

ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ — ГОТОВАЯ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ СРЕДА В ЧАШКАХ



PA-254554.04

Ред.: сентябрь 2011 г.

BD GC-Lect Agar

НАЗНАЧЕНИЕ

BD GC-Lect Agar — это селективная среда, обеспечивающая улучшенный рост и обнаружение *Neisseria gonorrhoeae*, а также более эффективное ингибирование загрязняющих бактерий и грибков, включая виды *Capnocytophaga* в образцах из ротоглотки.

ПРИНЦИПЫ И ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ

Микробиологический метод.

Для изоляции патогенных микроорганизмов *Neisseria* из образцов, содержащих смешанную флору, последовательно разрабатывались разные среды [селективный агар Тайера-Мартина, модифицированный агар Тайера-Мартина, агар Мартина-Льюиса]. ¹⁻³ Каждая из этих сред обеспечивает более эффективное ингибирование загрязняющих микроорганизмов по сравнению с предшествующей рецептурой, однако каждая из них (с разной степенью) ингибирует определенные штаммы, которые, наоборот, должна выявлять. ^{4,5} Компания BD Diagnostic Systems разработала основу агара GC II, улучшив рецептуру основы шоколадного агара, который используется в этих селективных средах. Превосходная стимуляция роста, достигнутая для патогенных бактерий *Neisseria*, также обеспечила рост штаммов *Capnocytophaga* в селективной среде при засеве образцов из ротоглотки.

Агар GC-Lect Agar был разработан и запатентован компанией BD Diagnostic Systems для обеспечения дополнительного ингибирования видов *Capnocytophaga* и других штаммов, устойчивых к ингибиторам в агаре MTM; например, устойчивых к ванкомицину загрязняющих бактерий, в том числе определенных штаммов *Staphylococcus epidermidis*. Концентрация ванкомицина в данной среде снижена для повышения эффективности обнаружения штаммов *N. gonorrhoeae*, чувствительных к этому антибиотику. Бактерии *N. lactamica* не ингибируются агаром GC-Lect Agar так же, как и агаром MTM.

Агар **BD GC-Lect Agar** содержит основу агара GC II, которая предоставляет питательные вещества в форме казеина и пептонов, фосфатный буфер для поддержания рН и кукурузный крахмал для нейтрализации токсичных жирных кислот, которые могут присутствовать в агаре. Гемоглобин из бычьей крови обеспечивает X-фактор (гемин). Обогащающая добавка **BD IsoVitaleX Enrichment** — это определенная добавка, которая является источником витаминов, аминокислот, коэнзимов, глюкозы, ионов железа и других факторов, улучшающих рост патогенных микроорганизмов *Neisseria*. Для улучшения селективности компания BD Diagnostic Systems разработала смесь пяти противомикробных препаратов, позволяющую ингибировать грамположительные и грамотрицательные бактерии и грибки. Эти противомикробные средства не подавляют рост гонококков, чувствительных к ванкомицину, которые ингибируются стандартным агаром МТМ.⁷

РЕАГЕНТЫ BD GC-Lect Agar

Рецептура* на литр очищенной воды

. одонтура на жигр о инденнои воды			
Панкреатический гидролизат казеина	7,5 г	Натрия хлорид	5,0
Подобранный пептон	7,5	Агар	12,0
Кукурузный крахмал	1,0	Гемоглобин	10,0
Дикалийфосфат	4,0	Селективные реагенты	0,017
Монокалия фосфат	1,0	BD IsoVitaleX Enrichment	10,0 мл
pH 7,2 +/- 0,2			

^{*} При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

Обогащающая добавка BD IsoVitalex Enrichment содержит следующие факторы роста

(рецептура* на литр очищенной воды):

Витамин В ₁₂	0,01 г	Тиаминпирофосфат	0,1 г
L-глутаминовая кислота	10,0	Нитрат железа	0,02
Аденин	1,0	Гидрохлорид тиамина	0,003
Гуанина гидрохлорид	0,03	Гидрохлорид цистеина	25,9
Парааминобензойная кислота	0,013	L-цистин	1,1
Никотинамидадениндинуклеот	0,25	Глюкоза	100,0
ид (НАД)			

^{*} При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для профессионального применения.

Не используйте чашки при наличии признаков бактериального заражения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта.

Прочитайте документ **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**, в котором приведено описание асептических методов работы, биологических опасностей и утилизации использованных продуктов.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

После получения храните чашки в темноте при температуре от 2 до 8 °С в оригинальной обертке до начала использования. Избегайте замораживания и перегрева. Чашки могут быть засеяны до даты истечения срока годности (см. этикетку на упаковке) и инкубированы в течение рекомендованного времени инкубации.

Чашки из открытых стопок по 10 чашек могут использоваться в течение одной недели при условии хранения с соблюдением чистоты при температуре от 2 до 8 °C.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Засейте репрезентативные образцы следующими штаммами (подробные сведения см. в документе **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**). Инкубируйте при температуре 35 – 37 °C в течение 24 – 48 ч, предпочтительно в аэробной атмосфере, обогащенной диоксидом углерода.

Штаммы	Результаты роста	
Neisseria gonorrhoeae ATCC 43069	Рост	
Neisseria gonorrhoeae ATCC 51109	Рост	
Neisseria meningitidis ATCC 13090	Рост	
Neisseria sicca ATCC 9913	От частичного до полного ингибирования	
Escherichia coli ATCC 25922	Полное ингибирование	
Proteus mirabilis ATCC 43071	От частичного до полного ингибирования	
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	Полное ингибирование	
Candida albicans ATCC 60193	От частичного до полного ингибирования	
Capnocytophaga ochracea DSM 7272	Полное ингибирование	

МЕТОДИКА

Поставляемые материалы

BD GC-Lect Agar (чашки Stacker 90 мм). Свободные от микроорганизмов.

Непредоставляемые материалы

Дополнительная питательная среда, реагенты и лабораторное оборудование по мере необходимости.

Типы образцов

Это селективная среда для патогенных микроорганизмов *Neisseria*, которая особенно подходит для изоляции *Neisseria gonorrhoeae* и может использоваться для образцов всех типов. Часто образцы включают мазки из мочеполового тракта, прямой кишки и ротоглотки (см. также раздел **ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ METOДИКИ**). 8–10 Данная среда может также использоваться для обнаружения *Neisseria meningitidis* в образцах, содержащих нормальную флору, например в мазках из носа носителей в эпидемиологическом исследовании вспышки бактериального менингита. Ее не следует применять как единственную среду для первичной изоляции *N. meningitidis* из спинномозговой жидкости, но можно использовать в качестве дополнительной среды для изоляции.

Сбор и транспортировка образцов

Neisseria gonorrhoeae и N. meningitidis очень чувствительны к неблагоприятным условиям окружающей среды. Поэтому для транспортировки всех образцов с подозрением на патогенные микроорганизмы Neisseria следует использовать соответствующую среду. Образцы должны быть отправлены в лабораторию как можно быстрее и не должны храниться дольше 24 ч даже при использовании среды для транспортировки. Оптимальная температура для транспортировки: от 20 до 25 °C. Не замораживать!^{8–10}

Методика тестирования

Выполните посев образца в среде **BD GC-Lect Agar** как можно скорее после поступления в лабораторию. Чашка для посева используется, главным образом, для отделения чистых культур от образцов, содержащих смешанную флору. В качестве альтернативы, если материал засевается непосредственно с тампона, проверните тампон над небольшим участком поверхности возле края, а затем сделайте штрихи с этого засеянного участка. Чашку с неселективным шоколадным агаром, например с шоколадным агаром (агаром GC с добавкой IsoVitaleX **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**, можно также засеять всеми образцами с подозрением на содержание *N. gonorrhoeae* для обеспечения возможности обнаружения других патогенных микроорганизмов, вызвавших инфекционное заболевание, а также необходимо включить в исследование по обнаружению микроорганизмов *N. meningitidis* в спинномозговой жидкости. Кроме того, следует добавить обычную среду для аэробных культур, если требуется обнаружение других патогенных микроорганизмов.

Инкубируйте засеянную среду в аэробной атмосфере, обогащенной 5-10~% диоксида углерода, в течение 42-48~ч при температуре $35\pm2~$ °C или дольше, если это необходимо. Проведите считывание спустя 18-24~ч и после 42-48~ч инкубации. Обратите внимание, что для появления видимых колоний *Neisseria gonorrhoeae* может потребоваться до 72~ч.

Результаты

Типичная морфология колонии в агаре **BD GC-Lect Agar** и шоколадном агаре (GC Agar с добавкой IsoVitaleX) **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**:

Neisseria gonorrhoeae: небольшие, от серовато-белых до бесцветных, могут быть слизеподобными.

Neisseria meningitidis: от средних до больших, сине-серые, могут быть слизеподобными. Предположительную идентификацию типичных колоний можно выполнить с помощью окрашивания по Граму и теста на оксидазу. ^{9,10} Для окончательной идентификации изолятов следует провести дополнительные биохимические или иммунологические тесты.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

Агар **BD GC-Lect Agar** используется для изоляции *Neisseria gonorrhoeae*. Среда может также использоваться для изоляции *N. meningitidis* из клинических образцов, содержащих нормальную флору, например в мазках из носа носителей в эпидемиологическом исследовании вспышки бактериального менингита.

Специальные показатели эффективности

Во время оценки эффективности 500 образцов видимый рост колоний *N. gonorrhoeae* наблюдался через 24 ч в 72 положительных культурах в агаре **BD GC-Lect Agar**, а в эталонной среде агара МТМ — только в 52 культурах. Всего 50 положительных культур были получены с помощью агара GC-Lect Agar по сравнению с 49 культурами, полученным с помощью агара МТМ. Селективность агара **BD GC-Lect Agar** была лучше только в 19 культурах, показавших рост нормальной флоры, по сравнению с 78 культурами в агаре МТМ через 24 ч инкубации. Селективность в агаре **BD GC-Lect Agar** была лучше, главным образом, в отношении дрожжевых грибков (2 на 30 культур) и грамположительных кокков (5 на 31).

Ограничения применения методики

Посев образца в одну среду редко позволяет обнаружить все потенциально значимые микроорганизмы. Поэтому образцы, культивированные в селективной среде, необходимо также культивировать в

неселективной среде для получения дополнительной информации и повышения вероятности выделения потенциальных патогенов. Шоколадный агар (агар GC с добавкой IsoVitaleX) BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX) является обогащенной средой, в которой патогенные бактерии могут быть подавлены чрезмерным ростом нежелательных или непатогенных бактерий.

Рост колоний *Neisseria lactamica*, относящихся к роду сапрофитов, не подавляется в агаре GC-Lect Agar.

СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- 1. Thayer, J.D., and J.E. Martin, Jr. 1966. Improved medium selective for cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. Public Health Rep. 81:559-562.
- 2. Martin, J.E., J.H. Armstrong, and P.B. Smith. 1974. New system for cultivation of *Neisseria gonorrhoeae*. Appl. Microbiol. 27:802-805.
- 3. Martin, J.E., Jr., and J.S. Lewis. 1977. Anisomycin: improved antimycotic activity in modified Thayer-Martin medium. Public Health Lab. 35:53-62.
- 4. Cross, R.C., M.B. Hoger, R. Neibaur, B. Pasternack, and F.J. Brady. 1971. VCN-inhibited strains of *Neisseria gonorrhoeae*. HSMHA Health Rep. 86:990-992.
- 5. Phillips, I., D. Humphrey, A. Middleton, and C.S. Nicol. 1972. Diagnosis of gonorrhea by culture on a selective medium containing vancomycin, colistin, nystatin, and trimethoprim (VCNT). A comparison with gram-staining and immunofluorescence. Brit. J. Vener. Dis. 48:287-292.
- 6. Reichart, C.A., L.M. Rupkey, W.E. Brady, and E.W. Hook III. 1989. Comparison of GC-Lect and modified Thayer-Martin media for isolation of *Neisseria gonorrhoeae*. J. Clin. Microbiol. 27:808-811.
- Evans, G.L., D.L. Kopyta, and K. Crouse. 1989. New selective medium for the isolation of *Neisseria gonorrhoeae*. J. Clin. Microbiol. 27:2471-2474.
 Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology.
- 8. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. *In:* Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 9. Isenberg, H.D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 10. Janda, W.M., and J.S. Knapp. 2003. *Neisseria* and *Moraxella catarrhalis. In:* Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

УПАКОВКА И НАЛИЧИЕ

BD GC-Lect Agar

№ по каталогу 254554 Готовая к использованию среда в чашках; 20 чашек № по каталогу 254555 Готовая к использованию среда в чашках; 120 чашек

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для получения дополнительной информации обратитесь к местному представителю компании BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12 D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

http://www.bd.com

http://www.bd.com/europe/regulatory/

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD