

BD Martin Lewis Agar, Modified

UTILIZARE SPECIFICĂ

BD Martin-Lewis Agar, Modified (Agar Martin Lewis, modificat) este un mediu îmbogățit pentru izolarea selectivă a *Neisseria gonorrhoeae* și *N. meningitidis* din probe clinice care conțin o floră mixtă de bacterii și ciuperci.

PRINCIPIILE ȘI EXPLICAȚIILE PROCEDURII

Metodă microbiologică.

Carpenter și Morton au descris un mediu îmbunătățit pentru izolarea gonococcus în 24 h.¹ Eficiența acestui mediu, GC Agar suplimentat cu hemoglobină și concentrat de drojdie, a fost demonstrată într-un studiu efectuat pe douăsprezece medii pentru izolarea acestui organism.² Ulterior s-au efectuat mai multe îmbunătățiri ale acestui mediu.³⁻⁵

Martin-Lewis Agar este o modificare a unei formule anterioare pentru izolația selectivă a agenților patogeni *Neisseria* (*N. gonorrhoeae* și *N. meningitidis*), care are un efect inhibitor mai pronunțat asupra bacteriilor Gram pozitive și drojdiilor decât agarurile Thayer-Martin.^{6,7} În **BD Martin Lewis Agar, Modified**, amfotericina B înlocuiește anisomicina sau nistatinul, utilizat în trecut pentru inhibarea îmbunătățită a *Candida albicans*. Acest organism s-a dovedit a fi inhibitor pentru *N. gonorrhoeae*.^{8,9}

În **BD Martin-Lewis Agar, Modified** elementele nutritive sunt furnizate din baza de Chocolate II Agar care conține cazeină și peptone din carne ca surse de azot, fosfați pentru menținerea pH-ului și amidon de porumb, pentru a neutraliza acizii grași toxici care pot fi prezenți în agar. Hemoglobina furnizează factorul X (hemină). **BD IsoVitaleX Enrichment** este un supliment definit care furnizează factorul V (nicotinamidă adenină dinucleotidă, NAD) și vitamine, aminoacizi, glucoză, ioni de fier și alți factori care îmbunătățesc creșterea patogenului *Neisseria*. Acest mediu conține mai mulți agenți antimicrobieni pentru a suprima flora normală. Vancomicina este activă în primul rând împotriva bacteriilor gram pozitive. Colistina inhibă bacili gram negativi, inclusiv speciile de *Pseudomonas*, dar nu este activă împotriva speciilor *Proteus*. Trimetoprimul inhibă *Proteus*. Amfotericina B inhibă ciupercile.

REACTIVI

Formule* pentru un litru de apă purificată

BD Martin-Lewis Agar, Modified		BD IsoVitaleX Enrichment	
Extract pancreatic de cazeină	7,5 g	Vitamina B ₁₂	0,01 g
Peptonă selectată din carne	7,5	L-Glutamină	10,0
Amidon din porumb	1,0	Adenină	1,0
Difosfat de potasiu	4,0	Hidroclorură de guanină	0,03
Fosfat de monopotasiu	1,0	Acid p-aminobenzoic	0,013
Clorură de sodiu	5,0	Nicotinamidă adenină dinucleotidă	0,25
Agar	14,0	Tiamin pirofosfat	0,1
Hemoglobină	10,0	Azotat de fier	0,02
Mediu de îmbogățire IsoVitaleX	10,0 mL	Hidroclorură de tiamin	0,003
Trimetoprim lactat	0,005 g	Hidroclorură de cisteină	25,9
Amfotericină B	0,005	L-cistină	1,1
Colistină	0,0075	Glucoză	100,0
Vancomicină	0,004		
pH 7,2 ± 0,2			

*Ajustată și/sau suplimentată după cum este necesar pentru a îndeplini criteriile de performanță.

PRECAUȚII

IVD . Numai pentru uz profesional. 

Nu utilizați plăcile dacă prezintă semne de contaminare microbiană, decolorare, deshidratare, fisuri sau alte semne de deteriorare.

Consultați documentul **INSTRUCȚIUNI GENERALE DE UTILIZARE** pentru detalii referitoare la procedurile de manipulare aseptică, riscurile biologice și înlăturarea produselor utilizate.

DEPOZITAREA ȘI DURATA DE DEPOZITARE

La recepție, depozitați plăcile la întuneric la 2 până la 8°C, în ambalajul original până în momentul utilizării. Evitați congelarea sau supraîncălzirea. Plăcile pot fi inoculate până la expirarea termenului de valabilitate (consultați eticheta ambalajului) și pot fi incubate pentru perioadele recomandate de incubare.

Plăcile dintr-un teanc de 10 plăci desfăcut pot fi utilizate timp de o săptămână dacă sunt depozitate într-o zonă curată între 2 și 8°C.

CONTROLUL CALITĂȚII EFECTUAT DE UTILIZATOR

Inoculați probele reprezentative cu următoarele tulpini (pentru informații suplimentare, consultați documentul **INSTRUCȚIUNI GENERALE DE UTILIZARE**). Incubați plăcile într-o atmosferă aerobică îmbogățită cu CO₂ pentru 42 până la 48 ore la 35 ± 2°C. Citiți plăcile după 18 până la 24 și după 42 la 48 h de incubare.

Tulpini	Rezultate de creștere
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069	Creștere moderată spre excelentă
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Creștere bună spre excelentă
<i>Neisseria sicca</i> ATCC 9913	Inhibiție parțială spre completă
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Inhibiție parțială spre completă
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibiție parțială spre completă
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Inhibiție parțială spre completă, fără acumulare
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Inhibiție parțială spre completă
Neinoculat	Maro ciocolatiu, opac

PROCEDURĂ

Materiale furnizate

BD Martin-Lewis Agar, Modified (plăci **Stacker** de 90 mm). Controlate microbiologic.

Materiale nefurnizate

Medii de cultură auxiliare, reactivi și echipamentul de laborator necesar.

Tipuri de probe

Acesta este un mediu selectiv pentru speciile patogene de *Neisseria*, în special pentru izolarea *Neisseria gonorrhoeae* și poate fi utilizat pentru toate tipurile de probe. Probele frecvente includ frotiuri de pe tractul uro-genital, rect și orofaringe (consultați de asemenea **CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE PROCEDURII**).^{6,10} Acest mediu poate fi utilizat pentru detectarea *Neisseria meningitidis* din probe care conțin floră normală, de ex. de pe frotiuri nazale de la purtători în analiza epidemiologică a unei ecluziuni de meningită bacteriană. Nu trebuie utilizat ca singurul mediu primar de izolare pentru *N. meningitidis* din lichidul cefalorahidian, dar poate fi utilizat ca mediu suplimentar de izolare.

Colectarea și transportul probelor

Neisseria gonorrhoeae și *N. meningitidis* sunt sensibile la condiții adverse de mediu. De aceea, pentru toate probele suspectate a conține agentul patogen *Neisseria* trebuie utilizate medii adecvate de transport. Probele trebuie trimise la laborator cât mai repede cu putință și trebuie să nu aibă o vechime mai mare de 24 de ore, chiar dacă se utilizează medii de transport. Temperatura optimă de transport este între 20 și 25° C. A nu se refrigera!^{6, 10}

Procedura de testare

Însămânțați proba cât mai repede posibil după ce este primită în laborator. Placa însămânțată este utilizată inițial pentru a izola culturi pure din probe ce conțin floră mixtă. Alternativ, dacă materialul este cultivat direct dintr-un frotiu de cultură, rotiți frotiul pe o zonă mică la marginea suprafeței; apoi însămânțați din această zonă inoculată. O placă neselectivă cu agar ciocolată (de ex. **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**) trebuie inoculată de asemenea pentru a oferi o indicație a *Neisseria gonorrhoeae* sensibilă la ingredientele selective ale **BD Martin-Lewis Agar, Modified**^{11,12} și pentru detectarea *N. meningitidis* din lichidul cefalorahidian. În plus, trebuie inclus mediul obișnuit de cultură aerobă, dacă se consideră necesară detectarea altor agenți patogeni.

Incubați mediile inoculate într-un mediu aerob îmbogățit cu 5 până la 10% dioxid de carbon și incubați la 35 ± 2°C timp de 42 la 48 de ore sau mai mult, dacă este necesar. Citiți plăcile după 18 la 24 și 42 la 48 ore.

Rezultate

Morfologia tipică a coloniilor pe mediul **BD Martin-Lewis Agar, Modified** este următoarea:

Neisseria gonorrhoeae: colonii de mici dimensiuni de culoare gri spre transparent.

Neisseria meningitidis: colonii medii spre mari, gri albăstrui, mucoide.

O identificare prezumptivă poate fi realizată efectuând un test pentru colorația gram și un test de oxidază.⁶

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE PROCEDURII

Acest mediu este utilizat pentru izolarea selectivă a speciilor patogene *Neisseria* din toate probele care conțin floră contaminată și pentru diferențierea *Neisseria gonorrhoeae* și *N. meningitidis* de alte specii de *Neisseria* care sunt inhibitate de regulă pe acest mediu.

A fost raportată existența tulpinilor de *N. gonorrhoeae* inhibitate de vancomicină și trimetoprim lactat.^{11,12} De aceea trebuie inoculată de asemenea o placă non selectivă cu agar ciocolată (de ex. **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**). Dacă este cunoscută o incidență sporită a tulpinilor sensibile la vancomicină la o anumită populație de pacienți, **BD GC-Lect Agar** poate fi utilizat în loc de **BD Martin-Lewis Agar, Modified**.¹³

Nu utilizați acest mediu ca singurul mediu de izolare pentru *N. meningitidis* din probe din zone ale corpului în general sterile, cum ar fi lichidul cefalorahidian. Includeți întotdeauna o placă non selectivă cu agar ciocolată (vezi mai sus).

Neisseria lactamica poate crește pe acest mediu și poate semăna cu *N. meningitidis*.⁶

Deși anumite teste de diagnostic pot fi realizate direct pe acest mediu, pentru o identificare completă este necesară testarea biochimică și, dacă este indicat, testarea imunologică utilizând culturi pure. Consultați referințele corespunzătoare.⁶

Tulpinile speciilor *Capnocytophaga* pot crește pe acest mediu dacă este inoculat cu probe orofaringeale.¹³

REFERINȚE

1. Carpenter, C.M., and H.E. Morton. 1947. An improved medium for isolation of the *gonococcus* in 24 hours. Proc. N.Y. State Assoc. Public Health Labs. 27:58-60.
2. Carpenter, C.M., et al. 1949. Evaluation of twelve media for the isolation of the *gonococcus*. Am. J. Syphil. Gonorrh. Venereal Diseases 33:164-176.
3. Power, D.A. (ed.), and P.J. McCuen. 1988. Manual of BBL products and laboratory procedures, 6th ed. Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, Md.
4. Martin, J.E., T.E. Billings, J.F. Hackney, and J.D. Thayer. 1967. Primary isolation of *N. gonorrhoeae* with a new commercial medium. Public Health Rep. 82:361-363.
5. Vastine, D.W., et al. 1974. Comparison of media for the isolation of *Haemophilus* species from cases of seasonal conjunctivitis associated with severe endemic trachoma. Appl. Microbiol. 28:688-690.
6. 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.
7. Martin, J.E. Jr., and J.S. Lewis. 1977. Anisomycin: improved antimycotic activity in modified Thayer-Martin Medium. Public Health Lab. 35:53-62.

8. Hipp, S.S., W.D. Lawton, N.C. Chen, and H.A. Gaafar. 1974. Inhibition of *Neisseria gonorrhoeae* by a factor produced by *Candida albicans*. Appl. Microbiol. 27:192-196.
9. Hipp, S.S., W.D. Lawton, M. Savage, and H.A. Gaafar. 1975. Selective interaction of *Neisseria gonorrhoeae* and *Candida albicans* and its possible role in clinical specimens. J. Clin. Microbiol. 1:476-477.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.

AMBALAJ/DISPONIBILITATE

BD Martin-Lewis Agar, Modified

Nr. cat. 254029

Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 20 plăci

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

Pentru informații suplimentare, contactați reprezentantul local 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