

BD GC-Lect Agar

PRZEZNACZENIE

Produkt **BD GC-Lect Agar (Agar BD GC-Lect)** jest selektywnym podłożem zapewniającym lepszy wzrost i odtwarzanie bakterii *Neisseria gonorrhoeae* oraz skuteczniejsze hamowanie wzrostu zanieczyszczających bakterii i grzybów w próbkach z jamy ustno-gardłowej, w tym również gatunków z rodzaju *Capnocytophaga*.

ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.

Opracowana została seria podłoży do izolowania patogennych bakterii z rodzaju *Neisseria* z próbek zawierających florę mieszaną (Thayer-Martin Selective Agar, Modified Thayer-Martin [MTM] Agar, Martin-Lewis Agar).¹⁻³ Każde z nich zapewnia skuteczniejsze hamowanie wzrostu drobnoustrojów zanieczyszczających niż poprzednie podłoże, lecz każde (w różnym stopniu) działa hamująco na pewne szczepy, których wzrost miało podtrzymywać.^{4,5}

Firma BD Diagnostic Systems opracowała pożywkę GC II Agar Base jako ulepszony składnik podstawowy podłoża Chocolate Agar, które wykorzystano we wspomnianych pożywkach selektywnych. Osiągnięcie lepszego podtrzymywania wzrostu patogennych bakterii *Neisseria* umożliwiło również wzrost na podłożu selektywnym szczepów z rodzaju *Capnocytophaga* w przypadku posiewu próbek pobranych z jamy ustno-gardłowej.

Podłoże GC-Lect Agar zostało opracowane i opatentowane przez firmę BD Diagnostic Systems z myślą o dodatkowym hamowaniu wzrostu gatunków z rodzaju *Capnocytophaga* i innych szczepów opornych na działanie czynników hamujących, zawartych w podłożu MTM Agar; należą do nich drobnoustroje zanieczyszczające oporne na wankomycynę, w tym niektóre szczepy *Staphylococcus epidermidis*.^{6,7} Omawiane podłoże zawiera wankomycynę w mniejszym stężeniu dla lepszego podtrzymywania wzrostu szczepów *N. gonorrhoeae* wrażliwych na ten antybiotyk.

Podobnie jak pożywka MTM, podłoże GC-Lect Agar nie hamuje wzrostu bakterii *N. lactamica*.

Podłoże **BD GC-Lect Agar** zawiera jako składnik podstawowy pożywkę GC II Agar, która dostarcza azotowych składników odżywczych w postaci peptonów kazeinowych i mięsnych, buforu fosforanowego do utrzymywania stałego pH oraz skrobi kukurydzianej, neutralizującej toksyczne kwasy tłuszczowe, które mogą znajdować się w agarze. Hemoglobina wołowa dostarcza czynnika X (heminy). Produkt **BD IsoVitaleX Enrichment** jest dodatkiem uzupełniającym o zdefiniowanym składzie, dostarczającym witamin, aminokwasów, koenzymów, glukozy, jonów żelaza i innych czynników poprawiających wzrost patogennych bakterii z rodzaju *Neisseria*. W celu poprawy selektywności firma BD Diagnostic Systems opracowała kombinację pięciu środków zwalczających drobnoustroje, która hamuje wzrost bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych oraz grzybów. Środki te nie hamują wzrostu wrażliwych na wankomycynę gonokoków, które ulegają hamowaniu na standardowym podłożu MTM Agar.⁷

ODCZYNNIKI

BD GC-Lect Agar

Skład* w przeliczeniu na litr wody oczyszczonej

Trzustkowy hydrolizat kazeiny	7,5 g
Wybrany pepton mięsny	7,5
Skrobia kukurydziana	1,0
Wodorofosforan potasu	4,0
Fosforan jednopotasowy	1,0
Chlorek sodu	5,0
Agar	12,0
Hemoglobina	10,0
Środki selektywne	0,017
BD IsoVitaleX Enrichment	10,0 mL
pH 7,2 +/- 0,2	

*Skorygowany lub uzupełniony zgodnie z wymaganiami kryteriów działania.

Dodatek wzbogacający **BD IsoVitalex Enrichment** zawiera następujące czynniki wzrostu (skład* w przeliczeniu na jeden litr wody oczyszczonej):

Witamina B ₁₂	0,01 g	Pirofosforan tiaminy	0,1 g
L-glutamina	10,0	Azotan (V) żelaza (III)	0,02
Adenina	1,0	Chlorowodorek tiaminy	0,003
Chlorowodorek guaniny	0,03	Chlorowodorek cysteiny	25,9
Kwas p-aminobenzoowy	0,013	L-cystyna	1,1
Dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD)	0,25	Glukoza	100,0

*Skorygowany lub uzupełniony zgodnie z wymaganiami kryteriów działania.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych. 

Nie należy używać płytek, jeżeli są na nich widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości.

Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz usuwanie zużytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**.

PRZECHOWYWANIE I DOPUSZCZALNY OKRES PRZECHOWYWANIA

Po otrzymaniu, płytki należy przechowywać w ciemnym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C, w ich oryginalnym opakowaniu izolującym do chwili użycia. Unikać zamrażania i przegrzewania. Posiewu na płytki można dokonywać aż do daty ważności (patrz etykieta na opakowaniu) i inkubować w zalecanych czasach inkubacji.

Płytek z otwartych stosów zawierających po 10 płytek można używać przez okres jednego tygodnia, przechowując w czystym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Reprezentatywne próbki podłoża zaszczenia się hodowlami wymienionych niżej szczepów (szczegółowe informacje — patrz dokument **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**). Inkubować w temperaturze od 35 do 37°C przez okres 24–48 h w atmosferze tlenowej wzbogaconej dwutlenkiem węgla.

Szczepy	Wzrost
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069	Wzrost
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 51109	Wzrost
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Wzrost
<i>Neisseria sicca</i> ATCC 9913	Wzrost zahamowany częściowo lub całkowicie
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Całkowite zahamowanie wzrostu
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Wzrost zahamowany częściowo lub całkowicie
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Całkowite zahamowanie wzrostu
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Wzrost zahamowany częściowo lub całkowicie
<i>Capnocytophaga ochracea</i> DSM 7272	Całkowite zahamowanie wzrostu

PROCEDURA

Dostarczane materiały

BD GC-Lect Agar (płytki **Stacker** o średnicy 90 mm). Sprawdzane pod względem obecności drobnoustrojów.

Materiały niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Typy próbek

Omawiane podłoże jest selektywne względem patogennych gatunków bakterii z rodzaju *Neisseria*, szczególnie podczas izolowania *Neisseria gonorrhoeae*, i można je stosować do wszystkich typów próbek. Często badanymi próbkami są wymazy z dróg moczowo-płciowych, odbytu i jamy ustno-gardłowej (patrz także **CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY**).⁸⁻¹⁰ Podłoże można także używać do wykrywania *Neisseria meningitidis* w próbkach zawierających normalną florę, np. w wymazach z jamy nosowej u nosicieli podczas badań epidemiologicznych w sytuacji nagłego wzrostu zachorowań na bakteryjne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Nie wolno go używać jako jedynego podłoża do pierwszej izolacji *N. meningitidis* z płynu mózgowo-rdzeniowego, ale można je stosować jako dodatkowe podłoże izolacyjne.

Pobieranie i transport próbek

Bakterie *Neisseria gonorrhoeae* i *N. meningitidis* są bardzo wrażliwe na niekorzystne warunki środowiskowe. W związku z tym do transportu wszystkich próbek, w których podejrzewa się obecność patogennych bakterii z rodzaju *Neisseria*, należy stosować odpowiednie podłoża transportowe. Próbkę należy jak najszybciej przesłać do laboratorium, najpóźniej w ciągu 24 godzin, nawet w przypadku stosowania podłoża transportowego. Optymalna temperatura transportu wynosi 20–25°C. Nie należy zamrażać próbek!⁸⁻¹⁰

Procedura testowa

Wykonać posiew próbki na podłożu **BD GC-Lect Agar** możliwie jak najszybciej po dostarczeniu materiału do laboratorium. Płytkę do posiewu służy przede wszystkim do izolowania czystych hodowli z próbek zawierających florę mieszaną. Innym sposobem, jeżeli materiał jest hodowany bezpośrednio z wymazu, jest przetoczenie wymazówki po niewielkiej powierzchni krawędzi płytki, a następnie posiew pasmowy z zaszczepionego obszaru. Można także zaszczepić płytkę z nieselektywnym agarem czekoladowym (np. podłożem **BD Chocolate Agar [GC Agar with IsoVitaleX]**) wszystkimi próbkami, w których podejrzewa się obecność *N. gonorrhoeae*; ma to na celu wskazanie obecności innych patogenów wywołujących daną infekcję. Włączenie takiej hodowli do badań jest również konieczne dla wykrycia *N. meningitidis* w płynie mózgowo-rdzeniowym. Ponadto do badania należy włączyć typowe podłoża do hodowli drobnoustrojów tlenowych, jeżeli uważa się za konieczne wykrycie innych patogenów.

Zaszczepione podłoża inkubować w środowisku tlenowym wzbogaconym 5–10% dwutlenkiem węgla, w temperaturze 35 ± 2°C, przez okres od 42 do 48 h lub dłuższy, o ile jest to konieczne. Przeprowadzić odczyt płytek po upływie 18–24 h i po upływie 42–48 h. Należy pamiętać, że okres potrzebny do pojawienia się dobrze widocznych kolonii *Neisseria gonorrhoeae* może niekiedy trwać do 72 h.

Wyniki

Typowe cechy morfologiczne kolonii rosnących na podłożach **BD GC-Lect Agar** i **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** przedstawiają się następująco:

Neisseria gonorrhoeae: Małe, od szarawobiałych do bezbarwnych, mogą być śluzowe.

Neisseria meningitidis: Średnie lub duże, niebieskoszare, mogą być śluzowe.

Orientacyjnej identyfikacji typowych kolonii można dokonać na podstawie przeprowadzonego barwienia metodą Grama oraz testu oksydazowego.^{9,10} Pełna identyfikacja izolatów wymaga zastosowania dalszych testów biochemicznych lub immunologicznych.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY

Podłoże **BD GC-Lect Agar** służy do izolowania bakterii *Neisseria gonorrhoeae*. Podłoża można także używać do izolowania *N. meningitidis* z próbek zawierających normalną florę, np. w wymazach z jamy nosowej u nosicieli podczas badań epidemiologicznych w sytuacji nagłego wzrostu zachorowań na bakteryjne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych.

Szczegółowa charakterystyka wydajnościowa

Podczas oceny skuteczności z użyciem 500 próbek widoczny wzrost *N. gonorrhoeae* wystąpił w ciągu 24 h w 72 hodowlach z dodatnim wynikiem posiewu na podłożu

BD GC-Lect Agar, w porównaniu z zaledwie 52 hodowlami na podłożu referencyjnym

MTM Agar.⁷ Ogółem uzyskano 50 hodowli z wynikiem dodatnim na podłożu GC-Lect Agar, w porównaniu z 49 uzyskanymi na podłożu MTM. Podłoże **BD GC-Lect Agar** wykazało lepszą wybiórczość, gdyż po 24 h inkubacji jedynie w 19 hodowlach nastąpił wzrost normalnej flory, w porównaniu z 78 hodowlami na podłożu MTM. Szczególną poprawę selektywności pożywki **BD GC-Lect Agar** wykazano w stosunku do drożdży (2 hodowle w porównaniu z 30) i ziarniaków Gram-dodatnich (5 hodowli w porównaniu z 31).

Ograniczenia procedury

Rzadko do wykrycia wszystkich potencjalnie istotnych drobnoustrojów w próbce wystarcza zastosowanie tylko jednej pożywki. Zatem obok hodowli posiewów z danej próbki na podłożach selektywnych należy również wykonać posiew na podłożach nieselektywnych, co pozwala uzyskać dodatkowe informacje i zapewnia wzrost wszystkich potencjalnych patogenów.

Pożywka **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaléX)** jest podłożem wzbogaconym, na którym wzrost bakterii patogennych może ulec zahamowaniu przez nadmierny rozrost bakterii niepożądanych lub niepatogennych.

Podłoże GC-Lect Agar nie hamuje wzrostu bakterii *N. lactamica*, które należą do gatunków saprofitycznych.

PIŚMIENNICTWO

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.

PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ

BD GC-Lect Agar

Nr kat. 254554

Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, po 20 sztuk

Nr kat. 254555

Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, po 120 sztuk

DODATKOWE INFORMACJE

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy 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