

mikrobiologie labor technik

# Agar Chocolat

## PRINCIPIU

Mediul se întrebuintează doar *in vitro*. Este recomandat pentru creșterea microorganismele pretențioase, cum ar fi *Neisseria* și *Haemophilus*. Agarul chocolate este adaptat pentru analiza probelor biologice, cum ar fi LCR și culturi de sânge.

## FORMULA TIPICĂ

Pentru prepararea agarului chocolate se poate utiliza ca mediu deshidratat: Columbia Agar Base sau Blood Agar Base.

## METODA

Se topește mediul deshidratat, se sterilizează la 121°C, 15 minute și se răcește la 42 ± 1°C. Se adaugă apoi 5-10% sânge de cal sau de berbec, sub omogenizare constantă și se încălzește timp de 5 minute la 70°C (pentru a coace sângele). Se răcește pentru a doua oară și se toarnă în plăci Petri.

## PROCEDURA

Se încălzesc plăcile la 37°C înainte de însămânțare. Se incubează 24-48 ore în atmosferă umedă și, eventual, îmbogățită cu CO<sub>2</sub>.

## REZULTATE

Coloniile de *Neisseria gonorrhoeae* cresc în 24 de ore. Ele sunt mici, gri cu contururi regulate și 0,5-1 mm Ø. În cazul în care incubarea este prelungită, atunci aceste colonii cresc și devin neregulate. *Neisseria meningitidis* crește mai repede: coloniile sunt ușor mai mari cu contururi

regulate și cu coloritul gri și transparent. Coloniile pot fi de asemenea mucoase. Identificarea coloniilor de *Neisseria* va fi urmată de o colorație Gram, testul oxidazei și teste biochimice de identificare. Speciile de *Haemophilus* cresc ușor pe agar chocolate, în special în cazul în care atmosfera conține CO<sub>2</sub>. Coloniile sunt adesea mucoase, translucide și gri, cu un diametru de 0,5 la 1 mm.

## BIBLIOGRAFIE

1. Thayer J.D. and Martin J.E. 1966. Improved Medium for Cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. Public Health Rep. 81:559-562.
2. Riou J.Y. et Guibourdenche M. 1992. Méthodes de laboratoires *Neisseria* et *Branhamella*. Inst. Past. –pp30-38.
3. COFRAC. Programme 116/00/BA24/00

## AMBALARE

### Mediul deshidratat Columbia Agar Base

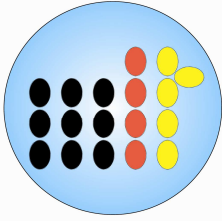
(A se păstra între 1-30°C)  
140121A: Flacon de 500 g  
140121L: Flacon de 500 g

### Mediul deshidratat Blood Agar Base

(A se păstra între 1-30°C)  
140131A: Flacon de 500 g  
140131L: Flacon de 500 g

### Mediul gata preparat

(A se păstra între 2 și 8°C)  
110176: Cutie cu 20 de plăci de 90 mm Ø  
120119: Cutie cu 32 de tuburi de 7 ml



mikrobiologie labor technik

# Chocolate Agar

## PRINCIPLE

This medium is recommended for the growth of fastidious microorganisms such *Neisseria* and *Haemophilus*. Chocolate agar is adapted for the analysis of biological samples such as CRL and blood cultures.

## FORMULA

For preparation of chocolate agar can be used as a dehydrated medium: Columbia Agar Base or Blood Agar Base.

## METHOD

Melt the dehydrated medium, sterilize at 121°C, 15 minutes and cool to  $42 \pm 1^\circ\text{C}$ . Add 5 to 10% sheep or horse blood. Under slow and constant homogenization heat for 5 minutes at 70°C (to cook the blood). Cool for a second time and pour in sterile plates.

## PROCEDURE

Warm the plates to 37°C prior to inoculation. Incubate 24 to 48 hours under humid and possibly CO<sub>2</sub> enriched atmosphere.

## RESULTS

*Neisseria gonorrhoeae* colonies grow in 24 hours. They are small, greyish with regular contours and 0.5 to 1 mm Ø. If the incubation is prolonged these colonies grow and become irregular.

*Neisseria meningitidis* grow faster : they are slightly bigger with regular contours and with greyish and transparent coloration. Colonies can also be mucous.

*Neisseria* identification will be followed by a Gram coloration, oxydase test and a biochemical identification systems.

*Haemophilus* species grow easily on chocolate medium, specially when the atmosphere contain

CO<sub>2</sub>. Colonies are often mucous, translucent and greyish with a diameter of 0.5 to 1 mm.

## BIBLIOGRAPHY

1. Thayer J.D. and Martin J.E. 1966. Improved Medium for Cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. Public Health Rep. 81:559-562.
2. Riou J.Y. et Guibourdenche M. 1992. Méthodes de laboratoires *Neisseria* et *Branhamella*. Inst. Past. – pp30-38.
3. COFRAC. Programme 116/00/BA24/00

## PACKAGING

### Columbia Agar Base dehydrated medium

Store between 1 and 30°C

140121A: Flask of 500 g

140121L: Flask of 500 g

### Blood Agar Base dehydrated medium

Store between 1 and 30°C

140131A: Flask of 500 g

140131L: Flask of 500 g

### Chocolate agar, ready to use plates

Store between 2 and 8°C

110176: Pack of 20 plates 90 mm Ø

120119: Pack of 32 tubes of 7 ml