

## BD Martin Lewis Agar, Modified

### AVSEDD ANVÄNDNING

**BD Martin-Lewis Agar, Modified (BD Martin-Lewis-agar, modifierad)** är ett berikat medium för den selektiva isoleringen av *Neisseria gonorrhoeae* och *N. meningitidis* från kliniska prover innehållande en blandad flora av bakterier och svampar.

### PRINCIPER FÖR OCH FÖRKLARING AV METODEN

Mikrobiologisk metod.

Carpenter och Morton beskrev ett förbättrat medium för isoleringen av gonokocker under 24 h.<sup>1</sup> Effektiviteten av detta mediet, GC-agar kompletterad med hemoglobin och jästkonsentrat, demonstrerades i en studie med tolv media som användes i isoleringen av denna organism.<sup>2</sup> Senare, utfördes flera förbättringar av mediet.<sup>3-5</sup>

Martin-Lewis-agar är en modifiering av en tidigare formulering för den selektiva isoleringen av patogena *Neisseria* (*N. gonorrhoeae* och *N. meningitidis*) vilka är mer inhiberande på grampositiva bakterier och jäst än Thayer-Martin-agar.<sup>6,7</sup> I **BD Martin Lewis-agar, modifierad**, är amfotericin B utbytt mot anisomycin eller det tidigare använda nystatinet för förbättrad inhibition av *Candida albicans*. Denna organism har visat sig inhibera *N. gonorrhoeae*.<sup>8,9</sup>

I **BD Martin-Lewis-agar, modifierad** tillhandahålls näringsmedel från chokladagarbasen, vilken innehåller kasein och köttpeptoner som kvävekällor, fosfater för att bibehålla pH och majsstärkelse för att neutralisera toxiska fettsyror som kan vara närvarande i agarn. Hemoglobin tillhandahåller Faktor X (hemin). **BD IsoVitaleX Enrichment (BD IsoVitaleX-berikning)** är ett definierat tillägg vilket tillhandahåller Faktor V (nikotinamid-adenindinukleotid, NAD) och vitaminer, aminosyror, koenzym, glukos, järnjoner och andra faktorer vilka förbättrar växten av patogena *Neisseria*.

Detta medium innehåller flera antimikrobiella medel för att nedtrycka normalfloran. Vankomycin är primärt aktiv mot grampositiva bakterier. Kolistin inhiberar gramnegativa stavar, inkluderande *Pseudomonas* species, men är inte aktivt mot *Proteus* species. Trimetoprim inhiberar *Proteus*. Amfotericin B inhiberar svamp.

### REAGENSER

Sammansättningar\* per liter aqua purif

| BD Martin Lewis-agar, modifierad |         | BD IsoVitaleX-berikning      |        |
|----------------------------------|---------|------------------------------|--------|
| Pankreatisk spjälkning av kasein | 7,5 g   | Vitamin B <sub>12</sub>      | 0,01 g |
| Utvald köttpepton                | 7,5     | L-glutamin                   | 10,0   |
| Majsstärkelse                    | 1,0     | Adenin                       | 1,0    |
| Dikaliumfosfat                   | 4,0     | Guaninhydroklorid            | 0,03   |
| Monokaliumfosfat                 | 1,0     | p-aminobenzoesyra            | 0,013  |
| Natriumklorid                    | 5,0     | Nikotinamidadenindinukleotid | 0,25   |
| Agar                             | 14,0    | Tiaminpyrofosfat             | 0,1    |
| Hemoglobin                       | 10,0    | Järnnitrat                   | 0,02   |
| IsoVitaleX-berikning             | 10,0 mL | Tiaminhydroklorid            | 0,003  |
| Trimetoprimlaktat                | 0,005 g | Cysteinhydroklorid           | 25,9   |
| Amfotericin B                    | 0,005   | L-cystin                     | 1,1    |
| Kolistin                         | 0,0075  | Glukos                       | 100,0  |
| Vancomycin                       | 0,004   |                              |        |
| pH 7,2 ± 0,2                     |         |                              |        |

\*Justerad och/eller kompletterad efter behov för att uppfylla prestandakriterierna.

## FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

**IVD** . Endast för professionellt bruk. 

Plattorna får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning, sprickbildning eller annan försämring.

Se skriften **ALLMÄN BRUKSANVISNING** för information om aseptiska förfaranden vid hantering, biorisker och bortskaffning av använd produkt.

## FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara plattorna mörkt vid 2 till 8 °C i originalomslaget efter mottagandet fram till dess de skall användas. Överhettning och nedfrysning skall undvikas. Plattorna kan inokuleras fram till utgångsdatum (se etiketten på förpackningen) och inkuberas under rekommenderad inkubationsperiod.

Plattor från öppnade 10-plattförpackningar kan användas i en vecka vid förvaring i ren miljö vid 2 till 8°C.

## KVALITETSKONTROLL UTFÖRD AV ANVÄNDAREN

Inokulera representativa prover med följande stammar (för ytterligare information hänvisas till skriften **ALLMÄN BRUKSANVISNING**). Inkubera plattorna i en aerob miljö anrikad med CO<sub>2</sub> under 42 till 48 h vid 35 ± 2 °C. Avläs plattorna efter 18 till 24 h respektive efter 42 till 48 h inkubation.

| Stammar                                      | Växtresultat                                       |
|----------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069      | Ansenlig till utmärkt växt                         |
| <i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090     | God till utmärkt växt                              |
| <i>Neisseria sicca</i> ATCC 9913             | Partiell till fullständig inhibition               |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 60193           | Partiell till fullständig inhibition               |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922           | Partiell till fullständig inhibition               |
| <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071          | Partiell till komplett inhibition, ingen svärmning |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 | Partiell till fullständig inhibition               |
| Ej inokulerad                                | Chokladbrun, opak                                  |

## FÖRFARANDE

### Tillhandahållt material

**BD Martin-Lewis-agar, modifierad** (90 mm **Stacker**-plattor). Mikrobiologiskt kontrollerade.

### Material som ej medföljer

Extra odlingsmedier, reagenser och laboratorieutrustning efter behov.

### Provtyper

Detta är ett selektiv medium för patogena *Neisseria* species, speciellt vid isoleringen av *Neisseria gonorrhoeae* och kan användas för alla provtyper. Vanliga prover inkluderar pinnprov från urogenitaltrakten, rektum och orofarynx (se också **KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR**).<sup>6,10</sup> Detta medium kan också användas för detektionen av *Neisseria meningitidis* från prover innehållande normalflora, t.ex. från nasala pinnprov från bärare vid den epidemiologiska undersökningen vid ett utbrott av bakteriell meningit. Det ska inte användas som det enda primära isoleringsmediet för *N. meningitidis* från cerebrospinalvätska, men kan användas som ett ytterligare isoleringsmedium.

### Provtagning och transport

*Neisseria gonorrhoeae* och *N. meningitidis* är känsliga för negativa miljöförhållanden. Följaktligen måste lämpliga transportmedia användas för alla prover som misstänks innehålla patogena *Neisseria*. Proverna måste skickas till laboratoriet så fort som möjligt och får inte vara äldre än 24 h, även om transportmedia används. Den optimala transporttemperaturen är 20 to 25 °C. Får inte kylskåpsförvaras!<sup>6, 10</sup>

## Testförfarande

Stryk provet så snart som möjligt efter att det ankommit till laboratoriet. Den strukna plattan används primärt för isolering av renkulturer från prover med blandflora. Vid odling direkt från provtagningspinne rullas istället pinnen över ett litet ytområde nära kanten varefter plattan stryks från det inokulerade området. En icke-selektiv chokladagarplatta (t.ex. **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX) (BD Chocolate-agar (GC-agar med IsoVitaleX))**) måste också inokuleras för att ge en indikation på *Neisseria gonorrhoeae* sensitiva för de selektiva beståndsdelarna i **BD Martin-Lewis-agar, modifierad**<sup>11,12</sup>, och för detektionen av *N. meningitidis* från cerebrospinalvätska. Dessutom måste de vanliga media för aerob odling inkluderas om det anses nödvändigt att detektera andra patogener. Inkubera de inokulerade media i en aerob miljö anrikad med 5 till 10 % koldioxid och inkubera vid  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  under 42 till 48 h eller längre om nödvändigt. Avläs plattorna efter 18 till 24 respektive 42 till 48 h.

## Resultat

Typisk kolonimorfologi på **BD Martin-Lewis-agar, modifierad** är som följer:

*Neisseria gonorrhoeae*: Små gråaktiga till genomskinliga kolonier.

*Neisseria meningitidis*: Medium till stora, blågrå, mukoida.

En sannolik identifikation kan göras genom att utföra en gramfärgning och en oxidastest.<sup>6</sup>

## KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR

Detta medium används för den selektiva isoleringen av patogena *Neisseria* spp. från alla prover innehållande kontaminerad flora och för differentieringen av *Neisseria gonorrhoeae* och *N. meningitidis* från andra species vilka vanligtvis inhiberas på detta mediet.

Förekomsten av *N. gonorrhoeae*-stammar inhiberade av vankomycin och trimetoprimlaktat har rapporterats.<sup>11,12</sup> Följaktligen måste också en icke-selektiv chokladagarplatta (t.ex. **BD**

**Chocolate-agar (GC-agar med IsoVitaleX)** inokuleras. En hög incidens av vankomycin-känsliga stammar är känd i en viss patientpopulation, där kan **BD GC-Lect Agar (BD GC-Lect-agar)** användas istället för **BD Martin-Lewis-agar, modifierad**.<sup>13</sup>

Använd inte detta medium som det enda isoleringsmediet för *N. meningitidis* på prover från primärt sterila kroppsställen, såsom cerebrospinalvätska. Inkludera alltid en icke-selektiv chokladagarplatta (se ovan).

*Neisseria lactamica* kan växa på detta medium och kan likna *N. meningitidis*.<sup>6</sup>

Fastän vissa diagnostiska tester kan utföras direkt på detta mediet, rekommenderas biokemisk och, om så angetts, immunologisk testning med rena kulturer för fullständig identifikation. Se lämpliga referenser.<sup>6</sup>

Stammar av *Capnocytophaga* species kan växa på detta mediet när det inokuleras med orofaryngala prover.<sup>13</sup>

## REFERENSER

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.

## FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

### BD Martin-Lewis Agar, Modified

Kat.nr 254029

Färdiga odlingsplattor, 20 plattor

## YTTERLIGARE INFORMATION

Kontakta närmaste BD-representant för ytterligare information.



### 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