considerarsi negativa. I controlli positivi e negativi devono essere eseguiti simultaneamente con il microrganismo da testare (vedere CONTROLLO QUALITÀ).

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C al riparo dalla luce nella sua confezione originale, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni di deterioramento e contaminazione.

VALIDITÀ

2 anni.

CONTROLLO QUALITÀ

Aspetto: La soluzione di alfa-naftolo appare limpida e beige; la soluzione di idrossido di potassio si presenta limpida, incolore.

Ceppi di controllo		Caratteristiche di reazione
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b	WDCM 00021 ATCC® 13932 NCTC 10527	Reazione positiva: Formazione di un colore dal rosa al rosso vivo
<i>Enterobacter cloacae</i>	WDCM 00083 ATCC® 13047 NCTC 10005	
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 ATCC® 25922 NCTC 12241	Reazione negativa: Nessun cambio di colore

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Il controllo delle prestazioni del VP (NaOH) Reagent è stato eseguito utilizzando i ceppi sopra elencati. I risultati ottenuti hanno soddisfatto i criteri stabiliti.

LIMITAZIONI

Bisogna aspettare almeno 20 min per lo sviluppo del colore prima di considerare negativo il test Voges-Proskauer.

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 alla fine di questo documento

TABELLA DEI SIMBOLI

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento

INFORMAZIONI PER L'ORDINE

Product	Packaging	Ref.
VP (NaOH) Reagent	5 x 10 ml vials 5 x 10 ml vials	80280

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](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. McDevitt S (2009) Methyl Red and Voges-Proskauer Test Protocols. American Society for Microbiology. <https://asm.org/getattachment/0c828061-9d6f-4ae7-aea3-66e1a8624aa0/Methyl-Red-and-Voges-Proskauer-Test-Protocols.pdf>
3. Lennette EH (1995) Manual of Clinical Microbiology.
4. Blazevic DJ, Ederer GM (1975) Principles of biochemical tests in diagnostic microbiology. 63-67. New York, John Wiley & Sons.
5. Barritt MM (1943) Notes on the α -naphthol modification of the Voges-Proskauer test and reference to the creatine modification. J Hyg (Lond). 43(3): 214–216. DOI: 10.1017/s0022172400012845
6. Barritt MM (1936) The intensification of the Voges-Proskauer reaction by the addition of α -naphthol. J Pathol Bacteriol. 42:441-454.

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

