

mikrobiologie labor technik

Agar Chocolat Îmbogățit

PRINCIPIU

Mediul se întrebuițează doar *in vitro*. Este recomandat pentru creșterea microorganismelor pretențioase, cum ar fi *Neisseria* și *Haemophilus*. Hemoglobina furnizează hemină (sau factorul X). Factorul V termosensibil (coenzima NAD) este adăugat după sterilizare, atunci când se adaugă suplimentul de polivitamine. Agarul chocolate este adaptat pentru analiza probelor biologice, cum ar fi LCR și culturi de sânge.

FORMULA TIPICĂ

Componente	g/l
Peptocomplex	15.00
Amidon de porumb	1.00
Clorură de sodiu	5.00
Hidrogen fosfat de dipotasiu	4.00
Dihidrogenofosfat de potasiu	1.00
Sânge de cal/berbec pregătit termic	100.00 ml
Supliment de polivitamine q.s.p.	1 l
Agar	12.00
pH final: 7.2 ± 0.2 la 25°C.	

METODA

Se topește baza de ciocolată și se răcește la 42 ± 1°C, apoi adaugă 5-10% sânge, la omogenizare constantă, 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 CO₂.

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 îmbogățit, în special în cazul în care atmosfera conține CO₂. Coloniile sunt adesea mucoase, translucide și gri, cu un diametru de 0.5 la 1 mm. Diagnosticul speciei va fi făcut testând cerințele factorilor X și V și folosind un sistem biochimic rapid de identificare.

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

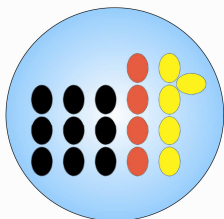
AMBALARE

Mediul deshidratat

(A se păstra între 1 și 30°C)
140119A: Flacon de 500 g

Agar chocolate îmbogățit gata preparat

(A se păstra între 2 și 8°C)
110119: Cutie cu 20 de plăci de 90 mm Ø
120177: Cutie cu 32 de tuburi de 7 ml



mikrobiologie labor technik

Enriched Chocolate Agar

PRINCIPLE

This medium is recommended for the growth of fastidious microorganisms such *Neisseria* and *Haemophilus*. Hemoglobin provides hemin (or X factor). Thermosensitive V factor (coenzyme NAD) is added after sterilization when incorporating polyvitamin supplement. Chocolate enriched agar is adapted for the analysis of biological samples such as CRL and blood cultures.

FORMULA

Components	g/l
Peptocomplex	15.00
Corn starch	1.00
Sodium chloride	5.00
Dipotassium Hydrogen phosphate	4.00
Potassium dihydrogen Phosphate	1.00
Cooked horse blood	100.00 ml
Polyvitamin supplement q.s.p.	1 l
Agar	12.00
Final pH: 7.2 ± 0.2 at 25°C	

METHOD

Melt the chocolate base and cool to 42 ± 1°C and add 5 to 10% of blood. Under slow 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 CO₂ 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 enriched chocolate medium, specially when the atmosphere contain CO₂. Colonies are often mucous, translucent and greyish with a diameter of 0.5 to 1 mm. Species diagnostic will be done by testing X & V factor requirements and by using a biochemical rapid identification systems.

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

Dehydrated medium

Store between 1 and 30°C
140119A: Flask of 500 g

Enriched chocolate, ready to use plate

Store between 2 and 8°C
110119: Pack of 20 plates 90 mm Ø
120177: Pack of 32 tubes of 7 ml