



## Easy Dry™ Bile Aesculin Azide

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

### DESCRIPTION

Liofilchem Easy Dry™ are absorbent pads impregnated with a sterile, dehydrated culture medium. Each pad is preplated in a Petri dish and is immediately ready to use after pouring sterile distilled or deionized water on it. Easy Dry™ are optimal for the examination of large sample volumes by the membrane filter method.

Easy Dry™ Bile Aesculin Azide is a selective medium used for the confirmation and enumeration of enterococci in water and foodstuffs.

This medium complies with the specification given by ISO 7899-2.

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

### METHOD 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 Gram-positive bacteria other than enterococci. 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 colony. Sodium azide inhibits Gram-negative bacteria.

### PREPARATION

1. Cut open a bag and remove the number of Easy Dry plates needed.
2. Moisten the pad contained in the Petri dish with 2.2 ml of sterile distilled or deionized water.
3. Wait 5 minutes before using.

### TEST PROCEDURE

Filter the sample through a filter membrane (0.45 µm pore diameter). Transfer the membrane onto a plate containing a just rehydrated pad of Easy Dry Slanetz Bartley (87508). Incubate aerobically at 36 ± 2°C for 40-48 hours. Typical colonies show a red, maroon or pink color, either in the centre or throughout the colony.

Confirm by transferring the membrane and the colonies onto a pad of Easy Dry Bile Aesculin Azide just rehydrated and pre-warmed to 44°C. Incubate at 44 ± 0.5°C for 2 hours.

### INTERPRETING RESULTS

Count all typical colonies showing a brown to black color in the surrounding medium as intestinal enterococci.

### APPEARANCE OF THE MEDIUM

Whitish pad. Yellowish once rehydrated.

### STORAGE

Store at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

### SHELF LIFE

2 years.

**QUALITY CONTROL**

The plates are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: 50-100 CFU.

Inoculum for selectivity:  $10^4$ - $10^6$  CFU.

Incubation conditions: aerobically at  $44 \pm 0.5^\circ\text{C}$  for 2 h.

**QC Table.**

Microorganism		Growth	Specification
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 19433	Good	Colonies surrounded by black halo
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC® 6057	Good	Colonies surrounded by black halo
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Inhibited	---
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 6538	Inhibited	---

**WARNING AND PRECAUTIONS**

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for professional use only and must be used by properly trained operators.

**DISPOSAL OF WASTE**

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









**BIBLIOGRAPHY**

1. ISO 7899-2:2000. Water quality – Detection and enumeration of intestinal enterococci – Part 2: Membrane filtration method.
2. R.R. Facklam, M.D. (1970) Moody, Presumptive identification of Group D Streptococci: The bile-aesculin test, Appl. Microbiol 20:245.
3. Lachica R.V. and Hartman, P.A. (1968): Two improved media for isolating and enumerating enterococci in certain frozen foods. J. Appl. Bact. 31: 151-156.
4. Slanetz, L.W. and Bartley, C.H. (1957). Numbers of enterococci in water, sewage, and feces determined by the membrane filter technique with an improved medium. J. Bact. 74: 591-595.

**PRESENTATION**

	Contents	Ref.
Easy Dry™ Bile Aesculin Azide 60 mm ready-to-use plates	100 plates	87508

**TABLE OF SYMBOLS**

<b>LOT</b> Batch code	 Keep away from sunlight	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
<b>REF</b> Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction 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 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net



## Easy Dry™ Bile Aesculin Azide

Medio selectivo para la detección y contaje de enterococos intestinales en agua, según la ISO 7899-2.

### DESCRIPCIÓN

Liofilchem Easy Dry™ on discos absorbentes impregnados con un medio de cultivo deshidratado estéril. Cada disco se presenta dentro de una placa Petri y está listo para su uso inmediato después de añadirle agua destilada o desionizada. Los Easy Dry™ están indicados para el análisis de volúmenes elevados de muestras a través del método de filtración de membrana.

Easy Dry™ Bile Aesculin Azide es un medio selectivo para la confirmación y contaje de enterococos intestinales en agua y alimentos.

Este medio sigue la norma ISO 7899-2.

FÓRMULA	(g/l)
Triptona	17.0
Peptona	3.0
Extracto de Levadura	5.0
Extracto de Bilis de Buey Deshidratado	10.0
Cloruro Sódico	5.0
Esculina	1.0
Citrato de Amonio de Hierro(III)	0.5
Azida Sódica	0.15
pH Final 7.1 ± 0.1 a 25°C	

### PRINCIPIO DEL MÉTODO

La triptona y la peptona proporcionan aminoácidos, nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales necesarios para el crecimiento de los organismos. El extracto de Levadura es una fuente de vitaminas, especialmente del grupo B. El extracto de bilis de buey inhibe las bacterias Gram-positivas que no sean enterococos. El cloruro sódico mantiene el equilibrio osmótico del medio. La esculina es hidrolizada por los enterococos a esculina y glucosa. La esculina reacciona con los iones de hierro formando colonias coloreadas de marrón oscuro o negro. La azida sódica inhibe a las bacterias Gram-negativas.

### PREPARACIÓN

1. Abrir una bolsa y retirar el número de placas Easy Dry requeridas.
2. Hidratar el disco presente dentro de la placa Petri con 2.2 ml de agua estéril o desionizada.
3. Esperar 5 minutos antes de utilizarlo.

### PROCEDIMIENTO DEL TEST

Filtrar la muestra a través de una membrana filtrante (diámetro del poro 0.45 µm). Transferir la membrana a una placa que contenga un disco recién rehidratado de Easy Dry Slanetz Bartley (ref. 87508). Incubar en condiciones aeróbicas a 36 ± 2°C durante 40-48 horas. Las colonias mostrarán una coloración roja, marrón o rosa, en el centro o lateral de la colonia.

Confirmar transfiriendo la membrana y las colonias en un disco Easy Dry Bile Aesculin Azide recién rehidratado y precalentado a 44°C. Incubar a 44 ± 0.5°C durante 2 horas.

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Contar todas las colonias que muestren una coloración marrón – negra como enterococos intestinales.

### APARIENCIA DEL MEDIO

Disco de color blanco. Amarillento después de su rehidratación.

### ALMACENAMIENTO

Almacenar a 10-25°C lejos del alcance de la luz. No utilizar el producto fuera de la fecha de caducidad descrita en la etiqueta o si el producto presenta alguna muestra de deterioro o contaminación.

### VIDA ÚTIL

2 años.

**CONTROL DE CALIDAD**

Las placas se inoculan con las cepas indicadas en la siguiente tabla.

Inóculo para productividad: 50-100 CFU.

Inóculo para selectividad: 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU.

Condiciones de incubación: aeróbicas a 44 ± 0.5°C durante 2 h.

**Tabla QC**

Microorganismo		Crecimiento	Apariencia
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 19433	Bueno	Colonias rodeadas de un halón negro
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC® 6057	Bueno	Colonias rodeadas de un halón negro
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Inhibición	---
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 6538	Inhibición	---

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

Este producto no contiene sustancias peligrosas en concentraciones que excedan los límites fijados por la legislación actual y no está clasificado como peligroso. Se recomienda de todas formas la lectura de la hoja de seguridad para el uso apropiado. El producto está pensado para un uso exclusivo profesional y debe ser utilizado sólo por operadores debidamente adiestrados.

**DESECHO DE RESÍDUOS**

El desecho de los residuos debe realizarse según la regulación nacional y local vigente.









**BIBLIOGRAFÍA**

1. ISO 7899-2:2000. Water quality – Detection and enumeration of intestinal enterococci – Part 2: Membrane filtration method.
2. R.R. Facklam, M.D. (1970) Moody, Presumptive identification of Group D Streptococci: The bile-aesculin test, Appl. Microbiol 20:245.
3. Lachica R.V. and Hartman, P.A. (1968): Two improved media for isolating and enumerating enterococci in certain frozen foods. J. Appl. Bact. 31: 151-156.
4. Slanetz, L.W. and Bartley, C.H. (1957). Numbers of enterococci in water, sewage, and feces determined by the membrane filter technique with an improved medium. J. Bact. 74: 591-595.

**PRESENTACIÓN**

		Contenido	Ref.
Easy Dry™ Bile Aesculin Azide	Placas listas para su uso de 60 mm	100 placas	87508

**TABLA DE SÍMBOLOS**

<b>LOT</b> Código de lote	 Mantener fuera del alcance de la luz	 Fabricante	 Utilizar antes de	 Frágil, manipular con cuidado
<b>REF</b> Número de catálogo	 Límites de temperatura	 Contenido suficiente para <n> análisis	 Atención, consultar el documento adjunto	 No reutilizar



**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy  
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net