

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**

ΠΡΟΪΟΝ: **BLOOD AGAR – CHOCOLATE AGAR**
ΚΩΔΙΚΟΣ: **020136**



Ημ. 1^{ης} Έκδοσης:

7ος 2009

Ημ. 3^{ης} Αναθεώρησης:

6ος 2024

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Διχοτομημένο τρυβλίο BLOOD AGAR – CHOCOLATE AGAR για την καλλιέργεια όλων των αερόβιων βακτηρίων και ταυτοποίηση των *αιμολυτικών gram(+) κόκκων* (BLOOD AGAR). – Για την καλλιέργεια Καλλιέργεια μικροβίων με ειδικές τροφικές απαιτήσεις, όπως αιμόφιλος, ναϊσέριες. (CHOCOLATE AGAR).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το Blood Agar Base περιέχει συστατικά υψηλής θρεπτικής αξίας, τα οποία παρέχουν βιταμίνες, υδρογονάνθρακες και άλλα οργανικά στοιχεία. Το Sodium chloride παρέχει τα απαραίτητα μέταλλα και διατηρεί την οσμωτική ισορροπία και την ισορροπία των ηλεκτρολυτών. Με την προσθήκη 6% αίματος αλόγου ενισχύεται η θρεπτικότητα του υλικού. Επίσης η αιμόλυση και το είδος της αιμόλυσης των ερυθρών αλόγου βοηθούν στην ταυτοποίηση ορισμένων gram (+) κόκκων.

ΣΥΝΘΕΣΗ BLOOD AGAR	g/litre
Columbia Peptone Mixture	25.1
Corn Starch	1.0
Sodium chloride	5.0
Agar No. 2	12.0
Horse Blood	60ml

Εμφάνιση: Κόκκινο – βυσσινή μη διαυγές, λόγω της προσθήκης του αίματος.

Τελικό pH 7.3 ± 0.2 στους 25 °C.

Το Chocolate Agar είναι ένα εμπλουτισμένο υπόστρωμα για ποιοτικές διαδικασίες, για την απομόνωση και καλλιέργεια παθογόνων μικροοργανισμών, ιδιαίτερα της Ναϊσέριας και των ειδών του Αιμόφυλου από ποικιλία κλινικών δειγμάτων.

ΣΥΝΘΕΣΗ CHOCOLATE AGAR	g/litre
Columbia Peptone Mixture	23.0
Corn Starch	1.0
Sodium chloride	5.0
Agar No. 2	12.0
Horse Blood	60ml

Εμφάνιση: Καφέ – σοκολατί μη διαυγές, λόγω της προσθήκης του αίματος.

Τελικό pH 7.3 ± 0.2 στους 25 °C

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το BLOOD AGAR – CHOCOLATE 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 **6 - 25 °C** για **4 ημέρες** ή στους **25 - 40 °C** για **48 ώρες**, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Επιστρώστε τα τρυβλία με την τεχνική λήψης μεμονωμένων αποικιών.

Επώστε στους 35-37 °C σε μικροαερόφιλες συνθήκες 5 – 10% CO₂ και εξετάστε τις καλλιέργειες μετά από ολονύχτια επώαση, σε πρώτη φάση και μετά από περίπου 48 ώρες σε τελική φάση.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

BLOOD AGAR:

Ο *Streptococcus pyogenes* σχηματίζει μικρές, γκρι, λευκές, αποικίες με β-αιμόλυση.

Ο *Streptococcus pneumoniae* σχηματίζει αποικίες μικρές, επίπεδες, με α-αιμόλυση.

Ο *Staphylococcus aureus* σχηματίζει σχετικά μεγάλες αποικίες 1-3mm σε 24 ώρες επώαση και 3-8mm αν η επώαση παραταθεί μέχρι 5 μέρες.

Το χρώμα τους κυμαίνεται από κρεμ-κίτρινο μέχρι πορτοκαλί, ανάλογα με το χρόνο επώασης. Τέλος προκαλεί α ή β αιμόλυση.

CHOCOLATE AGAR:

Ο *Haemophilus influenzae* σχηματίζει αποικίες μικρές, υγρές, με ελαφριά οσμή.

Ο *Streptococcus pneumoniae* σχηματίζει αποικίες μικρές, επίπεδες, που εμφανίζουν πράσινο χρώμα.

Η *Neisseria meningitidis* σχηματίζει μεγάλες αποικίες, χρώματος γκρι, μπλέ.

Η *Neisseria gonorrhoeae* σχηματίζει μικρές, γκρι, λευκές, άχρωμες, βλεννώδης αποικίες.

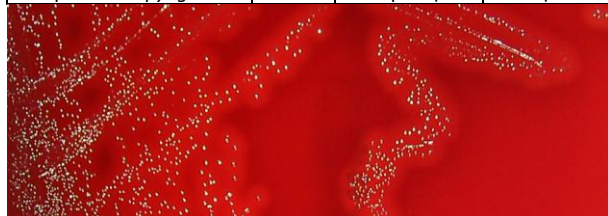
ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

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

BLOOD AGAR

Μικρόβιο	ATCC	Ανάπτυξη	Αιμόλυση
<i>Escherichia coli</i>	25922	Καλή	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Καλή	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Καλή	Βήτα
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6303	Καλή	Άλφα
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Άριστη	Βήτα



Streptococcus pyogenes ATCC 19615

CHOCOLATE AGAR

Μικρόβιο	ATCC	Αποικίες
<i>Haemophilus influenzae</i>	10211	Μικρές, υγρές, με ελαφριά οσμή.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Μικρές, επίπεδες, που εμφανίζουν πράσινο χρώμα.
<i>Neisseria meningitidis</i>	13090	Μεγάλες αποικίες, χρώματος γκρι, μπλέ.
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	43069	Μικρές, γκρι, λευκές, άχρωμες, βλεννώδης.



Haemophilus influenzae ATCC 10211

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

BLOOD AGAR – CHOCOLATE AGAR - CE

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο διχοτομημένο 9cm	020136	10 τεμάχια	2 – 12 °C	2 μήνες

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

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714010490X8. EDMA: (14 01 04 90) Other Prepared Media in Plates.

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

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

BLOOD AGAR

Ellner, P.D., Stoessel, C.J., Drakeford, E. and Vasi, F. (1966). A new culture medium for medical bacteriology. Amer J. Clin Pathol. 45. 502-504.

American Public Health Association (1950). Diagnostic Procedures and Reagents. 3rd edn. A.P.H.A., New York.

CHOCOLATE AGAR

Sng, E.H., Rajan, V.S., and Lim, A.L. (1977) Simplified media for isolating Neisseria gonorrhoeae J. Clin. Microbiol., 5 (4), 387.

Sottnek, F. O., Biddle, J. W., Kraus, S. J., Weaver, R. E., And Stewart, J. A. (1980) Isolation and Identification of Haemophilus ducreyi in a clinical study. J. Clin. Microbiol., 12 (2), 170.

Lewis, J. S., and Wiesner, P.J. (1980) Gonorrhea: Current laboratory methods. Lab. Management, Sept., p.33.

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: **BLOOD AGAR – CHOCOLATE AGAR**
REFERENCE: **020136**



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

DESCRIPTION

A bifurcated plate with BLOOD AGAR – CHOCOLATE AGAR for the cultivation of all aerobic bacteria and identification of hemolytic Gram (+) cocci (BLOOD AGAR). – For the cultivation of microorganisms with special nutritional requirements, such as *Haemophilus* and *Neisseria* species (CHOCOLATE AGAR).

PRINCIPLE OF THE METHOD

The Blood Agar Base contains high-value nutrients that provide vitamins, carbohydrates, and other organic compounds. Sodium chloride supplies the necessary minerals and maintains osmotic balance and electrolyte equilibrium. The addition of 6% horse blood enhances the nutritional quality of the medium. Additionally, the hemolysis and the type of hemolysis of horse red blood cells assist in the identification of certain Gram (+) cocci.

FORMULA BLOOD AGAR	g/litre
Columbia Peptone Mixture	25.1
Corn Starch	1.0
Sodium chloride	5.0
Agar No. 2	12.0
Horse Blood	60ml

Appearance: Red – burgundy, opaque, due to the addition of blood.

Final pH 7.3 ± 0.2 στους 25°C .

Chocolate Agar is an enriched medium used for qualitative procedures, for the isolation and cultivation of pathogenic microorganisms, particularly *Neisseria* species and *Haemophilus* species from various clinical samples.

FORMULA CHOCOLATE AGAR	g/litre
Columbia Peptone Mixture	23.0
Corn Starch	1.0
Sodium chloride	5.0
Agar No. 2	12.0
Horse Blood	60ml

Appearance: Brown – chocolate-colored, non-transparent due to the addition of blood.

Final pH 7.3 ± 0.2 στους 25°C .

STORAGE AND TRANSPORT CONDITIONS

The petri dishes must be stored at **2 – 12 °C** inside their packaging until the time of use. Prolonged storage at temperatures below **2 °C** creates excessive moisture inside the material, increasing the risk of contamination. Even momentary freezing destroys the material. Excessive heating should also be avoided. The petri dishes can be used until the expiration date indicated on the label. Stability studies have shown that, for transport, petri dishes can remain at **6 - 25 °C** for **4 days** or at **25 - 40 °C** for **48 hours** without affecting the product's performance.

USAGE INSTRUCTIONS

Inoculate the petri dishes using the isolated colony streaking technique.

Incubate at $35\text{--}37^{\circ}\text{C}$ under microaerophilic conditions with 5 – 10% CO_2 and examine the cultures after overnight incubation (initial phase) and again at approximately 48 hours (final phase).

INTERPRETATION OF RESULTS

BLOOD AGAR:

Streptococcus pyogenes forms small, gray-white colonies with β -hemolysis.

Streptococcus pneumoniae forms small, flat colonies with α -hemolysis.

Staphylococcus aureus forms relatively large colonies (1-3 mm at 24 hours, 3-8 mm after 5 days of incubation).

Their color ranges from cream-yellow to orange, depending on incubation time.

It may cause α or β hemolysis.

CHOCOLATE AGAR:

Haemophilus influenzae forms small, moist colonies with a slight odor.

Streptococcus pneumoniae forms small, flat colonies with a greenish color.

Neisseria meningitidis forms large, gray-blue colonies.

Neisseria gonorrhoeae forms small, gray-white, colorless, mucous-like colonies.

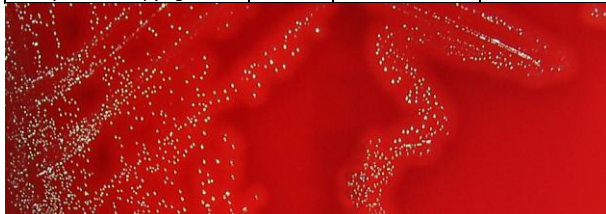
METHOD LIMITATIONS

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

QUALITY CONTROL

BLOOD AGAR

Microorganism	ATCC	Growth	Haemolysis
<i>Escherichia coli</i>	25922	Good	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Good	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Good	B
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6303	Good	A
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Excellent	B



Streptococcus pyogenes ATCC 19615

CHOCOLATE AGAR

Microorganism	ATCC	Colonies
<i>Haemophilus influenzae</i>	10211	Small, moist, with a slight odor
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Small, flat, displaying a green color.
<i>Neisseria meningitidis</i>	13090	Large colonies, gray blue in color.
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	43069	Small, gray, white, colorless, mucous-like.



Haemophilus influenzae ATCC 10211

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

BLOOD AGAR – CHOCOLATE AGAR - CE

ITEM	CODE	PACKAGE	STORAGE	SHELF LIFE
Divided Petri Dish 9cm	020136	10 pieces	2 – 12 °C	2 months

Produced in Greece by the company Bioprep 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 Bioprep company has been certified according to the standards: EN ISO 9001:2015 / EAOT EN ISO 13485:2016 DY8d/1348/2004

LITERATURE REFERENCES

BLOOD AGAR

Ellner, P.D., Stoessel, C.J., Drakeford, E. and Vasi, F. (1966). A new culture medium for medical bacteriology. Amer J. Clin Pathol. 45. 502-504.

American Public Health Association (1950). Diagnostic Procedures and Reagents. 3rd edn. A.P.H.A., New York.

CHOCOLATE AGAR

Sng, E.H., Rajan, V.S., and Lim, A.L. (1977) Simplified media for isolating *Neisseria gonorrhoeae*. J. Clin. Microbiol., 5 (4), 387.

Sottnek, F. O., Biddle, J. W., Kraus, S. J., Weaver, R. E., And Stewart, J. A. (1980) Isolation and Identification of *Haemophilus ducreyi* in a clinical study. J. Clin. Microbiol., 12 (2), 170.

Lewis, J. S., and Wiesner, P.J. (1980) Gonorrhea: Current laboratory methods. Lab. Management, Sept., p.33.

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.bioprep.gr