

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ****ΠΡΟΪΟΝ: CHOCOLATE BACITRACIN AGAR**  
**ΚΩΔΙΚΟΣ: 010027**Ημ. 1<sup>ης</sup> Έκδοσης:

7ος 2009

Ημ. 3<sup>ης</sup> Αναθεώρησης:

6ος 2024

**ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ**

Το Chocolate Agar είναι ένα εμπλουτισμένο υπόστρωμα, για την απομόνωση και καλλιέργεια 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 *Ναισσέριας* 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*, *Ναισσέριες*). Η συνεργασία της βακίτρασίνης διευκολύνει την εκλεκτική απομόνωση των ειδών του *Αιμόφυλου*. Η βακίτρασίνη είναι ένα πολυπεπτιδικό αντιβιοτικό που αναστέλλει τα gram(+) βακτηρίδια και την *Ναισσέρια*.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
Columbia Peptone Mixture	23.0
Corn Starch	1.0
Sodium chloride	5.0
Agar No. 2	12.0
Bacitracine	75mg
Horse Blood	60ml

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

Τελικό pH  $7.3 \pm 0.2$  στους 25 °C

**ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ**

Το CHOCOLATE BACITRACIN 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 **3 ημέρες** ή στους **25 - 40 °C** για **24 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:

- 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.
- 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.
- Τοποθετήστε τις καλλιέργειες όσο το δυνατό συντομότερα σε αερόβιο περιβάλλον εμπλουτισμένο με 10% CO<sub>2</sub>.
- Επώαστε στους 35-37 °C και εξετάστε τις καλλιέργειες μετά από ολονύχτια επώαση, σε πρώτη φάση και μετά από περίπου 48 ώρες σε τελική φάση.

## ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

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

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

## 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	Μερική έως πλήρη αναστολή.
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	43069	Μερική έως πλήρη αναστολή.



*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 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 BACITRACIN AGAR – **CE**

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 90mm	010027	10 τεμάχια	2 – 12 °C	3 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

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](mailto:bioprep1@otenet.gr) [www.bioprepare.gr](http://www.bioprepare.gr)



## TECHNICAL DATA SHEET

PRODUCT: **CHOCOLATE BACITRACIN AGAR**  
 REFERENCE: **010027**



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

### DESCRIPTION

Chocolate Agar is an enriched substrate for the isolation and cultivation of the *Haemophilus* from a variety of clinical specimens

### PRINCIPLE OF THE METHOD

Chocolate Agar is an enriched medium used for qualitative procedures to isolate and culture pathogenic microorganisms, particularly *Neisseria* and *Haemophilus* species, from various clinical samples. The peptone mixture provides essential nutrients such as nitrogen, vitamins, carbon, and trace elements. Starch supplies energy and vitamins. Sodium chloride ensures electrolyte balance and regulates the osmotic equilibrium of the medium. Agar serves as the solidifying agent. The addition and thermal hemolysis of 6% horse blood enhance the medium's nutritional properties. The lysis of red blood cells releases hemin and  $\beta$ -NAD (X & V factors), which are essential for the growth of microaerophilic bacteria such as *Haemophilus* and *Neisseria*. The presence of bacitracin facilitates the selective isolation of *Haemophilus* species. Bacitracin is a polypeptide antibiotic that inhibits Gram-positive bacteria and *Neisseria*.

COMPOSITION	g/litre
Columbia Peptone Mixture	23.0
Corn Starch	1.0
Sodium chloride	5.0
Agar No. 2	12.0
Bacitracine	75mg
Horse Blood	60ml

Appearance: Brown - unclear chocolate due to the addition of blood.

Final pH  $7.3 \pm 0.2$  in 25 °C

### PRECAUTIONS

CHOCOLATE BACITRACIN 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 TRANSPORTS CONDITIONS

The plates should be stored at **2–12°C** in their packaging until use. Prolonged storage at temperatures below **2°C** creates excess moisture in the medium, posing a risk of contamination. Even momentary freezing destroys the medium. Excessive heating should also be avoided. The plates can be used until the expiration date stated on the label. If you open the airtight packaging and have leftover plates, store them in the provided bag until their expiration date. Stability studies have shown that during transport, the plates can remain at **6–25°C** for up to **3 days** or at **25–40°C** for **24 hours** without affecting product performance.

### USAGE

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

1. Pass the swab over the agar, drawing a large "Z" shape on its surface. This method allows the swab to remain in contact with the medium for enough time, ensuring better transfer of microorganisms.
2. Spread the material using a sterile loop, making a crosswise direction over the initial "Z." This process is preferably performed during sample collection. If it is not done, it will take place in the laboratory.
3. Place the cultures in an aerated environment enriched with 10% CO<sub>2</sub> as soon as possible.
4. Incubate at 35-37°C and examine the cultures after overnight incubation in the first phase, and then again after about 48 hours in the final phase.

### INTERPRETATION OF RESULTS

*Haemophilus influenzae* forms colonies of small, wet, with a slight smell.

*Streptococcus pneumoniae* forms colonies of small, flat, green.

### LIMITATIONS OF THE METHOD

The final identification must be done by biochemical and serological tests. (e.g., a Latex Test welding test and can be run directly from suspicious 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	Partial to full suspension.
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	43069	Partial to full suspension..



*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 BACITRACIN AGAR – CE

PRODUCT	CODE	PACKING	STORE	SELF LIFE
Plate 90mm	010027	10 pieces	2 – 12 °C	2 months

Produced in Greece by the company Bioprepate 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 Bioprepate 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) Gonorrhoea: 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](mailto:bioprep1@otenet.gr)

[www.bioprepate.gr](http://www.bioprepate.gr)

