

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Ένα μη-θρεπτικό μέσο για την καλλιέργεια της *Ακανθαμοιβάδας*.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η καλλιέργεια είναι η κύρια διαγνωστική μέθοδος. Βγαίνει συχνότερα θετική από ότι η μικροσκοπική εξέταση.

Η τεχνική της στηρίζεται στην ιδιότητα της αμοιβάδας αυτής όπως και των άλλων αμοιβάδων που αναπτύσσονται παρουσία μικροβίων (*E. coli*, *E. aerogenes*) και σε βάρος αυτών. Η *Ακανθαμοιβάδα* αναπτύσσεται και χωρίς την παρουσία *E. coli*.

ΣΥΝΘΕΣΗ	
Sodium chloride(NaCl)	120mg
Magnesium sulphate(MgSO ₄ .7H ₂ O)	4mg
Calcium chloride(CaCl ₂ .2H ₂ O)	4mg
Disodium hydrogen phosphate(Na ₂ HPO ₄)	142mg
Potassium dihydrogen phosphate(KH ₂ PO ₄)	136mg
Distilled Water	1000ml
Bacteriological Agar	15g

Εμφάνιση: Μπεζ ανοιχτό διαυγές

Τελικό pH 7,0 ± 0.2 στους 25 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το Non Nutrient Agar είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου.

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 – 8 °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 αποφεύγετε την υπερβολική θέρμανση.

Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.

Εάν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία του τρυβλίου κατά λάθος, μπορείτε να το φυλάξετε στο ψυγείο για 5 – 7 μέρες αφού το σφραγίσετε με παραφίλμ η με σακουλάκι.

Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους 17 - 25 °C για 7

ημέρες ή στους 27 - 40 °C για 48 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Παρασκευάζουμε ένα παχύ εναιώρημα *E. coli* σε 0,5ml buffer page.

Τοποθετούμε δύο έως τρεις σταγόνες του εναιωρήματος στο κέντρο ενός τρυβλίου Non Nutrient Agar και απλώνονται σε όλη την επιφάνεια του άγαρ. Στη συνέχεια τοποθετούμε 1-2 σταγόνες του εξεταστέου δείγματος στο κέντρο του άγαρ.

Επιάζουμε το τρυβλίο στους 35 - 37 °C χωρίς να το αναστρέψουμε μέχρι και 7 ημέρες.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Ανάγνωση: Το τρυβλίο μικροσκοπείται καθημερινά με τον ξηρό φακό μικρής μεγέθυνσης (10 x 10) επί 7 ημέρες.

Όλη η επιφάνεια του τρυβλίου πρέπει να είναι σκεπασμένη με ένα συνεχές λεπτό στρώμα από το εναιώρημα της *E. coli*. Αν στο εξεταστέο δείγμα υπάρχει *Ακανθαμοιβάδα* αυτή θα έχει προχωρήσει από εκεί που αφήσαμε το εξεταστέο σχηματίζοντας διαφανές αυλάκι που δείχνει την πορεία της.

Στο άκρο της αυλάκας θα δούμε ένα διαθλαστικό σωματίο που είναι η *Ακανθαμοιβάδα*. Με τον μαρκαδόρο σημειώνουμε το σημείο όπου εντοπίσαμε την αμοιβάδα για να κάνουμε την ανακαλλιέργεια.

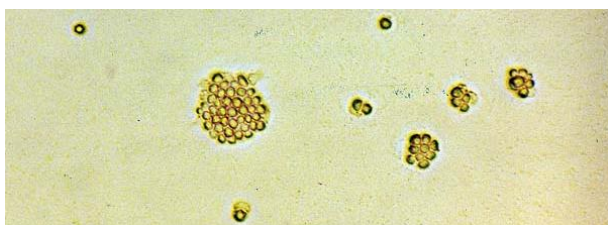
Ανακαλλιέργεια: Με ένα μαχαιράκι κόβουμε το κομμάτι του άγαρ που σημειώσαμε και το τοποθετούμε με την καλλιερημένη όψη σε επαφή με την επιφάνεια του νέου Non Nutrient Agar.

Επιάζουμε και εξετάζουμε όπως εξηγήσαμε πιο πάνω.

Παρατηρούνται *Ακανθαμοιβάδες* σε όλη την έκταση του τρυβλίου μετά από 24 ώρες. Μετά από 2 έως 3 ημέρες επώασης στους 37 °C αρχίζει η εγκύστωση. Μετά από 4-5 ημέρες βλέπουμε ταυτόχρονα τροφοζώιτες και κύστει. Οι κύστει αναπτύσσονται όταν αρχίζουν να λιγοστεύουν οι *E. coli*.



Acanthamoebae trophozoites.



Acanthamoebae cysts.

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

Non Nutrient Agar (Page Amoeba Saline) (NN Agar)

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 90mm	010392	10 τεμάχια	2 – 8 °C	4 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

Κλινική Μικροβιολογία & εργαστηριακή διάγνωση λοιμώξεων. Αντιγόνη Αρσένη. Τόμος 2. Σελ. 982-985. *Acanthamoeba* spp. ATCC Medium 1323 Page's Amoeba Saline, Page, f.c.1988. A new key to freshwater and soil gymnamoebae. Freshwater Biological Association, Ambleside. Practical's & Viva in Medical Parasitology by Sehgal-2003.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO

Bioprepare
microbiology



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