

BD GC-Lect Agar

APPLICATION

La **BD GC-Lect Agar** (gélose GC-Lect) est un milieu sélectif permettant une croissance et une mise en évidence améliorées de *Neisseria gonorrhoeae*, ainsi qu'une meilleure inhibition des bactéries et champignons contaminants, et notamment des *Capnocytophaga* spp. contenues dans les échantillons bucco-pharyngiens.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Plusieurs milieux ont été développés successivement afin d'isoler les *Neisseria* pathogènes à partir d'échantillons contenant une flore mixte [Thayer-Martin Selective Agar, Modified Thayer-Martin (MTM) Agar, Martin-Lewis Agar].¹⁻³ Chacun d'entre eux permet un taux d'inhibition supérieur aux précédents envers les microorganismes contaminants mais, parallèlement, chacun inhibe à des degrés divers, certaines souches qu'il est censé mettre en évidence.^{4,5}

BD Diagnostic Systems a développé la GC II Agar Base pour servir de base améliorée à la Chocolate Agar employée dans ces milieux sélectifs. Lorsqu'il estensemencé avec des échantillons bucco-pharyngiens, ce milieu sélectif active la croissance des *Neisseria* pathogènes et stimule celle des souches de *Capnocytophaga*.

BD Diagnostic Systems a développé et breveté la GC-Lect Agar afin de renforcer l'inhibition des *Capnocytophaga* spp. et d'autres souches résistantes aux inhibiteurs de la MTM Agar, comme les contaminants résistants à la vancomycine, et notamment certaines souches de *Staphylococcus epidermidis*.^{6,7} Ce milieu contient une concentration décroissante de vancomycine, pour une mise en évidence améliorée des souches de *N. gonorrhoeae* sensibles à cet antibiotique. Comme avec le milieu MTM, la GC-Lect Agar n'inhibe pas *N. lactamica*.

La **BD GC-Lect Agar** contient une base GC II Agar qui procure les substances nutritives azotées nécessaires sous forme de peptones de caséine et de viande, un tampon phosphate assurant la stabilité du pH, et de la fécule de maïs, pour neutraliser les acides gras toxiques susceptibles d'être présents dans la gélose. L'hémoglobine bovine fournit le facteur X (hémine). Le supplément défini **BD IsoVitaleX Enrichment** apporte les vitamines, les aminoacides, les coenzymes, le glucose, les ions ferriques et d'autres facteurs favorisant la croissance des *Neisseria* pathogènes. Pour améliorer la sélectivité, BD Diagnostic Systems a développé une combinaison de cinq agents antimicrobiens destinés à inhiber les bactéries et les champignons à Gram positif et à Gram négatif. Ces agents n'inhibent pas les gonocoques sensibles à la vancomycine, lesquels sont inhibés, en revanche, par la MTM Agar standard.⁷

REACTIFS

BD GC-Lect Agar

Formule* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	7,5 g
Bouillon peptoné sélectionné	7,5
Fécule de maïs	1,0
Phosphate bipotassique	4,0
Phosphate monopotassique	1,0
Chlorure de sodium	5,0
Gélose	12,0
Hémoglobine	10,0
Agents sélectifs	0,017
BD IsoVitaleX Enrichment	10,0 mL
pH 7,2 ± 0,2	

*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performances imposés.

Le supplément **BD IsoVitaleX Enrichment** contient les facteurs de croissance suivants (formule* par litre d'eau purifiée) :

Vitamine B ₁₂	0,01 g	Pyrophosphate de thiamine	0,1 g
L-Glutamine	10,0	Nitrate ferrique	0,02
Adénine	1,0	Chlorhydrate de thiamine	0,003
Hydrochlorure de guanine	0,03	Hydrochlorure de cystéine	25,9
Acide <i>p</i> -aminobenzoïque	0,013	L-Cystine	1,1
Nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD)	0,25	Glucose	100,0

*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement. 

Ne pas utiliser de boîte de Pétri présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.

Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations concernant les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas congeler ni surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à leur date de péremption (voir étiquette sur l'emballage) et incubées pendant le délai d'incubation recommandé.

Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus de détails, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Incuber entre 35 et 37 °C pendant 24 à 48 h, dans une atmosphère aérobie enrichie en dioxyde de carbone.

Souches	Croissance
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069	Croissance
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 51109	Croissance
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Croissance
<i>Neisseria sicca</i> ATCC 9913	Inhibition partielle à complète
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibition complète
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Inhibition partielle à complète
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Inhibition complète
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Inhibition partielle à complète
<i>Capnocytophaga ochracea</i> DSM 7272	Inhibition complète

METHODE

Matériaux fournis

BD GC-Lect Agar (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons

Ce milieu sélectif, qui sert à isoler les *Neisseria* spp. pathogènes, en particulier *Neisseria gonorrhoeae*, peut être utilisé pour tous les types d'échantillons. Les plus courants d'entre eux sont des écouvillons de prélèvements issus de l'appareil génito-urinaire, du rectum et de

l'oropharynx (voir également la rubrique **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**).⁸⁻¹⁰ Ce milieu peut également être utilisé pour la détection de *Neisseria meningitidis* dans les échantillons contenant des flores normales. Par exemple, dans le cadre d'une enquête épidémiologique sur des cas de méningite bactérienne, il permet d'analyser les écouvillonnages réalisés sur les voies nasales des porteurs. Il ne doit pas être utilisé comme unique milieu d'isolement primaire lors de la recherche de *N. meningitidis* dans le liquide céphalorachidien, mais peut constituer un milieu d'isolement complémentaire.

Prélèvement et transport des échantillons

Neisseria gonorrhoeae et *N. meningitidis* sont très sensibles aux conditions environnementales défavorables. Par conséquent, tous les échantillons susceptibles de contenir des *Neisseria* pathogènes doivent être transportés dans des milieux adéquats. Les échantillons doivent être envoyés au laboratoire dès que possible et doivent dater de 24 h au maximum, même lorsque des milieux de transport sont utilisés. La température de transport optimale se situe entre 20 et 25 °C. Ne pas réfrigérer !⁸⁻¹⁰

Mode opératoire du test

Strier l'échantillon sur une **BD GC-Lect Agar** sans attendre, dès son arrivée au laboratoire. La boîte d'étalement sert principalement à isoler des cultures pures à partir d'échantillons contenant des flores mixtes. Ou bien, si le prélèvement est mis en culture directement à partir d'un écouvillon, rouler celui-ci sur une petite partie de la gélose au niveau du bord de la boîte, puis strier la gélose à partir de cette zoneensemencée. Une gélose au chocolat non sélective cultivée en boîte de Pétri, p. ex. une **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**, peut également êtreensemencée avec tous les échantillons susceptibles de contenir des *N. gonorrhoeae*, afin de déceler la présence éventuelle d'autres agents pathogènes contribuant à l'infection. Il convient d'inclure cette gélose au chocolat si une détection de *N. meningitidis* dans le liquide céphalorachidien doit être effectuée. Par ailleurs, s'il est nécessaire de rechercher d'autres agents pathogènes, il convient d'ajouter à la procédure un milieu généralement utilisé pour les cultures aérobies.

Incuber les milieuxensemencés en environnement aérobie enrichi avec 5 à 10 % de dioxyde de carbone, à 35 ± 2 °C pendant 42 à 48 h, ou davantage si nécessaire. Examiner les boîtes de Pétri après 18 à 24 h, puis de nouveau après 42 à 48 h. Noter qu'il faut parfois jusqu'à 72 h pour que des colonies nettement visibles de *Neisseria gonorrhoeae* apparaissent.

Résultats

Généralement, les colonies isolées sur la **BD GC-Lect Agar** et sur la **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** présentent la morphologie suivante :

Neisseria gonorrhoeae : Taille petite, blanc-grisâtre à incolore, parfois mucoïdes.

Neisseria meningitidis : Taille moyenne à grande, de couleur bleu-gris, parfois mucoïdes.

Pour effectuer une identification présomptive des colonies types, il est possible de réaliser une coloration de Gram et un test d'oxydase.^{9,10} Pour une identification complète des isolats, des tests biochimiques ou immunologiques sont nécessaires.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD GC-Lect Agar** est utilisée pour l'isolement des *Neisseria gonorrhoeae*. Ce milieu peut également être utilisé pour isoler *N. meningitidis* dans les échantillons contenant des flores normales. Par exemple, dans le cadre d'une enquête épidémiologique sur des cas de méningite bactérienne, il permet d'analyser les écouvillonnages réalisés sur les voies nasales des porteurs.

Caractéristiques de performances spécifiques

Lors d'une évaluation des performances portant sur 500 échantillons, 72 des cultures positives sur **BD GC-Lect Agar** ont donné lieu à des croissances visibles de *N. gonorrhoeae* dans un délai de 24 h, comparé à seulement 52 sur le milieu de référence, la MTM Agar.⁷ Au total, 50 cultures positives ont été obtenues sur la GC-Lect Agar, comparé à 49 sur la MTM Agar. La **BD GC-Lect Agar** s'est avérée être d'une sélectivité supérieure, 19 cultures seulement y ayant produit des croissances de flore normale, contre 78 sur la gélose MTM

après 24 h d'incubation. La sélectivité était particulièrement améliorée sur la **BD GC-Lect Agar** en ce qui concerne les levures (2 cultures contre 30) et les cocci à Gram positif (5 cultures contre 31).

Limites de la procédure

Un milieu unique est habituellement insuffisant pour détecter l'ensemble des microorganismes d'importance clinique éventuellement présents dans un échantillon. Les échantillons cultivés sur des milieux sélectifs doivent, par conséquent, être également cultivés sur des milieux non sélectifs pour recueillir des informations complémentaires et faciliter la mise en évidence de pathogènes éventuels. La **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** est un milieu enrichi sur lequel les bactéries pathogènes peuvent être supplantées par des bactéries indésirables ou non pathogènes.

La GC-Lect Agar n'inhibe pas la *Neisseria lactamica*, qui est l'une des espèces saprophytes.

REFERENCES

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.

CONDITIONNEMENT

BD GC-Lect Agar

N° réf. 254554

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités par carton

N° réf. 254555

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 120 unités par carton

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de 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 the property of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD