

**ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ**

Διχοτομημένο τρυβλίο CHOCOLATE AGAR – GARDNERELLA AGAR για την καλλιέργεια μικροβίων με ειδικές τροφικές απαιτήσεις, όπως *Aιμόφιλος*, *Ναϊσσέριες*. (CHOCOLATE AGAR) – και για την Εκλεκτική απομόνωση της *Gardnerella vaginalis* (GARDNERELLA AGAR).

**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 GARDNERELLA AGAR είναι εκλεκτικό θρεπτικό υλικό το οποίο χρησιμοποιείται για την απομόνωση της *Gardnerella vaginalis*. Το *Gardnerella* Agar επωάζεται σε 10% CO<sub>2</sub>.

Το Columbia base είναι μια φόρμουλα αρκετά πλούσια σε θρεπτικά συστατικά απαραίτητα για την ανάπτυξη απαιτητικών βακτηρίων. Τα ένζυμα των πεπτονών της καζεΐνης, του κρέατος και το εκχύλισμα βοός, προσφέρουν τα απαραίτητα αμινοξέα και άλλα αζωτούχα σύμπλοκα. Το εκχύλισμα ζύμης κυρίως προσφέρει την βιταμίνη Β. Το άμυλο αραβοσίτου συντελεί στην ουδετεροποίηση των λιπαρών οξέων, τα οποία μπορεί να παίζουν τοξικό ρόλο για την *G. Vaginalis*. Το NaCl διατηρεί την ωσμωτική ισορροπία.

Η κολιστίνη το ναλιδιξικό οξύ και η αμφοτερισίνη-Β προστίθενται στο υλικό προκειμένου να διευκολύνουν την εκλεκτική ανάπτυξη της *G. vaginalis* από κλινικά δείγματα. Η κολιστίνη και το ναλιδιξικό οξύ αναστέλλουν τα περισσότερα gram(-) βακτήρια ενώ η αμφοτερισίνη-Β αναστέλλει τους περισσότερους μύκητες.

Η προσθήκη αίματος αλόγου βοηθάει στην θρεπτικότητα του μέσου αλλά και στην ταυτοποίηση της *G. Vaginalis* λόγω της β-αιμόλυσης στα ερυθρά.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
GARDNERELLA AGAR	
Peptone Mixture	20.0
Beef Extract	3.0
Corn Starch	1.0
Sodium chloride	5.0
Bacteriological Agar	15.0
Horse Blood	100ml
Colistin	10mg
Nalidixic acid	15mg
Amphotericin B	3mg

Εμφάνιση: Κόκκινο – βυσσινή μη διαυγές, λόγω της προσθήκης του αίματος.  
Τελικό pH 7.3 ± 0.2 στους 25 °C.

**ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ**

Το CHOCOLATE AGAR – GARDNERELLA 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 υγιεινομική 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 – 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 αποφεύγεται 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 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% CO<sub>2</sub>.

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) Ανακαλλιιεργείστε 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.

##### GARDNERELLA AGAR:

Η *Gardnerella vaginalis* σχηματίζει μικρές, γκρι, λευκές, αποικίες με 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

##### 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

##### GARDNERELLA AGAR

Μικρόβιο	ATCC	Ανάπτυξη	Αιμόλυση
<i>Gardnerella vaginalis</i>	14018	Άριστη	βήτα
<i>Candida albicans</i>	10231	Αναστέλλεται	-
<i>Proteus mirabilis</i>	12453	Αναστέλλεται	-



*Gardnerella vaginalis* ATCC 14018

#### 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 – GARDNERELLA AGAR – CE

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο διχοτομημένο 9cm	020140	10 τεμάχια	2 – 8 °C	2 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

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.

GARDNERELLA AGAR

Ellner, P.D., Stoessel, C.J., Drakeford, E and Vasi, F. (1966). A new culture medium for medical bacteriology. Amer. J. Clin Pathol., 45:502-504.

Goldberg, R.L., and Washington, J.A., (1976). Comparison of isolation of Haemophilus vaginalis (Corynebacterium vaginale) from Peptone-Starch-Dextrose Agar and Columbia Colistin-Nalidixic Acid Agar. J. Clin. Microbiol., 4:245-247.

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

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