

Bile Aesculin Azide Agar

Selective medium for detection and enumeration of enterococci in water and other materials, according to ISO 7899-2.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Tryptone	17.0
Peptone	3.0
Yeast Extract	5.0
Ox-bile	10.0
Sodium Chloride	5.0
Aesculin	1.0
Ferric Ammonium Citrate	0.5
Sodium Azide	0.15
Agar	15.0
Final pH 7.1 ± 0.1 at 25°C	

DESCRIPTION

Bile Aesculin Azide Agar is a selective medium used for isolating and enumerating enterococci from environmental samples of sanitary importance and clinical specimens.

This medium complies with ISO 7899-2 for rapid confirmation of typical colonies on the primary isolation Slanetz Bartley Agar.

PRINCIPLE

Tryptone and peptone provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-group. Ox-bile inhibits the growth of numerous accompanying bacteria. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. The glycoside aesculin is hydrolyzed from enterococci to aesculetin and glucose. The aesculetin reacts with iron ions forming a dark brown or black complex. Sodium azide suppress the growth of Gram-negative bacteria. Agar is the solidifying agent.

PREPARATION

Suspend 56.7 g of powder in 1 liter of deionized or distilled water. Bring to boil and shake until completely dissolved. Mix well. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes. Cool up to 45-50°C. Pour in Petri dishes.

TECHNIQUE

ISO 7899-2 recommends to filter the water sample through a filter membrane (0.45 µm pore diameter), transfer the membrane onto a Slanetz Bartley Agar plate (ref. 163462) and incubate aerobically at 36 ± 2°C for 40-48 h.

Confirm red-maroon-pink colonies by transferring the membrane and the colonies onto a plate of Aesculin Azide Bile Agar which has been preheated to 44°C. Incubate at 44 ± 0.5°C for 2 h.

Alternatively, sample can be inoculated by spread plating, pour plating or by direct streaking on the medium surface. Incubate at 35 ± 2°C for 18-24 h.

INTERPRETATION OF RESULTS

Enterococci typically produce colonies showing a tan-black color in the surrounding medium.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed and use it before the expiry date on the label or until signs of deterioration or contamination are evident. Store prepared plates at 2-8°C away from light.

WARNING AND PRECAUTIONS

The product contains hazardous substances and is classified as dangerous. It is recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is designed for *in vitro* diagnostic use only and must be used by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

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

REFERENCES

- ISO 7899-2:2000. Water quality – Detection and enumeration of intestinal enterococci – Part 2: Membrane filtration method.
- Facklam R.R. and M. Moody (1970) Presumptive identification of group D streptococci: the bile-aesculin test. *App. Microbiol.* 20:245-250.
- Isenberg H.D. and D. Goldber (1970) Laboratory studies with a selective Enterococcus medium. *Appl. Microbiol.* 20:433-436
- Slanetz L.W. and C.H. Bartley (1957) Numbers of enterococci in water, sewage and faeces determined by the membrane filtration technique with an improved medium. *J. Bact.* 74:591-595.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



PRODUCT SPECIFICATIONS

NAME

Bile Aesculin Azide Agar

PRESENTATION

Dehydrated medium

STORAGE

10-30°C

PACKAGING

Ref.	Content	Packaging
610001	500 g	500 g of powder in plastic bottle
620001	100 g	100 g of powder in plastic bottle
6100015	5 Kg	5 kg of powder in plastic bottle

pH OF THE MEDIUM

7.1 ± 0.1

USE

Bile Aesculin Azide Agar is a selective medium used for confirmation and enumeration of enterococci from water and other samples according to ISO 7899-2

TECHNIQUE

Refer to technical sheet of the product

APPEARANCE OF THE MEDIUM

Powder medium

Appearance: free-flowing, homogeneous

Colour: beige

Ready-to-use medium

Appearance: slightly opalescent

Colour: dark amber to olive green

SHELF LIFE











4 years

QUALITY CONTROL

- Control of general characteristics, label and print
- Microbiological control
Inoculum for productivity: 50-100 CFU
Inoculum for selectivity: 10⁴-10⁶ CFU
Incubation Conditions: 18-24 h at 35 ± 2°C, in aerobiosis

Microorganism		Growth	Specification
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 19433	Good	Blackening
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC® 19434	Good	Blackening
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Inhibited	---
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC® 19615	Inhibited	---

TABLE OF SYMBOLS

 LOT	Batch code	 IVD	<i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device		Manufacturer		Use by		Fragile, handle with care
 REF	Catalogue number		Temperature limitation		Contains sufficient for <n> tests		Caution, consult instructions for use		Do not reuse



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@lioilchem.net



Bile Aesculin Azide Agar

Terreno selettivo per la ricerca ed il conteggio degli enterococchi nelle acque ed in altri materiali, secondo ISO 7899-2.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Triptone	17.0
Peptone	3.0
Estratto di Lievito	5.0
Bile di Bue	10.0
Sodio Cloruro	5.0
Esculina	1.0
Ferro Ammonio Citrato	0.5
Sodio Azide	0.15
Agar	15.0
pH Finale 7.1 ± 0.1 a 25°C	

DESCRIZIONE

Bile Aesculin Azide Agar è un terreno selettivo utilizzato per l'isolamento ed il conteggio di enterococchi da campioni ambientali di importanza sanitaria e campioni clinici

Questo terreno è conforme ad ISO 7899-2 per la conferma rapida degli enterococchi intestinali dopo l'isolamento su Slanetz Bartley Agar.

PRINCIPIO

Triptone e peptone forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, soprattutto del gruppo-B. La bile di bue inibisce la crescita della flora batterica contaminante. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. Il glicoside esculina è idrolizzato dagli enterococchi a esculetina e glucosio. L'esculetina reagisce con gli ioni ferro formando un complesso marrone scuro o nero. Il sodio azide sopprime la crescita dei batteri Gram negativi. L'agar è l'agente solidificante.

PREPARAZIONE

Sospendere 56.7 g di polvere in 1 litro di acqua deionizzata o distillata. Portare ad ebollizione ed agitare fino a completa dissoluzione. Miscelare bene. Sterilizzare a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 45-50°C. Versare in piastre Petri.

TECNICA

ISO 7899-2 raccomanda di filtrare il campione d'acqua attraverso una membrana (pori con diametro di 0.45 µm), trasferire la membrana su una piastra di Slanetz Bartley Agar (ref. 163462) ed incubare a 36 ± 2°C per 40-48 ore in atmosfera aerobica.

Confermare le colonie di colore rosso-marrone-rosa trasferendo la membrana e le colonie su una piastra di Aesculin Azide Bile Aga che è stata preriscaldata a 44°C. Incubare a 44 ± 0.5°C per 2 ore.

In alternativa, il campione può essere inoculato per spatolamento, inclusione o per striscio diretto sulla superficie del terreno. Incubare a 35 ± 2°C per 18-24 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Tipicamente gli enterococchi producono colonie con alone marrone-nero.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento. Conservare le piastre preparate a 2-8°C al riparo dalla luce.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanze nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dalla normativa vigente, perciò non è classificato come pericoloso; per il suo impiego si consiglia comunque di consultare la scheda di sicurezza. Il prodotto è destinato esclusivamente ad uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato da parte di personale qualificato.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento del prodotto deve essere effettuato secondo le vigenti regolamentazioni nazionali e locali.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. ISO 7899-2:2000. Water quality – Detection and enumeration of intestinal enterococci – Part 2: Membrane filtration method.
2. Facklam R.R. and M. Moody (1970) Presumptive identification of group D streptococci: the bile-aesculin test. *App. Microbiol.* 20:245-250.
3. Isenberg H.D. and D. Goldber (1970) Laboratory studies with a selective Enterococcus medium. *Appl. Microbiol.* 20:433-436
4. Slanetz L.W. and C.H. Bartley (1957) Numbers of enterococci in water, sewage and faeces determined by the membrane filtration technique with an improved medium. *J. Bact.* 74:591-595.



SPECIFICHE DI PRODOTTO

DENOMINAZIONE

Bile Aesculin Azide Agar

PRESENTAZIONE

Terreno disidratato

CONSERVAZIONE

10-30°C

CONFEZIONAMENTO

Ref.	Contenuto	Confezionamento
610001	500 g	500 g in flacone di plastica
620001	100 g	100 g in flacone di plastica
6100015	5 Kg	5 kg in flacone di plastica

pH DEL TERRENO

7.1 ± 0.1

IMPIEGO

Bile Aesculin Azide Agar è un terreno selettivo utilizzato per la conferma ed il conteggio di enterococchi nelle acque ed in altri campioni secondo ISO 7899-2

TECNICA

Fare riferimento alla scheda tecnica del prodotto

ASPETTO DEL TERRENO

Terreno in polvere

Aspetto: omogeneo, fine granulometria

Colore: beige

Terreno pronto all'uso

Aspetto: leggermente opalescente

Colore: da ambra scuro a verde oliva

VALIDITÀ DALLA DATA DI PRODUZIONE











4 anni

CONTROLLO DI QUALITÀ

- Controllo caratteristiche generali, etichettatura e stampa
- Controllo microbiologico
Dimensione dell'inoculo per produttività: 50-100 UFC
Dimensione dell'inoculo per selettività: 10⁴-10⁶ UFC
Condizioni di incubazione: 18-24 h a 35 ± 2°C, in aerobiosi

Microrganismo		Crescita	Specifiche
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 19433	Buona	Annerimento
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC® 19434	Buona	Annerimento
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Inibita	---
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC® 19615	Inibita	---

TABELLA DEI SIMBOLI

 LOT Numero di lotto	 IVD Per uso diagnostico <i>in vitro</i>	 Fabbricante	 Data di scadenza	 Fragile, maneggiare con cura
 REF Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net

