

BD Martin Lewis Agar, Modified

VERWENDUNGSZWECK

BD Martin-Lewis Agar, Modified (modifizierter Martin-Lewis-Agar) ist ein angereichertes Medium für die selektive Isolierung von *Neisseria gonorrhoeae* and *N. meningitidis* aus klinischen Proben mit gemischter Flora aus Bakterien und Pilzen.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Carpenter und Morton haben ein verbessertes Medium zur Isolierung von Gonokokken in 24 h beschrieben.¹ Die Wirksamkeit dieses Mediums, GC-Agar ergänzt mit Hämoglobin und Hefekonzentrat, wurde in einer Studie mit zwölf zur Isolierung dieses Organismus verwendeten Medien demonstriert.² Später wurde das Medium noch mehrmals verbessert.³⁻⁵

Martin-Lewis-Agar ist eine Modifikation der früheren Rezeptur zur selektiven Isolierung von pathogenen *Neisseria* (*N. gonorrhoeae* und *N. meningitidis*), welche eine stärkere hemmende Wirkung auf grampositive Bakterien und Hefen aufweist, als Thayer-Martin-Agar.^{6,7} In **BD Martin Lewis Agar, Modified** wurde Anisomycin oder das früher verwendete Nystatin für die verbesserte Hemmung von *Candida albicans* durch Amphotericin B ersetzt. Es hat sich gezeigt, dass dieser Organismus *N. gonorrhoeae* hemmt.^{8,9}

In **BD Martin-Lewis Agar, Modified** werden die Nährstoffe von der Schokoladenagar II-Basis geliefert, welche Casein und Fleischpeptone als Stickstoffquellen enthält, Phosphate zur Beibehaltung des pH-Wertes, sowie Maisstärke, um die möglicherweise im Agar enthaltenen, toxischen Fettsäuren zu neutralisieren. Hämoglobin liefert den Faktor X (Hämin). **BD IsoVitaleX Enrichment** (IsoVitaleX-Anreicherung) ist ein definiertes Supplement, welches den Faktor V (Nikotinamidadenindinukleotid, NAD), Vitamine, Aminosäuren, Coenzyme, Glucose, Eisen (III) und andere Faktoren liefert, die das Wachstum von pathogenen *Neisseria* fördern.

Dieses Medium enthält mehrere antimikrobielle Agenzien zur Unterdrückung der normalen Flora. Vancomycin ist primär gegen grampositive Bakterien aktiv. Colistin hemmt gramnegative Stäbchen, einschließlich der *Pseudomonas*-Spezies, ist aber nicht gegen *Proteus*-Spezies aktiv. Trimethoprim hemmt *Proteus*. Amphotericin B hemmt Pilze.

REAGENZILIEN

Zusammensetzungen* pro Liter destilliertem Wasser

BD Martin-Lewis Agar, Modified		BD IsoVitaleX Enrichment	
Pankreatisch abgebautes Casein	7,5 g	Vitamin B ₁₂	0,01 g
Hochwertiges Fleischpepton	7,5	L-Glutamin	10,0
Maisstärke	1,0	Adenin	1,0
Dikaliumphosphat	4,0	Guaninhydrochlorid	0,03
Kaliumdihydrogenphosphat	1,0	p-Aminobenzoesäure	0,013
Natriumchlorid	5,0	Nikotinamidadenindinukleotid	0,25
Agar	14,0	Thiaminpyrophosphat	0,1
Hämoglobin	10,0	Eisen (III)-Nitrat	0,02
IsoVitaleX-Anreicherung	10,0 mL	Thiaminhydrochlorid	0,003
Trimethoprimlactat	0,005 g	Cysteinhydrochlorid	25,9
Amphotericin B	0,005	L-Cystin	1,1
Colistin	0,0075	Glucose	100,0
Vancomycin	0,004		
pH 7,2 ± 0,2			

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch. 

Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Hinweise zur aseptischen Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). Platten 42 – 48 h bei 35 ± 2 °C in CO₂ angereicherter Atmosphäre aerob inkubieren und 18 – 24 h, sowie 42 – 48 Stunden nach der Inkubation ablesen.

Stämme	Wachstum
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 43069	Mittleres bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Neisseria sicca</i> ATCC 9913	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
Nicht inokuliert	Schokoladenbraun, opak

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Martin-Lewis Agar, Modified (90 mm **Stacker-Platten**). Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Dies ist ein selektives Medium für pathogene *Neisseria*-Spezies, besonders für die Isolierung von *Neisseria gonorrhoeae*, und kann für alle Probenarten verwendet werden. Viele Proben bestehen aus Abstrichen aus dem Urogenitalbereich, des Rektums und des Oropharynx (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).^{6,10} Dieses Medium kann auch für den Nachweis von *Neisseria meningitidis* in Proben mit normaler Flora verwendet werden, z.B. Nasalabstriche von Trägern in der epidemiologischen Untersuchung eines Ausbruchs von bakterieller Meningitis. Es darf nicht als einziges Erstisolierungs-Medium für *N. meningitidis* aus Hirnflüssigkeit verwendet werden, kann jedoch als zusätzliches Isolierungsmedium angewandt werden.

Probenentnahme und Transport

Neisseria gonorrhoeae and *N. meningitidis* sind anfällig für ungünstige Umgebungsbedingungen. Deshalb müssen für alle Proben mit Verdacht auf pathogene *Neisseria* angemessene Transportmedien verwendet werden. Die Proben müssen so schnell wie möglich ins Labor geschickt werden und dürfen nicht älter als 24 Stunden sein, selbst wenn Transportmedien verwendet werden. Die optimale Transporttemperatur beträgt 20 – 25 °C. Nicht kühlen!^{6, 10}

Testverfahren

Probe möglichst bald nach Eingang im Labor ausstreichen. Diese Platte wird hauptsächlich zur Isolierung von Reinkulturen aus Proben mit einer gemischten Flora verwendet. Falls das Material direkt von einem Tupfer kultiviert wird, Tupfer über einen kleinen Bereich am Rand Oberfläche rollen und anschließend aus dieser inokulierten Fläche ausstreichen. Eine nicht selektive Schokoladenagarplatte (z.B. **BD Chocolate Agar (GC Agar mit IsoVitaleX)**) muss ebenfalls inokuliert werden, um Anzeichen von *Neisseria gonorrhoeae* zu erhalten, welche auf die selektiven Bestandteile von **BD Martin-Lewis Agar, Modified** sensibel reagieren^{11,12}, und zum Nachweis von *N. meningitidis* aus Hirnflüssigkeit. Zusätzlich muss das übliche Medium für aerobe Kultur einbezogen werden, um andere Pathogene nachzuweisen, falls dies für notwendig erachtet wird.

Das inokulierte Medium 42 - 48 Stunden oder länger, wenn nötig, bei 35 ± 2 °C in einer mit 5 – 10 % Kohlendioxid angereicherten Umgebung aerob inkubieren. Platten nach 18 – 24 Stunden, sowie nach 42 – 48 Stunden ablesen.

Ergebnisse

BD Martin-Lewis Agar, Modified weist typischerweise die folgende Koloniemorphologie auf:

Neisseria gonorrhoeae: Kleine gräuliche bis transparente Kolonien.

Neisseria meningitidis: Mittelgroß bis groß, blaugrau, mukoid.

Eine präsumptive Identifizierung kann mit der Durchführung einer Gram-Färbung und eines Oxidasetests erzielt werden.

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Dieses Medium wird für die selektive Isolierung von pathogenen *Neisseria spp.* aus allen Proben mit kontaminierender Flora verwendet, sowie für die Differenzierung von *Neisseria gonorrhoeae* und *N. meningitidis* von anderen *Neisseria*-Spezies, welche üblicherweise auf diesem Medium gehemmt werden.

Die Existenz von *N. gonorrhoeae*-Stämmen, welche durch Vancomycin und Trimethoprimlactat gehemmt werden, wurde beschrieben.^{11,12} Deshalb muss auch eine nicht selektive Schokoladenagarplatte (z.B. **BD Chocolate Agar (GC Agar mit IsoVitaleX)**) inokuliert werden. Falls eine bestimmte Patientenpopulation für ein hohes Aufkommen an Vancomycin-sensiblen Stämmen bekannt ist, sollte **BD GC-Lect Agar** anstatt **BD Martin-Lewis Agar, Modified** verwendet werden.

Dieses Medium sollte nicht als alleiniges Isolierungsmedium für *N. meningitidis* für Proben aus primär sterilen Körperbereichen, z.B. Hirnflüssigkeit, verwendet werden. Eine nicht selektive Schokoladenagarplatte muss grundsätzlich mit einbezogen werden (siehe oben).

Neisseria lactamica kann auf diesem Medium wachsen und *N. meningitidis* ähnlich sehen.⁶

Obwohl bestimmte diagnostische Tests direkt auf diesem Medium durchgeführt werden können, sind für eine vollständige Identifizierung biochemische und, falls indiziert, immunologische Tests unter Verwendung von Reinkulturen erforderlich. Die geeigneten Literaturhinweise sind zu beachten.⁶

Stämme der *Capnocytophaga*-Spezies können auf diesem Medium wachsen, wenn es mit Oropharyngealproben inokuliert wurde.¹³

LITERATUR

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. 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.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Martin-Lewis Agar, Modified

Best.-Nr. 254029

Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



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