

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. 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

For professional use only. Operators must be trained and have certain experience in the laboratory methods. Please read the instructions carefully before using this product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.

Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.

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

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

Enterococcus faecalis

ATCC® 19433

Growth

Good

Specification

Blackening

Enterococcus faecium

ATCC® 19434

Good

Blackening

Escherichia coli

ATCC® 25922

Inhibited

Streptococcus pyogenes

ATCC® 19615

Inhibited

TABLE OF SYMBOLS

LOT	Batch code		Consult instructions for use		Manufacturer		Use by
REF	Catalogue number		Temperature limitation		Contains sufficient for <n> tests		Keep away from sunlight



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com

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)
Tryptone	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.

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

PRINCIPIO

Tryptone 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

La norma 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

Solo per uso professionale. Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza nei metodi di laboratorio. Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare questo prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita in caso di deviazioni dalle istruzioni riportate in questo documento.

Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle modalità di manipolazione sicure.

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.



LIOFILCHEM® S.r.l.

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

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	 Consultare le istruzioni per l'uso	 Fabbricante	 Data di scadenza
 REF	Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Tenere al riparo dalla luce del sole



LIOFILCHEM® S.r.l.

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