



BD Helicobacter Agar, Modified

НАЗНАЧЕНИЕ

BD Helicobacter Agar, Modified (модифицированный агар для изоляции хеликобактеров) — это селективная среда для изоляции *Helicobacter pylori* из образцов, взятых из желудка.

ПРИНЦИПЫ И ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ

Микробиологический метод.

После проведения первой изоляции в 1982 г. Маршаллом (Marshall) и Варреном (Warren) было доказано, что микроорганизмы *Helicobacter pylori* являются важным возбудителем инфекции, способствующим появлению хронического гастрита, заражения двенадцатиперстной кишки, язвы желудка и двенадцатиперстной кишки и некоторых типов рака желудка.^{1,2} Несмотря на то, что для диагностики часто применяются серологические тесты на присутствие антител относительно микроорганизма, для обнаружения необычно активного микроорганизма урезы, часто применяемого при диагностике, требуется культивирование, позволяющее выявить инфекцию на ранней стадии, когда реакция на антитела может отсутствовать. Кроме того, для определения результатов чувствительности к противомикробным препаратам отдельных штаммов требуется культура. Для изоляции микроорганизма, не очень требовательного к питательной среде, однако очень чувствительного к кислороду, использовалось несколько сред, так как он является микроаэрофильным и требует времени инкубации от 3 до 5 дней.³

В основе модифицированного агара для изоляции хеликобактеров **BD Helicobacter Agar, Modified** содержится колумбийский агар. Формулировка противомикробной комбинации, которая была описана Дентом (Dent) и Макналти (McNulty), состоит из ванкомицина, амфотерицина В, триметоприма и цефсулодина, что позволяет ингибировать заражающую флору без потери выделения *H. pylori*.⁴ По предложению Стивенсона (Stevenson) и его коллег концентрация цефсулодина была увеличена для улучшения ингибирования заражающей флоры.⁵ Для обеспечения дополнительных питательных веществ добавлена лизированная лошадиная кровь.

РЕАГЕНТЫ

BD Helicobacter Agar, Modified

Рецептура* на литр очищенной воды

Панкреатический гидролизат казеина	12,0 г	Агар	13,5 г
Пептический гидролизат животной ткани	5,0	Ванкомицин	0,01
Дрожжевой экстракт	3,0	Амфотерицин В	0,005
Мясной экстракт	3,0	Триметоприм	0,02
Кукурузный крахмал	1,0	Цефсулодин	0,01
Натрия хлорид	5,0	Лошадиная кровь, лизированная	7 %

pH 7,3 +/- 0,2

* При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

IVD Только для профессионального применения.

Не используйте чашки при наличии признаков бактериального заражения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта.

Прочитайте документ **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**, в котором приведено описание асептических методов работы, биологических опасностей и утилизации использованных продуктов.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

После получения храните чашки в темноте при температуре от 2 до 8 °С в оригинальной обертке до начала использования. Избегайте замораживания и перегрева. Чашки могут быть засеяны до даты истечения срока годности (см. этикетку на упаковке) и инкубированы в течение рекомендованного времени инкубации.

Чашки из открытых стопок по 10 чашек могут использоваться в течение одной недели при условии хранения с соблюдением чистоты при температуре от 2 до 8 °С.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Засейте репрезентативные образцы следующими штаммами (подробные сведения см. в документе **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**). Проводите инкубацию от 3 до 5 дней при температуре 35 – 37 °С в микроаэробной атмосфере, например в сосуде **BD GasPak** с атмосферой, предоставляемой системой **BD CampyPak** (включая катализатор) или **BD CampyPak Plus**.

Штаммы	Результаты роста
<i>Helicobacter pylori</i> ATCC 43504	Рост от хорошего до превосходного; размер колоний от микроскопического до среднего, прозрачный цвет
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Ингибирование от частичного до полного
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Ингибирование от частичного до полного
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Ингибирование от частичного до полного; рост подавляется
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Полное ингибирование
Незасеянные	Красные, полупрозрачные

МЕТОДИКА

Поставляемые материалы

BD Helicobacter Agar, Modified (чашки **Stacker** 90 мм). Свободные от микроорганизмов.

Непредоставляемые материалы

Дополнительная питательная среда, реагенты и лабораторное оборудование по мере необходимости.

Типы образцов, сбор и транспортировка

Соберите несколько свежих образцов с помощью желудочной биопсии пациента (как минимум один из антрального отдела желудка и один из тела желудка) в подходящую транспортную среду. Желудочный сок не подходит в качестве образца. Если удается транспортировать и обработать образец без промедления, может использоваться физиологический раствор. В случае задержки необходимо использовать транспортную среду, такую как среда Стюарта или **BD Port-A-Cul**, при температуре от 4 до 8 °С. Перед обработкой должно пройти не более 24 ч. Микроорганизмы очень чувствительны к высушиванию и воздействию кислорода.⁶ Было доказано, что добавление глицерина в транспортную среду позволяет улучшить жизнеспособность микроорганизмов при хранении в охлажденном состоянии (например, при +4 °С) или в состоянии заморозки.⁷

Методика тестирования

Поверхность агара должна быть гладкой и влажной, но без избытка влаги. Не следует использовать чашки с признаками высушивания, такими как сокращение среды.

Во время работы с образцами и культурами микроорганизма избегайте длительного воздействия воздуха, так как микроорганизм очень чувствителен к кислороду.⁶

Перед применением среды образцы биопсии должны быть измельчены или смешаны с небольшим количеством стерильного физиологического раствора. Гомогенат необходимо

незамедлительно поместить на поверхность среды и захватить петлей, а затем нанести на поверхность с помощью метода нанесения изоляции. Для получения полного восстановления всех содержащихся патогенных микроорганизмов необходимо засеять неселективную среду, такую как колумбийский агар с 5 % лошадиной крови **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** или шоколадный агар (агар GC с IsoVitaleX) **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**, вместе с модифицированным агаром для изоляции хеликобактеров **BD Helicobacter Agar, Modified**.

Проводите инкубацию чашек с посевом от 3 до 5 дней при температуре 35 ± 2 °C в микроаэробной атмосфере, например в сосуде **BD GasPak** с атмосферой, предоставляемой системой **BD CampyPak** (включая катализатор) или **BD CampyPak Plus**.

Результаты

После инкубации в чашках должны быть видны изолированные колонии на участках с надлежащим разбавлением посевной культуры. Колонии *Helicobacter pylori* имеют размер от микроскопического до среднего и прозрачный цвет.

Окрашивание по Граму соответствующих колоний позволяет определить грамтрицательные слегка изогнутые палочки. Быстрый тест на положительную урезу, проверка на оксидазу и каталазная реакция, которые могут быть выполнены с помощью роста в чашке с изоляционной средой (если необходимый рост доступен), позволяют выявить микроорганизмы *H. pylori*. Итоговая идентификация должна быть выполнена с помощью соответствующих биохимических тестов.⁶ При работе с культурой избегайте задержек, так как большая часть штаммов *Helicobacter pylori* может не выдержать воздействия воздуха более 30 – 45 минут.⁶ Субкультуры в соответствующих неселективных средах (см. раздел **Методика тестирования**) должны быть выполнены незамедлительно и инкубированы в соответствии с процедурой, описанной выше.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

Модифицированный агар для изоляции хеликобактеров **BD Helicobacter Agar, Modified** используется для изоляции *Helicobacter pylori* из образцов, взятых из желудка человека.^{5,6} Бактерии, отличные от *Helicobacter pylori*, могут расти в этой среде. К ним могут относиться виды *Helicobacter*, отличные от *H. pylori*, или загрязнения обычной флорой. Дополнительное дифференцирование роста в этой среде должно выполняться с помощью биохимических, морфологических или молекулярных тестов. Не следует применять образцы кала к модифицированному агару для изоляции хеликобактеров **BD Helicobacter Agar, Modified**, так как среда может быть недостаточно селективной для подавления кишечной флоры.

Данная среда не была протестирована на рост видов *Helicobacter*, отличных от вида *H. pylori*.

СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Warren, J.R., and B.J. Marshall. 1983. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* i: 1273-1275.
2. National Institutes of Health. 1994. NIH Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH Consensus Development Panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA* 272: 65-69.
3. Goodwin, C.S., and J.A. Armstrong. 1990. Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*). *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 9: 1-13.
4. Dent, J.C., and C.A.M. McNulty. 1988. Evaluation of a new selective medium for *Campylobacter pylori*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 7: 555-568.
5. Stevenson, T.H., L.M. Lucia, and G.R. Acuff. 2000. Development of a selective medium for isolation of *Helicobacter pylori* from cattle and beef samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 723-727.
6. Jerris, R.C. 1995. *Helicobacter*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

7. Han, S.W., et al. 1995. Transport and storage of *Helicobacter pylori* from gastric mucosal biopsies and clinical isolates. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14: 349-352.

УПАКОВКА И НАЛИЧИЕ

BD Helicobacter Agar, Modified

№ по каталогу 254430 Готовая к использованию среда в чашках; 20 чашек

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для получения дополнительной информации обратитесь к местному представителю компании 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, Stacker, CampyPak, and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company

© 2011 BD