# BD Martin Lewis Agar, Modified

## PRZEZNACZENIE

Produkt **BD Martin-Lewis Agar, Modified** (**Zmodyfikowany agar BD Martin-Lewis**) to wzbogacone podłoże do wybiórczego izolowania bakterii *Neisseria gonorrhoeae* i *N. meningitidis* z próbek pochodzenia klinicznego zawierających mieszaną florę złożoną z bakterii i grzybów.

## ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.

Carpenter i Morton opisali ulepszone podłoże do izolowania gonokoków w ciągu 24 h.[1] Skuteczność tej pożywki, GC Agar z dodatkiem hemoglobiny i koncentratu drożdżowego, wykazano w badaniu oceniającym dwanaście podłoży do izolowania tego drobnoustroju.[2] W późniejszym okresie w składzie pożywki wprowadzono szereg ulepszeń. [3-5]

Podłoże Martin-Lewis Agar jest modyfikacją wcześniejszego składu, mającą na celu wybiórcze izolowanie patogennych bakterii z rodzaju *Neisseria* (*N. gonorrhoeae* i *N. meningitidis*); pożywka ta wywiera silniejsze działanie hamujące wzrost bakterii Gram-dodatnich i drożdży niż podłoża agarowe Thayer-Martin.[6,7] W składzie podłoża **BD Martin Lewis Agar, Modified** zastąpiono anizomycynę lub stosowaną wcześniej nystatynę amfoterycyną B w celu skuteczniejszego hamowania wzrostu *Candida albicans*. Wykazano hamujący wpływ tego drobnoustroju na wzrost *N. gonorrhoeae*.[8,9]

W podłożu **BD Martin-Lewis Agar, Modified** składniki odżywcze pochodzą z podstawowego składu pożywki Chocolate II Agar, zawierającego peptony kazeinowe i mięsne jako źródła azotu, fosforany służące do utrzymywania stałego pH oraz skrobię kukurydzianą neutralizującą toksyczne kwasy tłuszczowe, które mogą znajdować się w agarze. Hemoglobina dostarcza czynnika X (heminy). Dodatek wzbogacający **BD IsoVitaleX Enrichment** jest składnikiem uzupełniającym o określonym składzie, dostarczającym czynnika V (dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego, NAD), a także witamin, aminokwasów, koenzymów, glukozy, jonu żelaza (III) oraz innych czynników, które poprawiają wzrost patogennych bakterii z rodzaju *Neisseria*.

Podłoże zawiera kilka środków zwalczających drobnoustroje, hamujących wzrost normalnej flory. Wankomycyna działa hamująco głównie na bakterie Gram-dodatnie. Kolistyna hamuje wzrost pałeczek Gram-ujemnych, w tym gatunków z rodzaju *Pseudomonas*, lecz nie działa na bakterie z rodzaju *Proteus*. Wzrost bakterii *Proteus* hamuje trimetoprim. Amfoterycyna B hamuje wzrost grzybów.

## ODCZYNNIKI

Skład* w przeliczeniu na jeden litr wody oczyszczonej

| **BD Martin-Lewis Agar, Modified** | | **BD IsoVitaleX Enrichment** | |
|---|---|---|---|
| Trzustkowy hydrolizat kazeiny | 7,5 g | Witamina $B_{12}$ | 0,01 g |
| Wybrany pepton mięsny | 7,5 | L-glutamina | 10,0 |
| Skrobia kukurydziana | 1,0 | Adenina | 1,0 |
| Wodorofosforan potasu | 4,0 | Chlorowodorek guaniny | 0,03 |
| Fosforan jednopotasowy | 1,0 | Kwas p-aminobenzoesowy | 0,013 |
| Chlorek sodu | 5,0 | Dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy | 0,25 |
| Agar | 14,0 | Pirofosforan tiaminy | 0,1 |
| Hemoglobina | 10,0 | Azotan (V) żelaza (III) | 0,02 |
| Dodatek **IsoVitaleX** Enrichment | 10,0 ml | Chlorowodorek tiaminy | 0,003 |
| Mleczan trimetoprimu | 0,005 g | Chlorowodorek cysteiny | 25,9 |
| Amfoterycyna B | 0,005 | L-cystyna | 1,1 |
| Kolistyna | 0,0075 | Glukoza | 100,0 |
| Wankomycyna | 0,004 | | |
| pH 7,2 ± 0,2 | | | |

*Skorygowany lub uzupełniony zgodnie z wymaganiami kryteriów działania.

## ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych.
Nie należy używać płytek, jeżeli są na nich widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości.
Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz usuwanie zużytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**.

## PRZECHOWYWANIE I DOPUSZCZALNY OKRES PRZECHOWYWANIA

Po otrzymaniu, płytki należy przechowywać w ciemnym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C, w ich oryginalnym opakowaniu izolującym do chwili użycia. Unikać zamrażania i przegrzewania.
Posiewu na płytki można dokonywać aż do daty ważności (patrz etykieta na opakowaniu) i inkubować w zalecanych czasach inkubacji.
Płytek z otwartych stosów zawierających po 10 płytek można używać przez okres jednego tygodnia, przechowując w czystym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C.

## KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Reprezentatywne próbki podłoża zaszczepia się hodowlami wymienionych niżej szczepów (szczegółowe informacje — patrz dokument **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**). Płytki inkubować w atmosferze tlenowej wzbogaconej $CO_2$ przez okres od 42 do 48 h, w temperaturze 35 ± 2°C. Odczytu wzrostu dokonuje się po upływie 18–24 h i po upływie 42–48 h inkubacji.

| **Szczepy** | **Wzrost** |
|---|---|
| *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 43069 | Wzrost od dość dobrego do bardzo dobrego |
| *Neisseria meningitidis* ATCC 13090 | Wzrost dobry lub bardzo dobry |
| *Neisseria sicca* ATCC 9913 | Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu |
| *Candida albicans* ATCC 60193 | Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu |
| *Escherichia coli* ATCC 25922 | Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu |
| *Proteus mirabilis* ATCC 43071 | Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu, brak stopniowego wzrostu kolonii |
| *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 | Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu |
| Bez posiewu | Czekoladowobrązowe, nieprzejrzyste |

## PROCEDURA

### Dostarczane materiały

**BD Martin-Lewis Agar, Modified** (płytki **Stacker** o średnicy 90 mm). Sprawdzane pod względem obecności drobnoustrojów.

### Materiały niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

### Typy próbek

Omawiane podłoże jest selektywne względem patogennych gatunków bakterii z rodzaju *Neisseria*, szczególnie podczas izolowania *Neisseria gonorrhoeae*, i można je stosować do wszystkich typów próbek. Często badanymi próbkami są wymazy z dróg moczowo-płciowych, odbytu i jamy ustno-gardłowej (patrz także **CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY**).[6,10] Podłoża można także używać do wykrywania *Neisseria meningitidis* w próbkach zawierających normalną florę, np. w wymazach z jamy nosowej u nosicieli podczas badań epidemiologicznych w sytuacji nagłego wzrostu zachorowań na bakteryjne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Nie wolno go używać jako jedynego podłoża do pierwszej izolacji *N. meningitidis* z płynu mózgowo-rdzeniowego, ale można je stosować jako dodatkowe podłoże izolacyjne.

**Pobieranie i transport próbek**
Bakterie *Neisseria gonorrhoeae* i *N. meningitidis* są wrażliwe na niekorzystne warunki środowiskowe. W związku z tym do transportu wszystkich próbek, w których podejrzewa się obecność patogennych bakterii z rodzaju *Neisseria*, należy stosować odpowiednie podłoża transportowe. Próbki należy jak najszybciej przesłać do laboratorium, najpóźniej w ciągu 24 godzin, nawet w przypadku stosowania podłoża transportowego. Optymalna temperatura transportu wynosi 20–25°C. Nie należy zamrażać próbek! [6, 10]

**Procedura testowa**
Wykonać posiew próbki możliwie jak najszybciej po dostarczeniu materiału do laboratorium. Płytka do posiewu służy przede wszystkim do izolowania czystych hodowli z próbek zawierających florę mieszaną. Innym sposobem, jeżeli materiał jest hodowany bezpośrednio z wymazu, jest przetoczenie wymazówki po niewielkiej powierzchni krawędzi płytki, a następnie posiew pasmowy z zaszczepionego obszaru. Należy także zaszczepić płytkę z nieselektywnym agarem czekoladowym (np. podłożem **BD Chocolate Agar** [**GC Agar with IsoVitaleX**]); ma to na celu wskazanie obecności szczepu *Neisseria gonorrhoeae* wrażliwego na składniki zapewniające wybiórczość podłoża **BD Martin-Lewis Agar, Modified**,[11,12] a także wykrycie *N. meningitidis* w przypadku badania płynu mózgowo-rdzeniowego. Ponadto do badania należy włączyć typowe podłoża do hodowli drobnoustrojów tlenowych, jeżeli uważa się za konieczne wykrycie innych patogenów.
Zaszczepione podłoża inkubować w środowisku tlenowym wzbogaconym 5–10% dwutlenkiem węgla, w temperaturze 35 ± 2°C, przez okres od 42 do 48 h lub dłuższy, o ile jest to konieczne. Przeprowadzić odczyt płytek po upływie 18–24 h i po upływie 42–48 h.

**Wyniki**
Typowa morfologia kolonii wzrastających na podłożu **BD Martin-Lewis Agar, Modified**:
*Neisseria gonorrhoeae:* Małe kolonie, szarawe lub przezroczyste.
*Neisseria meningitidis*: Średnie lub duże, niebieskoszare, śluzowe.
Orientacyjnej identyfikacji można dokonać na podstawie przeprowadzonego barwienia metodą Grama oraz testu oksydazowego.[6]

## CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY
Omawiane podłoże stosuje się do wybiórczego izolowania patogennych bakterii *Neisseria* spp. ze wszystkich próbek zawierających zanieczyszczającą florę, a także do odróżniania *Neisseria gonorrhoeae* i *N. meningitidis* od innych gatunków bakterii z rodzaju *Neisseria*, których wzrost na tej pożywce zwykle ulega zahamowaniu.
Donoszono o istnieniu szczepów *N. gonorrhoeae*, których wzrost hamują wankomycyna i mleczan trimetoprimu.[11,12] Zatem należy także wykonać posiew na płytce z nieselektywnym agarem czekoladowym (np. **BD Chocolate Agar [GC Agar with IsoVitaleX]**). Jeżeli wiadomo o częstym występowaniu w danej populacji pacjentów szczepów wrażliwych na wankomycynę, zamiast podłoża **BD Martin-Lewis Agar, Modified** można zastosować **BD GC-Lect Agar**.[13]
Nie wolno używać omawianej pożywki jako jedynego podłoża do izolowania *N. meningitidis* w próbkach pobranych z pierwotnie sterylnych miejsc w organizmie, takich jak płyn mózgowo-rdzeniowy. Należy zawsze dołączyć do badania płytkę z nieselektywnym agarem czekoladowym (patrz wyżej).
Gatunek *Neisseria lactamica* może rosnąć na omawianym podłożu i może przypominać *N. meningitidis*.[6]
Wprawdzie pewne testy diagnostyczne można wykonywać bezpośrednio na opisywanym podłożu, jednak w celu przeprowadzenia pełnej identyfikacji konieczne jest wykonanie badania biochemicznego oraz, jeśli jest to wskazane, badania immunologicznego z użyciem czystych hodowli. Informacje znajdują się w odpowiednich pozycjach piśmiennictwa.[6]
Niektóre szczepy gatunków bakterii z rodzaju *Capnocytophaga* po wykonaniu posiewu próbek pobranych z jamy ustno-gardłowej mogą wykazywać wzrost na omawianym podłożu.[13]

## PIŚMIENNICTWO
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. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8$^{th}$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. Yolken (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.

## PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ

**BD Martin-Lewis Agar, Modified**

Nr kat. 254029 Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, 20 płytek

**DODATKOWE INFORMACJE**

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy 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