

## BD GC-Lect Agar

### VERWENDUNGSZWECK

**BD GC Lect Agar** (BD GC Lect-Agar) ist ein selektives Medium zur Isolierung von *Neisseria gonorrhoeae* mit verbesserten Wachstumseigenschaften und besserer Hemmung von kontaminierenden Bakterien und Pilzen, einschließlich *Capnocytophaga*-Spezies in oropharyngealen Proben.

### GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Zur Isolierung der pathogenen *Neisseria*-Arten aus Proben mit gemischter Flora wurden eine ganze Reihe von Medien entwickelt (Thayer-Martin-Selektivagar, modifizierter Thayer-Martin (MTM)-Agar, Martin-Lewis-Agar).<sup>1-3</sup> Jedes dieser Medien zeigt eine bessere Hemmung der kontaminierenden Organismen als die vorhergehende Rezeptur, aber jedes hemmt gewisse *Neisseria*-Stämme zu einem unterschiedlichen Grad, zu deren Isolierung es eigentlich entwickelt wurde.<sup>4,5</sup>

BD Diagnostic Systems hat GC-II-Agarbasis als verbesserte Basis für Schokoladenagar entwickelt, welche in diesen selektiven Medien verwendet wird. Die für pathogene *Neisseria* erzielte überlegene Wachstumsförderung ermöglichte ebenfalls das Wachstum von *Capnocytophaga*-Stämmen auf dem selektiven Medium, wenn es mit oropharyngealen Proben inokuliert wurde.

GC-Lect-Agar wurde von BD Diagnostic System entwickelt, um die zusätzliche Hemmung von *Capnocytophaga*-Spezies und anderer gegenüber den Inhibitoren in MTM-Agar resistenter Stämme, wie z.B. Vancomycin-resistente Kontaminanten, einschließlich bestimmter *Staphylococcus epidermidis*-Stämme, zu erzielen.<sup>6,7</sup> Das Medium enthält eine verringerte Vancomycin-Konzentration zur verbesserten Isolierung von *N. gonorrhoeae*-Stämmen, welche gegenüber diesem Antibiotikum empfindlich sind. Gleich wie auf MTM wird *N. lactamica* auf GC-Lect-Agar nicht gehemmt.

**BD GC-Lect Agar** enthält GC-II-Agar-Basis, welche die stickstoffhaltigen Nährstoffe in Form von Casein und Fleischpeptonen liefert, Phosphatpuffer zur Beibehaltung des pH-Wertes, sowie Maisstärke, um die möglicherweise im Agar enthaltenen, toxischen Fettsäuren zu neutralisieren. Rinderhämoglobin liefert den Faktor X (Hämin). **BD IsoVitaleX Enrichment** (IsoVitaleX-Anreicherung) ist ein definiertes Supplement, welches Vitamine, Aminosäuren, Coenzyme, Glucose, Eisenionen und andere Faktoren liefert, die das Wachstum von pathogenen *Neisseria* fördern. Um die Selektivität zu verbessern, hat BD Diagnostic Systems eine Kombination von fünf antimikrobiellen Agenzien entwickelt, welche das Wachstum von grampositiven und gramnegativen Bakterien und Pilzen hemmt. Diese antimikrobiellen Agenzien haben auf Vancomycin-empfindliche Gonokokken, welche auf Standard-MTM-Agar gehemmt werden, keine hemmende Wirkung.<sup>7</sup>

### REAGENZIEN

#### BD GC-Lect Agar

Zusammensetzung\* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	7,5 g	Agar	12,0 g
Hochwertiges Fleischpepton	7,5	Hämoglobin	10,0
Maisstärke	1,0	Selektive Agenzien	0,017
Dikaliumphosphat	4,0	<b>BD IsoVitaleX Anreicherung</b>	10,0 mL
Monokaliumphosphat	1,0	pH 7,2 ± 0,2	
Natriumchlorid	5,0		

\*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

**BD IsoVitaleX** Anreicherung enthält die folgenden Wachstumsfaktoren (Zusammensetzung\* pro 1 L destilliertem Wasser):

Vitamin B <sub>12</sub>	0,01 g	Thiaminpyrophosphat	0,1 g
L-Glutamin	10,0	Eisen (III)-nitrat	0,02
Adenin	1,0	Thiaminhydrochlorid	0,003
Guaninhydrochlorid	0,03	Cysteinhydrochlorid	25,9
p-Aminobenzoesäure	0,013	L-Cystin	1,1
Nikotinamidadenindinukleotid (NAD)	0,25	Glucose	100,0

\*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

## VORSICHTSMASSNAHMEN

**IVD** . Nur für den professionellen Gebrauch. ⓧ

Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Hinweise zur aseptischen Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

## AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

## QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNGEN**). Platten 24 – 48 h bei 35 – 37 °C in einer mit Kohlendioxid angereicherten aeroben Atmosphäre inkubieren.

Stämme	Wachstum
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069	Wachstum
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 51109	Wachstum
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Wachstum
<i>Neisseria sicca</i> ATCC 9913	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Capnocytophaga ochracea</i> DSM 7272	Vollständig gehemmtes Wachstum

## VERFAHREN

### Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

**BD GC-Lect Agar** (90 mm **Stacker**-Platten). Mikrobiologisch kontrolliert.

### Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

### Probenarten

Dies ist ein selektives Medium für pathogene *Neisseria*-Spezies, besonders zur Isolierung von *Neisseria gonorrhoeae*, und kann für alle Probenarten verwendet werden. Viele Proben bestehen aus Abstrichen aus dem Urogenitalbereich, des Rektums und des Oropharynx (siehe

auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).<sup>8-10</sup> Dieses Medium kann auch für den Nachweis von *Neisseria meningitidis* in Proben mit normaler Flora verwendet werden, z.B. Nasalabstriche von Trägern in der epidemiologischen Untersuchung eines Ausbruchs von bakterieller Meningitis. Es darf nicht als einziges Erstisolierungs-Medium für *N. meningitidis* aus Zerebrospinalflüssigkeit verwendet werden, kann jedoch als zusätzliches Isolierungsmedium angewandt werden.

### **Probenentnahme und Transport**

*Neisseria gonorrhoeae* and *N. meningitidis* sind sehr anfällig für ungünstige Umgebungsbedingungen. Deshalb müssen für alle Proben mit Verdacht auf pathogene *Neisseria* angemessene Transportmedien verwendet werden. Die Proben müssen so schnell wie möglich ins Labor geschickt werden und dürfen nicht älter als 24 h sein, selbst wenn Transportmedien verwendet werden. Die optimale Transporttemperatur beträgt 20 – 25 °C. Nicht kühlen!<sup>8-10</sup>

### **Testverfahren**

Die Proben möglichst bald nach Eingang im Labor auf **BD GC-Lect Agar** ausstreichen. Diese Platte wird hauptsächlich zur Isolierung von Reinkulturen aus Proben mit einer gemischten Flora verwendet. Falls das Material direkt von einem Tupfer kultiviert wird, Tupfer über einen kleinen Bereich am Rand der Oberfläche rollen; anschließend aus diesem inokulierten Bereich ausstreichen. Eine nicht selektive Schokoladenagarplatte (z.B. **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**) kann ebenfalls mit allen mutmaßlich *N. gonorrhoeae* enthaltenden Proben inokuliert werden, um Hinweise zu anderen an der Infektion beteiligten Erregern zu erhalten, und muss zum Nachweis von *N. meningitidis* aus Zerebrospinalflüssigkeit miteinbezogen werden. Zusätzlich muss das übliche Medium für aerobe Kultivierung einbezogen werden, um andere Pathogene nachzuweisen, falls dies für notwendig erachtet wird.

Das inokulierte Medium 42 – 48 h oder länger, wenn nötig, bei  $35 \pm 2$  °C in einer mit 5 – 10 % Kohlendioxid angereicherten Umgebung aerob inkubieren. Platten nach 18 – 24 h sowie nach 42 – 48 h ablesen. Es ist zu beachten, dass *Neisseria gonorrhoeae* gelegentlich bis zu 72 h benötigt, bis gut sichtbare Kolonien erscheinen.

### **Ergebnisse**

**BD GC-Lect Agar** und **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** weisen typischerweise die folgende Koloniemorphologie auf:

*Neisseria gonorrhoeae*: Klein, gräulich-weiß bis farblos, möglicherweise mukoid.

*Neisseria meningitidis*: Mittelgroß bis groß, blaugrau, möglicherweise mukoid.

Eine präsumtive Identifizierung der typische Kolonien kann mit einer Gramfärbung und einem Oxidasetest durchgeführt werden.<sup>9,10</sup> Zur vollständigen Identifizierung der Isolate müssen weitere biochemische oder immunologische Tests gemacht werden.

## **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**

**BD GC-Lect Agar** wird zur Isolierung von *Neisseria gonorrhoeae* verwendet. Das Medium kann ebenfalls für die Isolierung von *N. meningitidis* aus Proben mit normaler Flora verwendet werden, z.B. Nasalabstrichen von Trägern in der epidemiologischen Untersuchung eines Ausbruchs von bakterieller Meningitis.

### **Spezifische Leistungsmerkmale**

In einer Leistungsbewertung mit 500 Proben zeigte sich innerhalb 24 h sichtbares Wachstum von *N. gonorrhoeae* in 72 der positiven Kulturen auf **BD GC-Lect Agar**, verglichen mit nur 52 auf dem Referenzmedium MTM-Agar.<sup>7</sup> Mit GC-Lect-Agar wurden insgesamt 50 positive Kulturen erhalten, verglichen mit 49 auf MTM. Mit nur 19 Kulturen, welche Wachstum von normaler Flora produzierten, war die Selektivität von **BD GC-Lect Agar** überlegen, verglichen mit 78 Kulturen auf MTM nach einer Inkubationszeit von 24 h. Die Selektivität auf **BD GC-Lect Agar** was besonders in Bezug auf Hefen (2 gegenüber 30 Kulturen) und grampositive Kokken (5 gegenüber 31 Kulturen) besser.

## Verfahrensbeschränkungen

Ein einzelnes Medium reicht selten zum Nachweis aller potenziell signifikanten Organismen in einer Probe aus. Auf selektiven Medien kultivierte Proben sollten deshalb ebenfalls auf nicht selektiven Medien kultiviert werden, um zusätzliche Information zu erhalten und die Identifizierung von potentiellen Erregern zu unterstützen. **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** ist ein angereichertes Medium, auf welchem pathogene Bakterien von unerwünschten oder nicht pathogenen Bakterien überwuchert werden können.

*Neisseria lactamica*, eine der saprophytischen Spezies, wird auf GC-Lect-Agar nicht gehemmt.

## LITERATUR

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.
7. 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.
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. Tenover (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. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

## VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

### BD GC-Lect Agar

Best.-Nr. 254554                      Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten  
Best.-Nr. 254555                      Gebrauchsfertige Plattenmedien, 120 Platten

## WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



### 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 the property of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD