

GC agar (základ)

LC1106

Pro kultivaci a selektivní izolaci rychle se množících mikroorganismů, zejména *Neisseria gonorrhoeae* a *Haemophilus spp.*

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Selektivní izolace	<i>Neisseria</i>
Selektivní izolace	<i>Streptococcus</i>
Selektivní izolace	<i>Haemophilus</i>

Odvětví aplikace: Klinická medicína



Principy a použití

GC agar (základ) (GS Agar Base) se používá s různými přísadami k izolaci a kultivaci patogenních mikroorganismů, jako jsou *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* a *N. meningitidis*. GC Agar Base se používá s přidavkem hemoglobinu a doplňků pro přípravu čokoládového agaru a Thayer-Martinova média.

Čokoládový agar lze doplnit následujícími doplňky:

- Doplněk VCN (LC6013). Vzikne Thayer-Martinovo médium.
- Doplněk VCAT (LC6014). Pro selektivní izolaci *Neisseria*.
- Doplněk VCNT (LC6026). Používá se také k izolaci *Neisseria*.
- LCAT Supplement (LC6012). Pro izolaci patogenních neisserií.

Přídavek hemoglobinu do čokoládového agaru poskytuje hemin (faktor X), který vyžadují druhy rodu *Haemophilus* a podporuje růst druhů rodu *Neisseria*. Chemické obohacení složené z kofaktorů, vitaminů a nikotinamidadeninukleotidu (NAD) je rovněž nutné pro růst *Haemophilus* a *Neisseria spp.* V případě potřeby se přidávají antimikrobiální doplňky jako inhibitory pro zlepšení selektivity média.

Směs peptonů v základním médiu poskytuje dusík, vitamíny, minerály a aminokyseliny nezbytné pro růst. Kukuřičný škrob absorbuje veškeré produkované toxické metabolity. Dihydrogenfosforečnan draselný a fosforečnan draselný působí jako pufrční systémy. Chlorid sodný dodává základní elektrolyty pro transport a osmotickou rovnováhu. Bakteriologický agar je zpevňující činidlo.

Thayer a Martin zlepšili selektivitu GC agaru přidáním antibiotik, jako je kolistin, vankomycin nebo nystatin, aby bylo možné pěstovat náročné mikroorganismy, které vyžadují různé růstové faktory. Thayer-Martinovo médium se doporučuje pro primární izolaci *N. gonorrhoeae* a *N. meningitidis* ze vzorků se smíšenou flórou odebraných z krku, vagíny, rektu a vzorků z močové trubice. Je určeno k omezení přerůstání gonokoků a meningokoků kontaminantů, k potlačení růstu saprofytických druhů *Neisseria* a k podpoře růstu patogenních *Neisseria*. Na Thayer-Martinově médiu jsou typické kolonie *N. gonorrhoeae* bílošedé, neprůhledné, někdy lesklé, jemně zrnité, variabilní velikosti (1-2 mm), kulaté s celými nebo laločnatými okraji a po 48 hodinách inkubace slizovité.

Složení v g/l

Bakteriologický agar	10	Fosforečnan draselný	4
Kukuřičný škrob	1	Dihydrogenfosforečnan draselný	1
Směs peptonů	15	Chlorid sodný	5

Typické složení v g/l * Upraveno a/nebo doplněno podle potřeby tak, aby splňovalo kritéria účinnosti.

Příprava

Suspendujte 18 g média ve 250 ml destilované vody, abyste vytvořili dvojnásobně silný základ. Dobře promíchejte a nechte 5 minut stát. Zahřejte za častého míchání a vařte jednu minutu. Sterilizujte v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Dále autoklávujte 250 ml 2% roztoku hemoglobinu, který se připraví postupným přidáváním vody k 5 g suchého hemoglobinu, aby vznikla stejnoměrná suspenze.

Obě baňky ochladíte na 50 °C a asepticky přidejte roztok hemoglobinu do GC Agar Base a jemně promíchejte. Asepticky přidejte Polyenrichment Supplement (LC6011) na 250 ml média + 250 ml sterilního 2% roztoku hemoglobinu. Pečlivě promíchejte, aby se netvořily bubliny. Takto doplněné médium je univerzální čokoládový agar. Nalijte do destiček nebo zkumavek se šroubovacím uzávěrem. Zkumavky nechte ztuhnout pod dlouhým sklonem.

Návod k použití

Pro klinickou diagnózu je typem vzorku sekret z dýchacích cest.

- K získání izolovaných kolonií ze vzorků použijte standardní postupy.

- Vzhledem k tomu, že mnoho patogenů vyžaduje při primární izolaci oxid uhličitý, mohou být destičky inkubovány v atmosféře obsahující cca 5-10 %CO₂.

- Inkubujte při teplotě 35 ± 2 °C po dobu 40-48 hodin.

Kontrola kvality

Rozpustnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
bez zbytků	Jemný prášek	Běžová	Jantarová, lehce opaleskující	7,2±0,2

Mikrobiologický test

Inkubační podmínky: (35 ± 2 °C / 5-10 % CO₂ / 40-48 h).

Mikroorganismy	Specifikace
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	Dobry růst
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Dobry růst
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Dobry růst
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Dobry růst

Skladování

Teplota Min.: 2 °C

Teplota Max.: 25 °C

Bibliografie

Bailey a Scott. Diagnostická mikrobiologie. Páté vydání, 1978. The C.V. Mosby Company. St. Louis, USA.

Příprava Transgrow. 15. září. 1971. Venereal Disease Research Lab., C.D.C. Atlanta, Ga., USA.

Thayer, J. D. Martin J. E., 1966. Vylepšené médium selektivní pro kultivaci *N. gonorrhoeae* a *N. meningitidis*. Public Health Rep. 81. 559-562.