

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ****ΠΡΟΪΟΝ: BLOOD AGAR No 2 W/ SHEEP BLOOD****ΚΩΔΙΚΟΣ: 010566**Ημ. 1^{ης} Έκδοσης:

5ος 2012

Ημ. 4^{ης} Αναθεώρησης:

6ος 2024

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το Blood Agar No.2 είναι ένα υλικό πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά και είναι ιδανικό για την επιβεβαίωση της αιμολυτικής ιδιότητας των *Bacillus cereus* (ISO 7932) και *Listeria monocytogenes* (ISO 11290-1).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το ηπατικό εκχύλισμα και το εκχύλισμα ζυμομυκήτων παρέχουν άζωτο, βιταμίνες, ανόργανα άλατα και αμινοξέα απαραίτητα για την ανάπτυξη. Το χλωριούχο νάτριο διατηρεί την οσμωτική ισορροπία. Το αίμα είναι μια πρόσθετη πηγή που παρέχει αυξητικούς παράγοντες για τους μικροοργανισμούς και είναι η βάση για τον προσδιορισμό των αιμολυτικών αντιδράσεων. Το βακτηριολογικό άγαρ είναι ο πηκτωματογόνο παράγοντας του υλικού. Το Blood Agar No. 2 έχει προταθεί από το πρότυπο ISO 7932 για την επιβεβαίωση του *Bacillus cereus*. Επώαση στους 30 °C για 24 ώρες. Είναι επίσης ένα μέσο που προτείνεται από τον ISO 11290 για την επιβεβαίωση της *Listeria monocytogenes*. Επώαση στους 35-37 °C για 18-24 ώρες.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
Proteose peptone	15.0
Yeast extract	5.0
Sodium chloride	5.0
Liver extract	2,5
Bacteriological agar	12.0
Sheep Blood	60ml

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

Τελικό pH 7.0 ± 0.2.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το Blood Agar No.2 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

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 **14 - 25 °C** για **3 ημέρες** ή στους **25 - 40 °C** για **24 ώρες**, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Επιστρώστε τα τρυβλία με την τεχνική λήψης μεμονωμένων αποικιών.

Επώαστε τα στους 35 – 37 °C για 24 ώρες σε αερόβιες συνθήκες.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

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.

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.

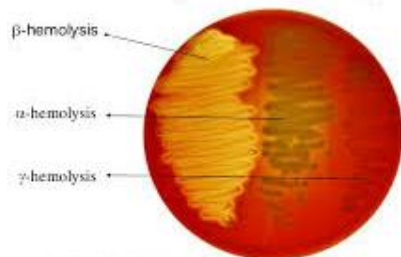
ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Μικρόβιο	ATCC	Ανάπτυξη	Αποικίες
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6303	Καλή	α- αιμόλυση
* <i>Bacillus cereus</i>	11778	Καλή	β- αιμόλυση

**<i>Listeria monocytogenes</i>	35152	Καλή	β- αιμόλυση
--	-------	------	-------------

* Επώαση στους 30 °C για 24 ώρες σύμφωνα με το ISO 7932.

** Επώαση στους 35-37 °C για 18-24 ώρες σύμφωνα με το ISO 11290.



α-αιμόλυση: πρασινωπός αποχρωματισμός του μέσου.

β-αιμόλυση: διαυγής ζώνη γύρω από την αποικία.

γ-αιμόλυση: καμία αλλαγή.

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

BLOOD AGAR No 2 W/ SHEEP BLOOD (ISO 7932)

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 9cm	010566	10 τεμάχια	2 – 12 °C	2 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

WATERWORTH, PM.: BRIT.J. Exp. Pathol., 36(02); 186-194 (1955)

ISO 7932 Horizontal Method for the enumeration of *Bacillus cereus*.

ISO 11290-1 Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*.

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 No 2 W/ SHEEP BLOOD**
 REFERENCE: **010566**



Date 1st Edition:
5th 2012
 Date 4th Revision:
6th 2024

DESCRIPTION

Blood Agar No.2 is a nutrient-rich medium ideal for confirming the hemolytic properties of *Bacillus cereus* (ISO 7932) and *Listeria monocytogenes* (ISO 11290-1).

PRINCIPLE OF THE METHOD

The liver extract and yeast extract provide nitrogen, vitamins, inorganic salts, and amino acids essential for growth. Sodium chloride maintains osmotic balance. Blood is an additional source that provides growth factors for microorganisms and serves as the basis for identifying hemolytic reactions. The bacteriological agar is the gelling agent of the medium. Blood Agar No. 2 has been proposed by the ISO 7932 standard for confirming *Bacillus cereus*. Incubation at 30°C for 24 hours. It is also a medium recommended by ISO 11290 for confirming *Listeria monocytogenes*. Incubation at 35-37°C for 18-24 hours.

FORMULA	g/litre
Proteose peptone	15.0
Yeast extract	5.0
Sodium chloride	5.0
Liver extract	2,5
Bacteriological agar	12.0
Sheep Blood	60ml

Appearance: Red – burgundy, non-transparent, due to the addition of blood.

Final pH 7.0 ± 0.2.

PRECAUTIONS

To Blood Agar No.2 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 CONDITIONS

The Petri dishes should be stored at **2 – 12 °C** in their original packaging until use. Prolonged storage at temperatures below **2 °C** can lead to excessive moisture within the medium, posing a risk of contamination. Freezing, even briefly, will destroy the medium. Excessive heating should also be avoided. The Petri dishes can be used up until the expiration date indicated on the label. For transportation, stability studies have shown that the Petri dishes can be kept at **14 – 25 °C** for **3 days** or at **25 – 40 °C** for **24 hours** without affecting the product's performance.

INSTRUCTIONS FOR USE

Plate the Petri dishes using the technique for isolating individual colonies.

Incubate at 35 – 37°C for 24 hours under aerobic conditions.

INTERPRETATION OF RESULTS

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) after 24 hours of incubation and 3-8 mm if the incubation is extended up to 5 days. Their color ranges from cream-yellow to orange, depending on the incubation time. It also causes α or β hemolysis.

LIMITATIONS OF THE METHOD

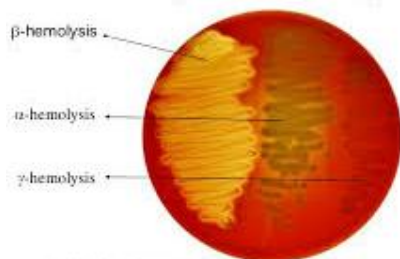
Final identification should be performed using biochemical and serological tests (e.g., Latex Agglutination Test), which can be carried out directly from the suspected colonies.

GENERAL CHARACTERISTICS OF QUALITY CONTROL

Microorganism	ATCC	Growth	Colony Characteristics
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6303	Good	α-hemolysis
* <i>Bacillus cereus</i>	11778	Good	β-hemolysis
** <i>Listeria monocytogenes</i>	35152	Good	β-hemolysis

* Incubation at 30°C for 24 hours according to ISO 7932.

** Incubation at 35-37°C for 18-24 hours according to ISO 11290.



α-hemolysis: Greenish discoloration of the medium.

β-hemolysis: Clear zone around the colony.

γ-hemolysis: No change.

SPECIFICATIONS

BLOOD AGAR No 2 W/ SHEEP BLOOD (ISO 7932)

ITEM	CODE	PACKAGE	STORAGE	SHELF LIFE
Petri dish 90mm	010566	10 pieces	2 – 12 °C	2 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 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 DY8d/1348/2004

LITERATURE REFERENCES

WATERWORTH, PM.: BRIT.J. Exp. Pathol., 36(02); 186-194 (1955)

ISO 7932 Horizontal Method for the enumeration of *Bacillus cereus*.

ISO 11290-1 Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*.

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