

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ****ΠΡΟΪΟΝ: CHOCOLATE AGAR – THAYER MARTIN AGAR****ΚΩΔΙΚΟΣ: 020141****Ημ. 1ης Έκδοσης:**

7ος 2009

Ημ. 4ης Αναθεώρησης:

6ος 2024

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Διχοτομημένο τρυβλίο CHOCOLATE AGAR – THAYER MARTIN AGAR για την καλλιέργεια μικροβίων με ειδικές τροφικές απαιτήσεις, όπως *Αιμόφιλος*, *Ναϊσσέριες*. (CHOCOLATE AGAR) – και για την απομόνωση της *Neisseria gonorrhoeae* (THAYER MARTIN).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

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

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
CHOCOLATE AGAR	
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

Το Thayer Martin Agar χρησιμοποιείται για την απομόνωση της παθογόνου *Neisseria* από δείγματα μκτής χλωρίδας (από βακτήρια και μύκητες). Η βάση του περιέχει αζωτούχα θρεπτικά συστατικά υπό μορφή καζεΐνης και πεπτονών κρέατος. Το άμυλο αραβοσίτου, ουδετεροποιεί τα τοξικά λιπαρά οξέα τα οποία ενδέχεται να υπάρχουν στο άγαρ. Το αίμα αλόγου με την αιμόλυση του αποτελεί σημαντικό θρεπτικό συστατικό, παρέχοντας τους παράγοντες X & V. Το Thayer Martin περιέχει επίσης τους αντιμικροβιακούς παράγοντες, βανκομυσίνη, κολιστίνη, νυστατίνη και τριμεθοπρίμη (V-C-N-T Inhibitor) οι οποίοι καταστέλλουν την ανάπτυξη της φυσιολογικής χλωρίδας. Η βανκομυσίνη δρα εναντίον των gram (+) κόκκων, η κολιστίνη αναστέλλει τα gram (-) βακτηρίδια συμπεριλαμβανομένων των ειδών του γένους *Pseudomonas* όχι όμως και τα είδη *Proteus* τα οποία αναστέλλει η τριμεθοπρίμη. Η νυστατίνη αναστέλλει τους μύκητες.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
THAYER MARTIN AGAR	
Columbia Peptone Mixture	23.0
Corn Starch	1.0
Sodium chloride	5.0
Agar No. 2	12.0
Horse Blood	60ml
Vancomycin	3mg
Colistin	7.5mg
Nystatin	12.5mg
Trimethoprim	5mg

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

Τελικό pH 7.2 ± 0.2 στους 25 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το CHOCOLATE AGAR – THAYER MARTIN 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 υγιειονομική 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 πλένουμε 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 **5 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) Επωάστε 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) Ανακαλλιεργείστε για ταυτοποίηση της *N. gonorrhoeae* μέσα στο διάστημα των επόμενων 18-24 ωρών.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

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.

THAYER MARTIN AGAR:

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

Η *Neisseria meningitidis* σχηματίζει μεσαίου ως μεγάλου μεγέθους γκρι 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

CHOCOLATE AGAR

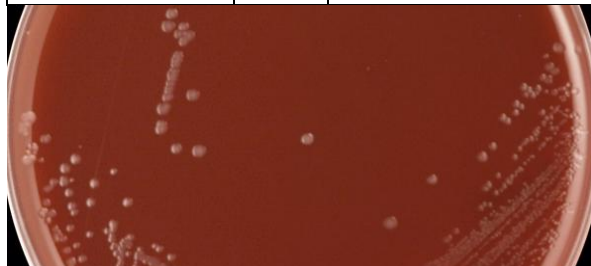
Μικρόβιο	ATCC	Αποικίες
<i>Haemophilus influenzae</i>	10211	Μικρές, υγρές, με ελαφριά οσμή.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Μικρές, επίπεδες, που εμφανίζουν πράσινο χρώμα.
<i>Neisseria meningitidis</i>	13090	Μεγάλες αποικίες, χρώματος γκρι, μπλέ.
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	43069	Μικρές, γκρι, λευκές,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



Haemophilus influenzae ATCC 10211

THAYER MARTIN

Μικρόβιο	ATCC	Αποικίες
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	43069	Μικρές λευκές - γκριζωπές
<i>Neisseria meningitidis</i>	13090	Μεσαίου ως μεγάλου μεγέθους γκρι αποικίες.
<i>Escherichia coli</i>	25922	Δεν αναπτύσσεται



Neisseria gonorrhoeae ATCC 43069

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 δυνητικούς 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 – THAYER MARTIN AGAR – **CE**

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο διχοτομημένο 9cm	020141	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 ΔΥ8δ/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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.

THAYER MARTIN AGAR

Young, H. 1978. Cultural diagnoses of gonorrhoea with modified New York City (MNYC) medium. Brit. Journ. Ven. Dis. 54: 36-40:

Thayer, J. D. and Martin, J. E. 1966. Improved medium selective for the cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. Meningitidis*: Public Health rep. 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.bioprepare.gr



TECHNICAL DATA SHEET

PRODUCT: **CHOCOLATE AGAR – THAYER MARTIN AGAR**
REFERENCE: **020141**



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

DESCRIPTION

Divided CHOCOLATE AGAR – THAYER MARTIN AGAR Petri dish for the cultivation of microorganisms with special nutritional requirements, such as *Haemophilus* species and *Neisseria* species. (CHOCOLATE AGAR) – and for the isolation of *Neisseria gonorrhoeae* (THAYER MARTIN).

METHOD PRINCIPLE

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

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

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

Final pH 7.3 ± 0.2 at 25 °C

Thayer Martin Agar is used for the isolation of pathogenic *Neisseria* from mixed flora samples (including bacteria and fungi). Its base contains nitrogenous nutrients in the form of casein and meat peptones. Corn starch neutralizes the toxic fatty acids that may be present in the agar. Horse blood, through its hemolysis, serves as an important nutrient, providing the X and V factors. Thayer Martin also contains antimicrobial agents, such as vancomycin, colistin, nystatin, and trimethoprim (V-C-N-T Inhibitor), which suppress the growth of normal flora. Vancomycin acts against gram-positive cocci, colistin inhibits gram-negative bacteria, including *Pseudomonas* species, but not *Proteus* species, which are inhibited by trimethoprim. Nystatin inhibits fungi.

FORMULA	g/litre
THAYER MARTIN AGAR	
Columbia Peptone Mixture	23.0
Corn Starch	1.0
Sodium chloride	5.0
Agar No. 2	12.0
Horse Blood	60ml
Vancomycin	3mg
Colistin	7.5mg
Nystatin	12.5mg
Trimethoprim	5mg

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

Final pH 7.2 ± 0.2 at 25 °C.

PRECAUTIONS

CHOCOLATE AGAR – THAYER MARTIN 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

The petri dishes must be stored at **2 – 12 °C** inside their packaging until use. Prolonged storage at temperatures below **2 °C** creates excess moisture inside the material, posing a risk of contamination. Freezing, even temporarily, destroys the material. Excessive heating should also be avoided. The petri dishes can be used until the expiration date indicated on the label. For transport, stability studies have shown that the petri dishes can remain at **6 – 25 °C** for **5 days** or at **25 – 40 °C** for **48 hours** without affecting the product's performance.

METHOD OF USE

Inoculate and spread the sample as soon as possible after receiving it in the laboratory. Alternatively, if the sample is to be cultured after swabbing, the following procedure can be followed:

1. Pass the swab over the agar, drawing a large "Z" on its surface. This allows the swab to be exposed to the nutrient medium for enough time, ensuring better transfer of microorganisms.
2. Spread the material using a sterile loop, crossing over the initial "Z" direction. This procedure is best done during sample collection. If it was not done at that time, it should be performed in the laboratory.
3. Place cultures in an aerobic environment enriched with 10% CO₂ as soon as possible.

- Incubate at 35-37 °C and examine the cultures after overnight incubation as the initial phase, and again after approximately 48 hours for the final phase.
- Re-culture for identification of *N. gonorrhoeae* within the next 18-24 hours.

INTERPRETATION OF RESULTS

CHOCOLATE AGAR:

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

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

Neisseria meningitidis forms large, grayish-blue colonies.

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

THAYER MARTIN AGAR:

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

Neisseria meningitidis forms medium to large-sized gray colonies.

METHOD LIMITATIONS

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

QUALITY CONTROL

CHOCOLATE AGAR

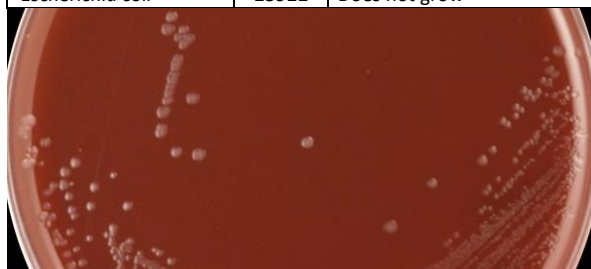
Microorganism	ATCC	Colonies
<i>Haemophilus influenzae</i>	10211	Small, moist, with a slight odor
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Small, flat colonies with a green color
<i>Neisseria meningitidis</i>	13090	Large colonies, grayish blue in color
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	43069	Small, gray, white,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



Haemophilus influenzae ATCC 10211

THAYER MARTIN

Microorganism	ATCC	Colonies
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	43069	Small, white - grayish
<i>Neisseria meningitidis</i>	13090	Medium to large-sized gray colonies
<i>Escherichia coli</i>	25922	Does not grow



Neisseria gonorrhoeae ATCC 43069

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 – THAYER MARTIN AGAR – CE

ITEM	CODE	PACKAGE	STORAGE	SHELF LIFE
Divided Petri dish 9 cm	020141	10 pieces	2 – 12 °C	3 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 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 DY8d/1348/2004

LITERATURE REFERENCES

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.

THAYER MARTIN AGAR

Young, H. 1978. Cultural diagnoses of gonorrhoea with modified New York City (MNYC) medium. Brit. Journ. Ven. Dis. 54: 36-40:

Thayer, J. D. and Martin, J. E. 1966. Improved medium selective for the cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. Meningitidis*: Public Health Rep. 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.bioprep.gr