

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ****ΠΡΟΪΟΝ: BILE ESCULINE AZIDE AGAR****ΚΩΔΙΚΟΙ: 010263 – 050263**Ημ. 1^{ης} Έκδοσης:

7ος 2009

Ημ. 4^{ης} Αναθεώρησης:

6ος 2024

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Ένα υλικό που συνιστάται για την απομόνωση, διαφοροποίηση και ταυτοποίηση του *Εντερόκοκκου* στο νερό με τη μέθοδο διήθησης μεμβρανών σύμφωνα με το ISO 7899-2.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το Bile Esculine Azide Agar είναι μια τροποποίηση του Bile Esculine Agar. Η τροποποίηση συνίσταται στην προσθήκη του Sodium azide και την μείωση της συγκέντρωσης των αλάτων. Το αποτέλεσμα είναι μεγαλύτερη εκλεκτικότητα και καλύτερη ανάπτυξη του *Εντερόκοκκου*. Η ικανότητα της υδρόλυσης της εσουλίνης παρουσία αλάτων είναι χαρακτηριστική του *εντερόκοκκου* και των στρεπτόκοκκων της ομάδας D. Το Sodium Azide αναστέλλει την ανάπτυξη των gram αρνητικών βακτηριδίων καθώς και των gram θετικών.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
Tryptone	17.0
Peptone	3.0
Yeast extract	5.0
Bile salts	10.0
Sodium chloride	5.0
Esculin	1.0
Amonium-Ferric citrate	0.5
Sodium azide	0.15
Agar	15.0

Εμφάνιση: Άγαρ γκρι – πρασινοκίτρινο διαυγές.

Τελικό pH 7.2 ± 0.2 στους 25 °C.**ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ**

Το BILE ESCULINE AZIDE AGAR είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου. Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγειονομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό). Ο χειρισμός των τρυβλίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες. Εάν το τρυβλίο είναι ραγισμένο ή το σακουλάκι τρύπιο, μη το χρησιμοποιήσετε. Μη χρησιμοποιείτε τα τρυβλία εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης. Το πάχος του άγαρ πρέπει να είναι 4 - 5 mm και το υλικό χωρίς ρωγμές, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης. Μετά την ημερομηνία λήξεως το υλικό είναι ακατάλληλο για χρήση. Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλύνουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι. Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους 2 – 12 °C μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους. Παρατεταμένη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω των 2 °C δημιουργεί αρκετή υγρασία μέσα στο υλικό με κίνδυνο επιμόλυνσης. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση. Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους 18 - 25 °C για 5 ημέρες ή στους 25 - 40 °C για 72 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Μετά από επώαση 24-48 ωρών στο m – ENTEROCOCCUS AGAR (Slanetz and Bartley), η μεμβράνη που παρουσιάζει χαρακτηριστικές αποικίες *εντερόκοκκου* (ροζ έως κόκκινες) μεταφέρεται, με αποστειρωμένη λαβίδα και τοποθετείται σε ένα προ-θερμαμένο τρυβλίο Bile Esculin Azide Agar. Επώαση σε αερόβιες συνθήκες, στους 42 - 44 °C για 2-3 ώρες.

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Μετά από δύο ώρες επώασης στους $44 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ελέγχουμε τη μεμβράνη για τις χαρακτηριστικές αποικίες που παρουσιάζουν ένα καφέ - μαύρο χρώμα το οποίο διαχέετε στο άγαρ. Αυτές οι αποικίες θεωρούνται θετικές και απαριθμούνται ως εντερικοί *εντερόκοκκοι*.

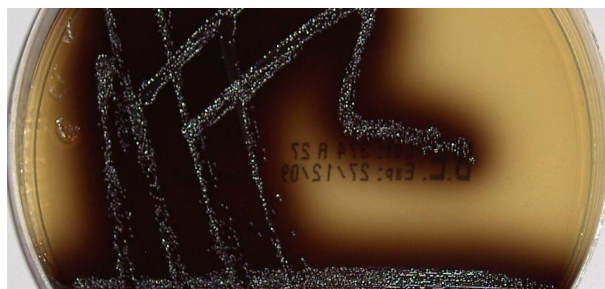
ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η τελική ταυτοποίηση πρέπει να γίνεται με βιοχημικούς και ορολογικούς ελέγχους. (π.χ., δοκιμή συγκόλλησης Latex Test και μπορεί να εκτελούνται απευθείας από τις ύποπτες αποικίες.

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Μικρόβιο	ATCC	Ανάπτυξη	Υδρόλυση Εσουλίνης
<i>Escherichia coli</i>	25922	Αναστέλλεται	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Αναπτύσσεται Καφέ-μαύρο	+

<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Αναστέλλεται	-
-------------------------------	-------	--------------	---



Enterococcus faecalis ATCC 29212

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα. Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικός μολυσματικά απόβλητα. Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

BILE ESCULINE AZIDE AGAR - CE

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 90mm	010263	10 τεμάχια	2 – 12 °C	4 μήνες
Τρυβλίο 60mm	050263	10 τεμάχια	2 – 12 °C	4 μήνες

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Bioprepare σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746.

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714010401WF. EDMA (14 01 04 01) non-chromogenic media (Plates).

Η εταιρεία Bioprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ86/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ISO Standard 7899-2 (2000) water quality detection and enumeration of intnal enterococci. Part 2: Membrane method.

ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook oo microbiological media. CRC Press Boca Raton. Fla.

ISENBERG, H.D., D. GOLDBREG & J. SAMPSON (1970) Laboratory studies with a selective entroccoccus medium. Appl. Microbiol. 20:433.

BRODSKY M.H. & D.A. SCHIEMANN (1976) Evaluation of Pfizer Selective Enterococcus and KF media for recovery of fecal streptococci from water by membrane filtration. Appl. Environ. Microbiol. 31:695-699.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO



Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001

Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φαξ: 2299 0 66112.

E-mail: bioprep1@otenet.gr www.bioprepare.gr

**TECHNICAL DATA SHEET**

PRODUCT: **BILE ESCULINE AZIDE AGAR**
 REFERENCE: **010263 – 050263**



Date 1st Edition:
7th 2009
 Date 4th Revision:
6th 2024

DESCRIPTION

A medium recommended for the isolation, differentiation, and identification of Enterococcus in water using the membrane filtration method, according to ISO 7899-2.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Bile Esculin Azide Agar is a modification of Bile Esculin Agar. The modification consists of the addition of Sodium Azide and the reduction of salt concentration. This results in greater selectivity and improved growth of Enterococcus. The ability to hydrolyze esculin in the presence of salts is characteristic of Enterococcus and Group D streptococci. Sodium Azide inhibits the growth of both Gram-negative and Gram-positive bacteria.

FORMULA	g/litre
Tryptone	17.0
Peptone	3.0
Yeast extract	5.0
Bile salts	10.0
Sodium chloride	5.0
Esculin	1.0
Amonium-Ferric citrate	0.5
Sodium azide	0.15
Agar	15.0

Appearance: Gray-greenish yellow, transparent agar.

Final pH 7.2 ± 0.2 στους 25°C .

PRECAUTIONS

BILE ESCULINE AZIDE AGAR is an in-vitro laboratory diagnostic material and should only be handled by qualified people in the laboratory. This material contains peptones and extracts of animal origin. The certificates regarding the origin and health status of the animals do not fully guarantee the absence of transmissible pathogens. For this reason, it is recommended that these materials be treated as potentially infectious, with the usual safety precautions (avoiding ingestion or inhalation). Plates should always be handled with gloves and in Laminar flow Class II, to avoid contamination mainly by saprophytic fungi. If the plate is cracked or the bag has a hole, do not use it. Do not use petri dishes if there are signs of microbial contamination. The thickness of the agar must be 4 - 5 mm and the material without cracks, dryness or other signs of deterioration. After the expiry date the material is unfit for use. In case of contact with the skin, wash immediately with plenty of water and soap. Positive samples must be destroyed according to the hygienic rules prescribed for the management of contaminated samples.

STORAGE AND TRANSPORT CONDITIONS

Petri dishes should be stored at **2–12°C** in their packaging until use. Prolonged storage below **2°C** may cause excessive moisture buildup in the medium, increasing the risk of contamination. Freezing, even momentarily, destroys the medium. Excessive heating should also be avoided. The plates can be used until the expiration date indicated on the label. Stability studies have shown that for transportation, plates can remain at **18–25°C** for up to **5 days** or at **25–40°C** for **72 hours** without affecting product performance.

USAGE INSTRUCTIONS

After 24–48 hours of incubation on m-ENTEROCOCCUS AGAR (Slanetz and Bartley), the membrane displaying characteristic Enterococcus colonies (pink to red) is transferred with a sterile tweezer and placed on a pre-warmed Bile Esculin Azide Agar plate. Incubate under aerobic conditions at 42–44°C for 2–3 hours.

RESULT INTERPRETATION

After two hours of incubation at $44 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, examine the membrane for characteristic colonies that exhibit a brown-black color, which diffuses into the agar. These colonies are considered positive and are counted as Enterococcus faecalis.

METHOD LIMITATIONS

Final identification should be done using biochemical and serological tests (e.g., Latex Agglutination Test), which can be performed directly from the suspected colonies.

QUALITY CONTROL

Microorganism	ATCC	Growth	Esculin Hydrolysis
<i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibited	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Brown-black	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Inhibited	-



Enterococcus faecalis ATCC 29212

WASTE DISPOSAL OF WASTE

Materials that show no growth can be considered as non-hazardous waste and disposed of accordingly. Materials that show colony growth must be disposed of according to the guidelines for infectious or potentially infectious waste. The laboratory is responsible for the proper management of infectious waste according to its nature and level of risk and must handle and dispose of it (or assign its management and disposal) in compliance with the applicable regulations.

SPECIFICATIONS

BILE ESCULINE AZIDE AGAR - CE

ITEM	CODE	PACKAGE	STORAGE	SHELF LIFE
Petri dish 90mm	010263	10 pieces	2 – 12 °C	4 months
Petri dish 60mm	050263	10 pieces	2 – 12 °C	4 months

Produced in Greece by the company Bioprepare in accordance with the requirements of the European Directive 2017/746.

BASIC UDI-DI: 5212037714010401WF. EDMA (14 01 04 01) non-chromogenic media (Plates).

The Bioprepare company has been certified according to the standards: EN ISO 9001:2015 / EAOT EN ISO 13485:2016 DY8d/1348/2004

LITERATURE REFERENCES

ISO Standard 7899-2 (2000) water quality detection and enumeration of intnal enterococci. Part 2: Membrane method.

ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook oo microbiological media. CRC Press Boca Raton. Fla.

ISENBERG, H.D., D. GOLDBREG & J. SAMPSON (1970) Laboratory studies with a selective entroccoccus medium. Appl. Microbiol. 20:433.

BRODSKY M.H. & D.A. SCHIEMANN (1976) Evaluation of Pfizer Selective Enterococcus and KF media for recovery of fecal streptococci from water by membrane filtration. Appl. Environ. Microbiol. 31:695-699.

IN VITRO MANUFACTURER'S DATA



G. PAPANIKOLAOU & CO

PRODUCTION LABORATORIES OF CULTURE MEDIA

Potamou 5, Industrial Area Keratea, Attica

P.O. Box: 4893, Postal Code: 9001 - Tel: +30 2299066113. Fax: +30 2299066112

E-mail: bioprep1@otenet.gr

www.bioprepare.gr