

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ****ΠΡΟΪΟΝ: CHOCOLATE AGAR (HORSE BLOOD)****ΚΩΔΙΚΟΙ: 010025 – 050025 – 020025**Ημ. 1^{ης} Έκδοσης:

5ος 1993

Ημ. 5^{ης} Αναθεώρησης:

6ος 2024

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

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

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το Chocolate Agar είναι ένα εμπλουτισμένο υπόστρωμα για ποιοτικές διαδικασίες, για την απομόνωση και καλλιέργεια παθογόνων μικροοργανισμών, ιδιαίτερα της Ναϊσσερίας και των ειδών του Αιμόφυλου από ποικιλία κλινικών δειγμάτων. Το μίγμα πεπτονών παρέχει πλούσια θρεπτικά συστατικά στο υλικό, όπως άζωτο, βιταμίνες, άνθρακα, ιχνοστοιχεία, κ.ά. Το άμυλο παρέχει ενέργεια και βιταμίνες. Το χλωριούχο νάτριο παρέχει ηλεκτρολύτες και ρυθμίζει την οσμωτική ισορροπία του υλικού. Το άγαρ είναι ο παράγοντας πήξης του υλικού. Με την προσθήκη και την επεξεργασία (θερμική αιμόλυση) 6% αίματος αλόγου ενισχύεται η θρεπτικότητα του υλικού. Η λύση των ερυθρών παρέχει την αιμίνη και το β-NAD (X&V factors) απαραίτητους παράγοντες για την ανάπτυξη των μικροαερόφιλων βακτηρίων (Αιμόφιλος, Ναϊσσερίες).

ΣΥΝΘΕΣΗ	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 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. Όταν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία σε περίπτωση που σας περισσέψουν κάποια τρυβλία τα αποθηκεύετε στο σακουλάκι μέχρι την ημερομηνία λήξεως. 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

Εμβολιάστε και διασπείρετε το δείγμα όσο το δυνατό συντομότερα μετά την παραλαβή του από το εργαστήριο. Εναλλακτικά, εφόσον το δείγμα πρόκειται να καλλιεργηθεί μετά από λήψη με στυλεό, η διαδικασία που μπορεί να ακολουθηθεί είναι η εξής:

- 1) Περάστε τον στυλεό πάνω στο άγαρ διαγράφοντας στην επιφάνειά του ένα μεγάλο Z. Με τον τρόπο αυτό αφήνεται, για ικανοποιητικό χρόνο έκθεσης ο στυλεός στο θρεπτικό μέσο επιτυγχάνοντας καλύτερη μεταφορά των μικροοργανισμών.
- 2) Διασπείρεται το υλικό με τη βοήθεια αποστειρωμένου κρίκου και με διεύθυνση σταυρωτή στο αρχικό Z. Η διαδικασία αυτή είναι προτιμότερο να γίνεται με τη λήψη δείγματος. Αν βέβαια δεν έχει γίνει τότε λαμβάνει χώρα στο εργαστήριο.
- 3) Τοποθετήστε τις καλλιέργειες όσο το δυνατό συντομότερα σε αερόβιο περιβάλλον εμπλουτισμένο με 10% CO₂.
- 4) Επιδάστε στους 35-37 °C και εξετάστε τις καλλιέργειες μετά από ολονύχτια επώαση, σε πρώτη φάση και μετά από περίπου 48 ώρες σε τελική φάση.
- 5) Ανακαλλιεργήστε για ταυτοποίηση της *N. gonorrhoeae* μέσα στο διάστημα των επόμενων 18-24 ωρών.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

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

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 δυνητικά 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

CHOCOLATE AGAR (HORSE BLOOD) – CE

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 90mm	010025	10 τεμάχια	2 – 12 °C	3 μήνες
Τρυβλίο 60mm	050025	10 τεμάχια	2 – 12 °C	3 μήνες
Τρυβλίο 9cm Διχοτομημένο	020025	10 τεμάχια	2 – 12 °C	3 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

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.

Thayer, D.D. and Martin, H. E. (1966). An improved medium for the cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. Publ. Hlth. Report, 81:559-562.

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.bioprep.gr

**TECHNICAL DATA SHEET**

PRODUCT: CHOCOLATE AGAR (HORSE BLOOD)
REFERENCE: 010025 – 050025 – 020025



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

DESCRIPTION

CHOCOLATE AGAR (HORSE BLOOD) is an enriched medium used for qualitative procedures, designed for the isolation and cultivation of pathogenic microorganisms, particularly *Neisseria* species and *Haemophilus* species from a variety of clinical samples.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Chocolate Agar is an enriched medium used for qualitative procedures, designed for the isolation and cultivation of pathogenic microorganisms, particularly *Neisseria* species and *Haemophilus* species from a variety of clinical samples. The mixture of peptones provides rich nutrients to the medium, including nitrogen, vitamins, carbon, trace elements, and more. Starch supplies energy and vitamins, while sodium chloride provides electrolytes and helps regulate the osmotic balance of the medium. Agar acts as the gelling agent. By adding and processing (thermal hemolysis) 6% horse blood, the nutritional quality of the medium is enhanced. The red blood cell solution provides hemin and β -NAD (X & V factors), which are essential for the growth of microaerophilic bacteria (such as *Haemophilus* and *Neisseria*).

COMPOSITION	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 – not clear chocolate due to the addition of blood.

Final pH 7.3 ± 0.2 in 25 °C

PRECAUTIONS

CHOCOLATE AGAR (HORSE BLOOD) 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 TRANSPORTS CONDITIONS

The plates should be stored at **2 – 12 °C** within their packaging until they are ready for use. Prolonged storage at temperatures below **2 °C** can create excess moisture within the material, posing a risk of contamination. Freezing, even briefly, will damage the material. Excessive heating should also be avoided. The plates can be used up until the expiration date indicated on the label. When you open the airtight package, if you have any leftover plates, store them in the bag until the expiration date. For transportation, stability studies have shown that the plates can remain at **6 – 25 °C** for **4 days** or at **25 – 40 °C** for **48 hours**, without affecting the product's performance.

USAGE

Inoculate and spread the sample as soon as possible after its receipt in the laboratory. Alternatively, if the sample is to be cultured after being taken with a swab, the following procedure can be followed:

- Pass the swab across the agar surface, drawing a large "Z" on it. This allows the swab to remain on the nutrient medium for a sufficient exposure time, facilitating better transfer of microorganisms.
- Spread the material with the help of a sterile loop, using a crosswise direction to the initial "Z". This process is preferably done during sample collection; however, if not, it should be done in the laboratory.
- Place the cultures as soon as possible in an aerobic environment enriched with 10% CO₂.
- Incubate at 35-37°C and examine the cultures after overnight incubation initially, and again after approximately 48 hours for final examination.
- Re-culture for identification of *N. gonorrhoeae* within the next 18-24 hours.

INTERPRETATION OF RESULTS

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

Streptococcus pneumoniae forms small, flat colonies that exhibit a greenish color.

Neisseria meningitidis forms large, grayish-blue colonies.

Neisseria gonorrhoeae forms small, gray, white, colorless, mucoid colonies.

LIMITATIONS OF THE METHOD

The final identification should be carried out with biochemical and serological tests (e.g., Latex Test agglutination test), which can be performed directly from the suspect colonies.

GENERAL CHARACTERISTICS OF QUALITY CONTROL

Microorganism	ATCC	Colonies
<i>Haemophilus influenzae</i>	10211	Small, wet, with a slight smell.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Small, flat, green.
<i>Neisseria meningitidis</i>	13090	Large colonies, gray, blue.
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	43069	Small, gray, white, colorless, mucous.



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

CHOCOLATE AGAR – CE

PRODUCT	CODE	PACKING	STORAGE	SELF LIFE
Plate 90mm	010025	10 pieces	2 – 12 °C	3 months
Plate 60mm	050025	10 pieces	2 – 12 °C	3 months
Bi plate 9cm	020025	10 pieces	2 – 12 °C	3 months

Produced in Greece by the company Bioprepare in accordance with the requirements of the European Directive 1977/46.

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

BIBLIOGRAPHY

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.

Thayer, D.D. and Martin, H. E. (1966). An improved medium for the cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. Publ. Hlth. Report, 81:559-562.

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