Instructions For Use

ENGLISH

Aesculin Bile Test

Rapid test for detection of aesculin hydrolysis.

INTENDED PURPOSE

Tests for execution of esculin hydrolysis for identification of Group D streptococci. This test is intended as an aid in the diagnosis, requiring further tests to complete the diagnostic results.

DESCRIPTION

Aesculin Bile Test is used to differentiate Enterococci and Lancefield group D streptococci (*Streptococcus bovis* group) from other streptococci based on the ability of microorganisms to hydrolyze aesculin.

KIT CONTENT

- 30 Tubes of Aesculin Bile Test

METHOD PRINCIPLE

Many organisms are capable of hydrolyzing the glycoside aesculin to aesculetin and glucose, but only a few of them (e.g. Enterococci, Lancefield Group D streptococci and Lactococci) can do that in the presence of 40% bile. The aesculetin combines with ferric ions in the medium to form a dark brown or black phenolic complex.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: inoculating loop, pipettes, culture media, physiological solution (0.85% saline), quality control organisms.

REAGENTS

- Each tube contains desiccated nutritive components, biochemical substrates (i.e. aesculin and iron salts) and selective agents (i.e. bile and sodium azide).

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. Take the number of Aesculin Bile Test tubes needed from the fridge and allow them to reach room temperature.
2. Add 0.3 mL of physiological solution to each tube.
3. Using a sterile loop, pick up one or more than one well isolated colony from a fresh culture plate (18-24 hours old) to inoculate the test tube.
4. Incubate at 35 ± 2°C for up to 24 hours.
5. Examine tubes after 4 hours incubation and at regular intervals for broth colour change.

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

INTERPRETING RESULTS

A positive aesculin hydrolysis test is indicated by a colour change to dark brown.

No colour change is considered as a negative reaction.

STORAGE

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

1 year.

QUALITY CONTROL

Control strain		Incubation	Characteristic reactions
Escherichia coli	ATCC® 25922	Up to 24 h/ 35 ± 2°C	Negative reaction: No colour change
Staphylococcus aureus	ATCC® 25923		
Enterococcus faecalis	ATCC® 19433		Positive reaction: Blackening of medium
Enterococcus faecalis	ATCC® 29212		

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance testing of Aesculin Bile Test was carried out using the QC strains listed above. The results obtained met the established criteria.

LIMITATIONS

Due to nutritional variation, some strains may result in poor growth or fail to grow on this medium providing false negative results.

H_2S produced by various organisms during metabolism, may react with iron to produce a black complex which interferes with the interpretation leading to 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.
Aesculin Bile Test	30 tests	88008

Revision History

Revision	Release Date	Change Summary
1	2024-09-16	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

Istruzioni per l'uso

ITALIANO

Aesculin Bile Test

Test rapido per la rilevazione dell'idrolisi dell'esculina.

DESTINAZIONE D'USO

Test per esecuzione dell'idrolisi esculina per l'identificazione degli streptococchi di gruppo D. Il test è inteso come ausilio alla diagnosi, e sono necessari ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

DESCRIZIONE

Aesculin Bile Test viene utilizzato per differenziare Enterococchi e streptococchi di gruppo D di Lancefield (gruppo *Streptococcus bovis*) da altri streptococchi in base alla capacità dei microrganismi di idrolizzare l'esculina.

CONTENUTO DEL KIT

- 30 provette di Aesculin Bile Test

PRINCIPIO DEL METODO

Molti microorganismi sono in grado di idrolizzare il glicoside esculina in esculetina e glucosio, ma solo alcuni di essi (ad esempio Enterococchi, streptococchi di gruppo D di Lancefield e lattococchi) possono farlo in presenza del 40% di bile. L'esculetina si combina con gli ioni ferrici nel terreno per formare un complesso fenolico marrone scuro o nero.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e apparecchiature microbiologiche standard come: ansa da inoculo, pipette, terreni di coltura, soluzione fisiologica (0.85% salina), microrganismi per il controllo qualità.

REAGENTI

- Ogni provetta contiene componenti nutritivi essiccati, substrati biochimici (es. esculina e sali di ferro) e agenti selettivi (es. bile e sodio azide).

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. Prelevare dal frigorifero il numero necessario di provette per Aesculin Bile Test e lasciare che raggiungano la temperatura ambiente.
2. Aggiungere 0,3 mL di soluzione fisiologica a ciascuna provetta.
3. Usando un'ansa sterile, prelevare una o più di una colonia ben isolata da una piastra di coltura fresca (vecchia di 18-24 ore) per inoculare la provetta.
4. Incubare a 35 ± 2°C per un massimo di 24 ore.
5. Esaminare le provette dopo 4 ore di incubazione e ad intervalli regolari per il viraggio del colore del brodo.

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

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Un test di idrolisi dell'esculina positivo è indicato da un viraggio di colore al marrone scuro.

Nessun cambiamento di colore è considerato una reazione negativa.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C nella sua confezione originale. Tenere lontano da fonti di calore ed evitare eccessivi cambiamenti di temperatura. Utilizzare entro la data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni di deterioramento.

VALIDITÀ

1 anno.

CONTROLLO QUALITÀ

Ceppi di controllo		Incubazione	Caratteristiche di reazione
Escherichia coli	ATCC® 25922	Fino a 24 h/ 35 ± 2°C	Reazione negativa: Nessun cambio di colore
Staphylococcus aureus	ATCC® 25923		
Enterococcus faecalis	ATCC® 19433		Reazione positiva: Annerimento del terreno
Enterococcus faecalis	ATCC® 29212		

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Il controllo delle prestazioni di Aesculin Bile Test è stato eseguito utilizzando i ceppi sopra elencati. I risultati ottenuti hanno soddisfatto i criteri stabiliti.

LIMITAZIONI

A causa della variazione nutrizionale, alcuni ceppi possono causare una scarsa crescita o non crescere su questo terreno, fornendo risultati falsi negativi.

H2S prodotto da vari organismi durante il metabolismo, può reagire con il ferro per produrre un complesso nero che interferisce con l'interpretazione portando a 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.

BIBLIOGRAFIA

Vedere i riferimenti bibliografici alla fine di questo documento.

TABELLA DEI SIMBOLI

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento.

INFORMAZIONI D'ORDINE

Prodotto	Confezionamento	Rif.
Aesculin Bile Test	30 tests	88008

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 / Riferimenti

1. Public Health England. (2021). Identification of *Streptococcus* species, *Enterococcus* species and morphologically similar organisms. UK Standards for Microbiology Investigations. ID 4 Issue 4. https://www.gov.uk/guidance/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories
2. EN ISO 11133:2014+Amd1:2018+Amd2:2020. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
3. Public Health England. (2018). Aesculin hydrolysis test. UK Standards for Microbiology Investigations. TP 2 Issue 4.
4. Chuard C, Reller LB (1998) Bile-esculin test for presumptive identification of enterococci and streptococci: effects of bile concentration, inoculation technique, and incubation time. J Clin Microbiol. 36(4):1135-6. DOI: 10.1128/JCM.36.4.1135-1136.1998.
5. Isenberg HD, Goldberg D, Sampson J. (1970) Appl Micr. 20:433-436.

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
Σ	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