

BD Martin Lewis Agar, Modified

USO PREVISTO

BD Martin-Lewis Agar, Modified è un terreno arricchito per l'isolamento selettivo di *Neisseria gonorrhoeae* e *N. meningitidis* da campioni clinici contenenti flora mista di batteri e funghi.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

Carpenter e Morton hanno documentato un terreno ottimizzato per l'isolamento del gonococco in 24 ore.¹ L'efficacia di questo terreno, agar GC addizionato con emoglobina e concentrato di lievito, è stata dimostrata in uno studio su dodici terreni usati per l'isolamento di tale organismo.² Il terreno è stato poi perfezionato a più riprese.³⁻⁵

L'agar Martin-Lewis rappresenta una modifica di un precedente preparato per l'isolamento selettivo di *Neisseria* patogene (*N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis*) in grado di inibire più efficacemente i batteri Gram-positivi e i lieviti rispetto agli agar Thayer-Martin.^{6,7} Nel **BD Martin Lewis Agar, Modified**, l'amfotericina B sostituisce l'anisomicina o la nistatina usata in precedenza per ottenere una migliore inibizione dei *Candida albicans*. È stato dimostrato che questo organismo inibisce la *N. gonorrhoeae*.^{8,9}

Nel **BD Martin-Lewis Agar, Modified** i nutrienti sono forniti dalla base di agar cioccolato II, che apporta caseina e peptoni della carne come fonti di azoto, fosfati per mantenere il pH e amido di granturco per neutralizzare gli acidi grassi tossici eventualmente presenti nell'agar. L'emoglobina fornisce il fattore X (emina). **BD IsoVitaleX Enrichment** è un supplemento definito che fornisce il fattore V (nicotinamide adenina dinucleotide, NAD) oltre a vitamine, aminoacidi, coenzimi, glucosio, ione ferrico e altri fattori che stimolano la crescita di *Neisseria* patogene.

Il terreno contiene numerosi agenti antimicrobici che sopprimono la flora normalmente presente: la vancomicina è attiva prevalentemente contro i batteri Gram-positivi; la colistina inibisce i bacilli Gram-negativi, incluse le specie di *Pseudomonas*, ma è inattiva con il genere *Proteus*; il trimetoprim inibisce i *Proteus* e l'amfotericina B inibisce i funghi.

REAGENTI

Formule* per litro di acqua purificata

BD Martin-Lewis Agar, Modified		BD IsoVitaleX Enrichment	
Digerito pancreatico di caseina	7,5 g	Vitamina B ₁₂	0,01 g
Peptone di carne selezionato	7,5	L-Glutamina	10,0
Amido di granturco	1,0	Adenina	1,0
Fosfato dipotassico	4,0	Cloridrato di guanina	0,03
Fosfato monopotassico	1,0	Acido p-aminobenzoico	0,013
Cloruro di sodio	5,0	Nicotinamide adenina dinucleotide	0,25
Agar	14,0	Pirofosfato di tiamina	0,1
Emoglobina	10,0	Nitrato di ferro	0,02
Supplemento IsoVitaleX	10,0 ml	Cloridrato di tiamina	0,003
Trimetoprim lattato	0,005 g	Cloridrato di cistina	25,9
Amfotericina B	0,005	L-cistina	1,1
Colistina	0,0075	Glucosio	100,0
Vancomicina	0,004		
pH 7,2 ± 0,2			

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

PRECAUZIONI

IVD Solo per uso professionale. 

Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione di colore, essiccamento, incrinature o altri segni di deterioramento.

Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C nella confezione originaria fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per informazioni più dettagliate, v. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare le piastre per 42 – 48 ore a 35 ± 2 °C in atmosfera aerobica arricchita con CO₂. Leggere le piastre dopo 18 – 24 e 42 – 48 ore di incubazione.

Ceppi	Risultati della crescita
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069	Crescita da discreta a eccellente
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Crescita da buona a eccellente
<i>Neisseria sicca</i> ATCC 9913	Inibizione da parziale a completa
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Inibizione da parziale a completa
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibizione da parziale a completa
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Inibizione da parziale a completa, nessuna sciamatura
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Inibizione da parziale a completa
Non inoculate	Marrone cioccolato, opache

PROCEDURA

Materiale fornito

BD Martin-Lewis Agar, Modified (Piastrine impilate **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Tipi di campioni

Terreno selettivo per le specie patogene di *Neisseria*, in particolare per l'isolamento di *Neisseria gonorrhoeae*, utilizzabile per tutti i tipi di campioni. Tra i campioni utilizzati più di frequente vi sono i tamponi del tratto genitourinario, del retto e dell'orofaringe (v. anche **PERFORMANCE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).^{6,10} Il terreno può essere usato anche per individuare la *Neisseria meningitidis* nei campioni contenenti microflora, come i tamponi nasali dei portatori nelle indagini epidemiologiche per un'epidemia di meningite batterica. Non deve essere usato come unico terreno per l'isolamento primario della *N. meningitidis* dal liquido cerebrospinale, ma può essere utilizzato come terreno di isolamento aggiuntivo.

Prelievo e trasporto dei campioni

Neisseria gonorrhoeae e *N. meningitidis* sono sensibili alle condizioni ambientali avverse.

Utilizzare pertanto terreni di trasporto appropriati per tutti i campioni che potrebbero contenere forme patogene di *Neisseria*. I campioni devono essere inviati quanto prima al laboratorio e non devono avere più di 24 ore, anche se si usa un terreno di trasporto. La temperatura ottimale per il trasporto è 20 – 25 °C. Non conservare in frigorifero!^{6, 10}

Procedura del test

Strisciare il campione non appena viene consegnato in laboratorio. La piastra strisciata è utilizzata prevalentemente per isolare le colture pure dai campioni contenenti flora mista. In alternativa, se il materiale in coltura proviene direttamente da un tampone, rotolare il tampone su

una piccola area del bordo e strisciare da questa zona inoculata. Inoculare anche una piastra di agar cioccolato - ad es., **BD Chocolate Agar (agar GC Agar con IsoVitaleX)** - per avere un'indicazione sulla sensibilità della *Neisseria gonorrhoeae* agli ingredienti selettivi del **BD Martin-Lewis Agar, Modified**^{11,12} e per l'identificazione della *N. meningitidis* nel liquido cerebrospinale. Aggiungere anche i tradizionali terreni per colture aerobiche se sono necessari per rilevare gli altri patogeni.

Incubare i terreni inoculati in ambiente aerobico arricchito con 5 – 10% di anidride carbonica e incubare a 35 ± 2 °C per 42 – 48 ore o più a lungo, se necessario. Leggere le piastre a distanza di 18 – 24 ore e 42 – 48 ore.

Risultati

La morfologia tipica delle colonie su **BD Martin-Lewis Agar, Modified** è la seguente:

Neisseria gonorrhoeae: colonie piccole, da grigiastre a trasparenti.

Neisseria meningitidis: da medie a grandi, grigio-blu, mucoidi.

Si può arrivare a una prima identificazione usando la colorazione di Gram e il test dell'ossidasi.⁶

PERFORMANCE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Il terreno viene usato per l'isolamento selettivo di *Neisseria* spp. patogene da tutti i campioni contenenti flora contaminante e per la differenziazione di *Neisseria gonorrhoeae* e *N. meningitidis* dalle altre specie di *Neisseria* normalmente inibite su questo terreno.

È stata documentata l'esistenza di ceppi di *N. gonorrhoeae* inibiti da vancomicina e trimetoprim lattato.^{11,12} Inoculare quindi anche una piastra di agar cioccolato non selettivo - ad es., **BD Chocolate Agar (agar GC con IsoVitaleX)**. Se una popolazione di pazienti presenta un'elevata incidenza di ceppi sensibili alla vancomicina, si può usare **BD GC-Lect Agar** invece di **BD Martin-Lewis Agar, Modified**.¹³

Non usare questo mezzo come unico terreno di isolamento della *N. meningitidis* da campioni biologici prelevati da siti sterili, come il liquido cerebrospinale, ma aggiungere sempre una piastra di agar cioccolato non selettivo (v. sopra).

Su questo terreno può crescere la *Neisseria lactamica*, confondibile con la *N. meningitidis*.⁶

Benché sia possibile eseguire alcuni test diagnostici direttamente sul terreno, per un'identificazione completa è necessario effettuare test biochimici e, all'occorrenza, immunologici usando colture pure. Consultare le relative voci della bibliografia.⁶

Sul terreno inoculato con campioni orofaringei possono crescere ceppi del genere *Capnocytophaga*.¹³

BIBLIOGRAFIA

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, 8thed. 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. Tenover, and R. H. Tenover (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Cross, R.C., M.B. Heger, 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 gonorrhoea 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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Martin-Lewis Agar, Modified

N. di cat. 254029

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



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