

BD GC-Lect Agar

USO PREVISTO

BD GC-Lect Agar è un terreno selettivo che migliora la crescita e l'isolamento di *Neisseria gonorrhoeae* e l'inibizione di batteri e funghi contaminanti, incluse *Capnocytophaga* spp. contenute nei campioni orofaringei.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

È stata allestita una serie di terreni consecutivi per isolare le *Neisseria* patogene dai campioni contenenti flora mista [agar selettivo Thayer-Martin, agar Thayer-Martin modificato (MTM), agar Martin-Lewis].¹⁻³ Ciascun terreno inibisce gli organismi contaminanti meglio delle formule precedenti, ma risulta variamente inibente anche per alcuni ceppi che invece dovrebbe isolare.^{4,5}

BD Diagnostic Systems ha messo a punto l'agar GC II per migliorare la base dell'agar cioccolato utilizzato in questi terreni selettivi. L'incremento di crescita ottenuto per le *Neisseria* patogene si accompagna alla crescita di ceppi di *Capnocytophaga* sul terreno selettivo quando viene inoculato con campioni orofaringei.

Agar GC-Lect è stato allestito e brevettato da BD Diagnostic Systems per inibire *Capnocytophaga* spp. e altri ceppi resistenti agli agenti inibitori dell'agar MTM, ad es. i contaminanti resistenti alla vancomicina, inclusi alcuni ceppi di *Staphylococcus epidermidis*.^{6,7} La concentrazione di vancomicina nel terreno è stata ridotta per migliorare l'isolamento dei ceppi di *N. gonorrhoeae* sensibili a questo antibiotico. *N. lactamica* non viene inibita su agar GC-Lect, così come su agar MTM.

BD GC-Lect Agar contiene la base agar GC II che fornisce nutrienti azotati sotto forma di caseina e peptoni di carne, tampone fosfato per mantenere il pH e amido di granturco per neutralizzare gli acidi grassi tossici eventualmente presenti nell'agar. L'emoglobina bovina fornisce il fattore X (emina). **BD IsoVitaleX Enrichment** è un supplemento definito che fornisce vitamine, aminoacidi, coenzimi, glucosio, ione ferrico e altri fattori che stimolano la crescita di *Neisseria* patogene. Per migliorare la selettività, BD Diagnostic Systems ha elaborato una combinazione di cinque agenti antimicrobici che inibiscono i batteri Gram-positivi e Gram-negativi e i funghi. Questi antibiotici non inibiscono i gonococchi sensibili alla vancomicina, che vengono inibiti sul tradizionale agar MTM.⁷

REAGENTI

BD GC-Lect Agar

Formula* per litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	7,5 g
Peptone di carne selezionato	7,5
Amido di granturco	1,0
Fosfato dipotassico	4,0
Fosfato monopotassico	1,0
Cloruro di sodio	5,0
Agar	12,0
Emoglobina	10,0
Agenti selettivi	0,017
BD IsoVitaleX Enrichment	10,0 mL
pH 7,2 ± 0,2	

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

BD IsoVitaleX Enrichment contiene i seguenti fattori di crescita (formula* per litro di acqua purificata):

Vitamina B ₁₂	0,01 g	Pirofosfato di tiamina	0,1 g
L-glutamina	10,0	Nitrato di ferro	0,02
Adenina	1,0	Cloridrato di tiamina	0,003
Cloridrato di guanina	0,03	Cloridrato di cisteina	25,9
Acido <i>p</i> -aminobenzoico	0,013	L-cistina	1,1
Nicotinamide adenina dinucleotide (NAD)	0,25	Glucosio	100,0

*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, alterazioni cromatiche, essiccamento, fessurazioni 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 a 35 – 37 °C per 24 – 48 h in atmosfera aerobica arricchita con anidride carbonica.

Ceppi	Risultati della crescita
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069	Crescita
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 51109	Crescita
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Crescita
<i>Neisseria sicca</i> ATCC 9913	Inibizione da parziale a completa
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibizione completa
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Inibizione da parziale a completa
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Inibizione completa
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Inibizione da parziale a completa
<i>Capnocytophaga ochracea</i> DSM 7272	Inibizione completa

PROCEDURA

Materiali forniti

BD GC-Lect Agar (piastre **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 *Neisseria* spp. patogene, in particolare per l'isolamento di *Neisseria gonorrhoeae*, utilizzabile con tutti i tipi di campioni. Tra i campioni usati più spesso figurano i tamponi raccolti dal tratto urogenitale, dal retto e nell'orofaringe (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).⁸⁻¹⁰ Il terreno può essere usato anche per isolare *Neisseria meningitidis* in campioni contenenti flora normale, ad es. da tamponi nasali di portatori nelle indagini epidemiologiche durante le epidemie di meningite batterica. Non

deve essere usato come unico terreno per l'isolamento primario di *N. meningitidis* dal liquido cerebrospinale, ma può essere impiegato come terreno di isolamento aggiuntivo.

Prelievo e trasporto dei campioni

Neisseria gonorrhoeae e *N. meningitidis* sono particolarmente sensibili alle condizioni ambientali avverse. Pertanto, utilizzare terreni di trasporto appropriati per tutti i campioni che si sospetta contengano *Neisseria* Patogene. I campioni devono essere inviati quanto prima al laboratorio e non devono avere più di 24 h, anche se si usa un terreno di trasporto. La temperatura ottimale per il trasporto è 20 – 25 °C. Non conservare in frigorifero.⁸⁻¹⁰

Procedura del test

Strisciare il campione su **BD GC-Lect Agar** non appena viene consegnato in laboratorio. La piastra strisciata è usata principalmente per isolare colture pure da campioni contenenti flora mista. In alternativa, se il materiale viene posto in coltura direttamente da un tampone, passare il tampone su una piccola area della superficie del bordo e strisciare da questa area inocolata. Si può inoculare anche un terreno non selettivo a base di agar cioccolato, ad es. **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**, con tutti i campioni che si sospetta contengano *Neisseria gonorrhoeae* per avere un'indicazione sugli altri patogeni associati all'infezione e per rilevare *N. meningitidis* nel liquido cerebrospinale. Aggiungere anche i tradizionali terreni per colture aerobiche se sono necessari per individuare altri patogeni.

Incubare i terreni inoculati in ambiente aerobico arricchito con 5 – 10% di anidride carbonica a 35 ± 2 °C per 42 – 48 h o più a lungo, se necessario. Leggere le piastre dopo 18 – 24 h e 42 – 48 h. In alcuni casi, possono essere necessarie fino a 72 h prima che le colonie di *Neisseria gonorrhoeae* risultino ben visibili.

Risultati

Le colonie isolate su **BD GC-Lect Agar** e **BC Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** presentano la seguente morfologia:

Neisseria gonorrhoeae: piccole, da bianco-grigiastre a incolori, eventualmente mucoidi.

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

Le colonie possono essere identificate presuntivamente utilizzando colorazione di Gram e test dell'ossidasi.^{9,10} Per completare l'identificazione degli isolati eseguire ulteriori test biochimici o immunologici.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD GC-Lect Agar è usato per l'isolamento di *Neisseria gonorrhoeae*. Il terreno può essere usato anche per isolare *N. meningitidis* in campioni contenenti flora normale, ad es. da tamponi nasali di portatori nelle indagini epidemiologiche durante le epidemie di meningite batterica.

Prestazioni metodologiche specifiche

In base a una valutazione delle prestazioni su 500 campioni, *N. gonorrhoeae* si è sviluppata in maniera visibile entro 24 h in 72 delle colture risultate positive su **BD GC-Lect Agar**, rispetto a solo 52 sul terreno di controllo agar MTM.⁷ In totale, con agar GC-Lect sono state ottenute 50 colture positive, rispetto a 49 con agar MTM. La selettività di **BD GC-Lect Agar** è risultata superiore, in quanto la flora normale si è sviluppata solo in 19 colture, rispetto alle 78 colture riscontrate su MTM dopo 24 h di incubazione. La selettività è nettamente migliore su **BD GC-Lect Agar** per quanto riguarda lieviti (2 invece di 30 colture) e cocchi Gram-positivi (5 invece di 31 colture).

Limitazioni della procedura

Difficilmente un solo terreno consente di rilevare tutti gli organismi potenzialmente rilevanti in un campione. Pertanto, i campioni coltivati su terreni selettivi devono essere messi in coltura anche su terreni non selettivi per raccogliere ulteriori informazioni e facilitare l'isolamento di eventuali patogeni. **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** è un terreno arricchito sui cui la crescita di batteri patogeni può essere coperta dallo sviluppo di batteri indesiderati o non patogeni.

Neisseria lactamica, che appartiene alle specie saprofitiche, non viene inibita su agar GC-Lect.

BIBLIOGRAFIA

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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD GC-Lect Agar

N. di cat. 254554

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

N. di cat. 254555

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 120

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