

BD GC-Lect Agar

ÚČEL POUŽITÍ

Agar **BD GC-Lect Agar** je selektivní médium zajišťující zlepšený růst a výtěžnost *Neisseria gonorrhoeae* a lepší inhibici kontaminujících bakterií a hub, včetně kmenů *Capnocytophaga* ve vzorcích orofaryngeálních výtěrů.

ZÁSADY A VYSVĚTLENÍ POSTUPU

Mikrobiologická metoda.

Byla vyvinuta řada médií pro izolaci patogenních kmenů *Neisseria* ze vzorků obsahující smíšenou flóru [selektivní agar Thayer-Martin, modifikovaný agar Thayer-Martin (MTM), agar Martin-Lewis].¹⁻³ Každé z těchto médií zajišťuje větší inhibici kontaminujících mikroorganismů než předchozí složení, ale u každého zároveň v různé míře dochází k inhibici určitých kmenů, u kterých mělo dojít k růstu.^{4,5}

Společnost BD Diagnostic Systems vyvinula agarový základ GC II jako vylepšený základ pro čokoládový agar, který se používá v těchto selektivních médiích. Lepší podpora růstu, které bylo dosaženo pro patogenní kmeny *Neisseria*, rovněž umožnila růst kmenů *Capnocytophaga* na selektivním médiu při naočkování vzorky z orofaryngeálních výtěrů.

Agar GC-Lect byl vyvinut a patentován společností BD Diagnostic Systems pro zajištění lepší inhibice kmenů *Capnocytophaga* a dalších kmenů rezistentních na inhibitory v agaru MTM, jako jsou např. kontaminanty rezistentní na vankomycin, včetně některých kmenů *Staphylococcus epidermidis*.^{6,7} Toto médium obsahuje sníženou koncentraci vankomycinu zlepšení výtěžnosti kmenů *N. gonorrhoeae*, které jsou citlivé na toto antibiotikum. Stejně jako u agaru MTM, *N. lactamica* není na agaru GC-Lect inhibována.

Agar **BD GC-Lect Agar** obsahuje agarový základ GC II, který poskytuje dusíkaté živiny ve formě kaseinu a masových peptonů, fosfátový pufr pro udržení pH a kukuřičný škrob, který neutralizuje toxické mastné kyseliny, které mohou být přítomny v agaru. Hovězí hemoglobin poskytuje faktor X (hemin). Obohacení **BD IsoVitaleX Enrichment** je definovaný doplněk, který obsahuje vitamíny, aminokyseliny, koenzymy, glukózu, železité ionty a další faktory, které zlepšují růst patogenních kmenů *Neisseria*. Pro zlepšení stability vyvinula společnost BD Diagnostic Systems kombinaci pěti antimikrobiálních látek pro inhibici gram-pozitivních a gram-negativních bakterií a hub. Tyto antimikrobiální látky nezpůsobují inhibici gonokoků citlivých na vankomycin, které jsou inhibovány na standardním agaru MTM.⁷

ČINIDLA

Agar **BD GC-Lect Agar**

Složení* na jeden litr čisté vody

Pankreatická natrávenina kaseinu	7,5 g
Vybraný masový pepton	7,5
Kukuřičný škrob	1,0
Hydrogenfosforečnan draselný	4,0
Fosforečnan draselný	1,0
Chlorid sodný	5,0
Agar	12,0
Hemoglobin	10,0
Selektivní látky	0,017
Obohacení BD IsoVitaleX Enrichment	10,0 mL

pH 7,2 ± 0,2

*Upraveno anebo doplněno dle požadavků tak, aby byla splněna kritéria účinnosti.

Obohacení **BD IsoVitaleX Enrichment** obsahuje následující růstové faktory (vzorec* na litr deionizované vody):

Vitamin B ₁₂	0,01 g	Thiamin pyrofosfát	0,1 g
L-glutamin	10,0	Dusičnan železitý	0,02
Adenin	1,0	Thiamin hydrochlorid	0,003
Guanin hydrochlorid	0,03	Cystein hydrochlorid	25,9
Kyselina <i>p</i> -aminobenzoová	0,013	L-cystin	1,1
Nikotinamidadenindinukleotid (NAD)	0,25	Glukóza	100,0

*Upraveno anebo doplněno dle požadavků tak, aby byla splněna kritéria účinnosti.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

IVD . Pouze k odbornému použití. 

Pokud misky vykazují známky mikrobiální kontaminace, změny zabarvení, vysušení, popraskání nebo jiné známky poškození, nepoužívejte je.

Pokyny pro aseptickou manipulaci, informace týkající se biologického nebezpečí a pokyny pro likvidaci použitého produktu naleznete v dokumentu **VŠEOBECNÉ POKYNY K POUŽITÍ**.

SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST

Po převzetí skladujte misky až do doby těsně před použitím v originálním pouzdru, v temnu a při teplotě 2 až 8° C. Systém nesmí zmraznout nebo se přehřát. Misky lze očkovat až do data platnosti (viz štítek na obalu) a inkubovat je lze po doporučenou dobu inkubace.

Misky z otevřených sad po 10 kusech lze použít po dobu jednoho týdne, pokud jsou uloženy v čistém prostředí při teplotě 2 až 8° C.

KONTROLA KVALITY UŽIVATELEM

Inokulujte reprezentativní vzorky následujícími kmeny (podrobné informace naleznete v dokumentu **VŠEOBECNÉ POKYNY K POUŽITÍ**). Inkubujte při teplotě 35 až 37 °C po dobu 24 až 48 hodin v aerobní atmosféře obohacené oxidem uhličitým.

Kmeny	Výsledky růstu
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069	Růst
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 51109	Růst
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Růst
<i>Neisseria sicca</i> ATCC 9913	Částečná až úplná inhibice.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Úplná inhibice.
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Částečná až úplná inhibice.
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Úplná inhibice.
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Částečná až úplná inhibice.
<i>Capnocytophaga ochracea</i> DSM 7272	Úplná inhibice.

POSTUP

Dodaný materiál

Agar **BD GC-Lect Agar** (90 mm misky **Stacker**). Mikrobiologicky kontrolováno.

Materiál, který není součástí dodávky

Pomocná kultivační média, činidla a laboratorní vybavení dle potřeby.

Typy vzorků

Toto je selektivní médium pro patogenní kmeny *Neisseria*, zvláště pro izolaci *Neisseria gonorrhoeae*, a je možné jej použít pro všechny typy vzorků. Často používané vzorky zahrnují stěry z močopohlavního ústrojí, rekta a orofaryngu (viz také **SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI A OMEZENÍ POSTUPU**).⁸⁻¹⁰ Toto médium je rovněž možné použít pro detekci *Neisseria meningitidis* ze vzorků obsahujících normální flóru, např. nosních stěrů od přenašečů při epidemiologickém vyšetřování původce bakteriální meningitidy. Nesmí se používat jako jediné primární izolační médium pro *N. meningitidis* z mozkomíšního moku, ale je možné jej

použít jako doplňkové izolační médium.

Odběr a přeprava vzorků

Neisseria gonorrhoeae a *N. meningitidis* jsou velmi citlivé na nepříznivé podmínky okolního prostředí. Proto je pro všechny vzorky s podezřením na patogenní kmeny *Neisseria* nutné použít vhodná transportní média. Vzorky musí být co nejrychleji odeslány do laboratoře a nesmí být starší než 24 hodin, a to ani v případě použití přepravních médií. Optimální přepravní teplota je 20 až 25 °C. Nezmrazujte!⁸⁻¹⁰

Provedení testu

Co nejdříve po převzetí v laboratoři vzorek rozočkujte na agar **BD GC-Lect Agar**. Miska s nátěrem se používá především k izolaci čistých kultur ze vzorků obsahujících smíšenou flóru. Nebo, pokud je materiál kultivován přímo z výtěru, otřete výtěr o malou plochu na okraji a poté proveďte rozočkování z takto naočkovaného místa. Rovněž je možné naočkovat misku s neselektivním čokoládovým agarem (např. agar **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**) u všech vzorků s předpokládanou přítomností *N. gonorrhoeae* pro zajištění indikace dalších patogenů způsobujících infekci. Tento agar je nutné použít pro detekci *N. meningitidis* z mozkomíšního moku. Dále je nutné použít obvyklá média pro aerobní kultivaci, pokud je to považováno za nezbytné pro detekci dalších patogenů.

Naočkovaná média inkubujte v aerobním prostředí obohaceném 5 až 10 % oxidu uhličitého po dobu 42 až 48 hodin při teplotě 35 ± 2 °C nebo déle, pokud je to nutné. Misky odečtěte po 18 až 24 hodinách a po 42 až 48 hodinách. Mějte na paměti, že kmeny *Neisseria gonorrhoeae* mohou v některých případech vyžadovat inkubaci po dobu až 72 hodin před tím, než se objeví dobře viditelné kolonie.

Výsledky

Typická morfologie kolonií na agaru **BD GC-Lect Agar** a **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** je následující:

Neisseria gonorrhoeae: Malé, šedobílé až bezbarvé, mohou být slizovité.

Neisseria meningitidis: Střední až velké, modrošedé, mohou být slizovité.

Předběžnou identifikaci typických kolonií je možné provést pomocí Gramova barvení a oxidázového testu.^{9,10} Pro úplnou identifikaci izolátů je nutné provést další biochemické a imunologické testy.

SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI A OMEZENÍ POSTUPU

Agar **BD GC-Lect Agar** se používá pro izolaci kmenů *Neisseria gonorrhoeae*. Médium je rovněž možné použít pro izolaci *N. meningitidis* ze vzorků obsahujících normální flóru, např. z nosních stěrů od přenašečů při epidemiologickém vyšetřování původce bakteriální meningitidy.

Specifické vlastnosti účinnosti

Při vyhodnocování účinnosti pomocí 500 vzorků došlo k viditelnému růstu *N. gonorrhoeae* během 24 hodin u 72 pozitivních kultur na agaru **BD GC-Lect Agar** v porovnání s pouze 52 pozitivními kulturami na referenčním médiu, kterým byl agar MTM.⁷ Pomocí agaru GC-Lect bylo získáno celkem 50 pozitivních kultivací v porovnání se 49 kultivacemi na agaru MTM. Selektivita agaru **BD GC-Lect Agar** byla vyšší, kdy k růstu normální flóry došlo pouze u 19 kultivací v porovnání se 78 kultivacemi na agaru MTM po 24 hodinách od inkubace. Selektivita byla výrazně zlepšena u agaru **BD GC-Lect Agar** s ohledem na kvasinky (2 oproti 30 kultivacím) a gram-pozitivní koky (5 oproti 31 kultivacím).

Omezení postupu

Jedno médium je málokdy dostačující pro detekci všech mikroorganismů s potenciálním významem ve vzorku. Vzorky, kultivované na selektivních médiích, by měly být rovněž kultivovány na neselektivních médiích pro získání dalších informací a pro pomoc při zajištění výtěžnosti potenciálních patogenů. Agar **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** je obohacené médium, na kterém může dojít k přerůstání patogenních bakterií nežádoucími nebo nepatogenními bakteriemi.

Neisseria lactamica, představující jeden ze saprofytických kmenů, není na agaru GC-Lect inhibována.

ODKAZY

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.

BALENÍ/DOSTUPNOST

Agar BD GC-Lect Agar

- | | |
|----------------|---|
| Kat. č. 254554 | Médium na miskách k okamžitému použití, 20 kusů v balení |
| Kat. č. 254555 | Médium na miskách k okamžitému použití, 120 kusů v balení |

Další informace

Další informace vám poskytne místní zástupce společnosti 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