

BD Helicobacter Agar, Modified

VERWENDUNGSZWECK

BD Helicobacter Agar, Modified (modifizierter Helicobacter-Agar) ist ein selektives Medium zur Isolierung von *Helicobacter pylori* aus Magenbiopsien.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Seit der ersten Isolierung im Jahre 1982 durch Marshall und Warren hat sich gezeigt, dass *Helicobacter pylori* ein wichtiger Infektionserreger ist, welcher für chronische Gastritis, Zwölffingerdarmgeschwüre, peptische Geschwüre und bestimmte Arten von Magenkarzinomen verantwortlich ist.^{1,2} Obwohl serologische Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen den Organismus oder Schnellurease-Tests zum Nachweis der ungewöhnlich aktiven Urease des Organismus häufig zur Diagnose verwendet werden, ist eine Kultur zum Nachweis einer frühen Infektion notwendig, wenn eine Antikörperreaktion möglicherweise noch aussteht. Außerdem ist zur Bestimmung des antimikrobiellen Empfindlichkeitsmusters von einzelnen Stämmen eine Kultivierung notwendig. Verschiedene Medien werden zur Isolierung dieses Organismus verwendet, welcher nicht sehr anspruchsvoll, aber sehr sauerstoffempfindlich ist, da es sich um einen mikroaerophilen Organismus handelt, der eine Inkubationszeit von 3 – 5 Tagen benötigt.³

BD Helicobacter Agar, Modified enthält Columbia-Agar als Basis. Die antimikrobielle Kombination entspricht der von Dent und McNulty beschriebenen Rezeptur, welche Kombinationen von Vancomycin, Amphotericin B, Trimethoprim und Cefsulodin zur Hemmung der kontaminierenden Flora enthält, ohne jedoch die Isolierung von *H. pylori* zu beeinträchtigen.⁴ Wie von Stevenson und Mitarbeitern vorgeschlagen wurde der Cefsulodin-Gehalt erhöht, um eine verbesserte Hemmung der kontaminierenden Flora zu erreichen.⁵ Lysiertes Pferdeblut liefert zusätzliche Nährstoffe.

REAGENZIEN

BD Helicobacter Agar, Modified

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	12,0 g	Agar	13,5 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	5,0	Vancomycin	0,01
Hefeextrakt	3,0	Amphotericin B	0,005
Rindfleischextrakt	3,0	Trimethoprim	0,02
Maisstärke	1,0	Cefsulodin	0,01
Natriumchlorid	5,0	Pferdeblut, lysiert	7 %

pH 7,3 ±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.

LAGERUNG 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 3 – 5 Tage bei 35 – 37 °C in einer mikroaeroben Atmosphäre, z.B. in einem **BD GasPak**-Glas in einer mit **BD CampyPak** System (einschließlich Katalysator) oder **BD CampyPak Plus** geschaffenen Atmosphäre, inkubieren.

Stämme	Wachstum
<i>Helicobacter pylori</i> ATCC 43504	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum; winzige bis mittelgroße, transparente Kolonien
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	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; gehemmtes Schwärmen
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Vollständig gehemmtes Wachstum
Nicht inokuliert	Burgunderfarben, leicht transparent

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

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

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenentnahme und Transport

Mehrere frische Magenbiopsie-Proben eines Patienten in ein geeignetes Transportmedium geben, wovon mindestens eine aus dem Antrum und eine aus dem Magenkörper stammen sollte. Magensaft ist keine geeignete Probe. Wenn die Probe unverzüglich transportiert und verarbeitet wird, kann physiologische Kochsalzlösung verwendet werden. Wird jedoch eine Verzögerung erwartet, muss ein Transportmedium, wie z.B. Stuarts Medium oder **BD Port-A-Cul** verwendet und bei 4 – 8 °C aufbewahrt werden, jedoch nicht länger als 24 h bis zur Verarbeitung. Der Organismus ist extrem empfindlich gegenüber Austrocknung und Sauerstoffexposition.⁶ Es hat sich gezeigt, dass die Zugabe von Glycerin zu den Transportmedien die Lebensfähigkeit verbessert, wenn die Proben gekühlt aufbewahrt (z.B. bei +4 °C) oder eingefroren werden.⁷

Testverfahren

Die Agaroberfläche sollte glatt und feucht, jedoch nicht übermäßig feucht sein. Platten, welche Anzeichen von Austrocknung zeigen, wie z.B. Schrumpfung des Mediums, dürfen nicht verwendet werden.

Während der Handhabung der Proben und Kulturen des Organismus muss eine längere Sauerstoffexposition vermieden werden, da der Organismus sehr sauerstoffempfindlich ist.⁶ Biopsie-Proben sollten vor dem Auftrag auf das Medium mit einer kleinen Menge steriler physiologischer Kochsalzlösung zermahlen oder zerkleinert werden. Das Homogenat sofort auf die Mediumoberfläche platzieren, mit der Öse fassen, und mit Hilfe einer Isolierungs-Ausstrichmethode auf der Oberfläche ausstreichen. Ein nicht selektives Medium, wie z.B. **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** oder **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** sollte zusammen mit **BD Helicobacter Agar, Modified** inokuliert werden, um eine vollständige Isolierung der enthaltenen Erreger zu erhalten.

Platten 3 – 5 Tage bei 35 ± 2 °C in einer mikroaeroben Atmosphäre, z.B. in einem **BD GasPak**-Glas in einer mit **BD CampyPak** System (einschließlich Katalysator) oder **BD CampyPak Plus** geschaffenen Atmosphäre, inkubieren.

Ergebnisse

Nach der Inkubation sollten die Platten in den Bereichen mit korrekt verdünntem Inokulum isolierte Kolonien aufweisen. *Helicobacter pylori*-Kolonien sind winzig bis mittelgroß und transparent.

Eine Gramfärbung der jeweiligen Kolonien wird gramnegative, leicht gekrümmte Stäbchen enthüllen. Eine, positive, schnelle Urease-, Oxidase- und Katalasereaktion, welche direkt mit dem Wachstum von der Isolierungsplatte durchgeführt werden kann (falls genügend Wachstum vorhanden ist), lässt auf *H. pylori* schließen. Die endgültige Identifizierung ist mit geeigneten biochemischen Tests durchzuführen.⁶ Während der Handhabung der Kultur sollten zeitliche Verzögerungen vermieden werden, da die meisten *Helicobacter pylori*-Stämme eine Sauerstoffexposition von über 30 – 45 min. nicht überleben. Subkulturen auf geeigneten nicht selektiven Medien (siehe **Testverfahren**) sollten sofort angelegt und wie oben beschrieben inkubiert werden.

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD Helicobacter Agar, Modified wird zur Isolierung von *Helicobacter pylori* aus menschlichen Magenbiopsien verwendet.^{5,6}

Auch andere Bakterien als *Helicobacter pylori* können auf diesem Medium wachsen. Dazu gehören auch andere *Helicobacter*-Spezies als *H. pylori* oder Kontaminanten aus der normalen Flora.

Das auf diesem Medium erzielte Wachstum muss mit Hilfe von biochemischen, morphologischen oder molekularen Tests weiter differenziert werden. Stuhlproben sollten nicht auf **BD Helicobacter Agar, Modified** aufgebracht werden, da das Medium zur Unterdrückung der Darmflora unter Umständen nicht selektiv genug ist.

Dieses Medium wurde nicht auf das Wachstum anderer *Helicobacter*-Spezies, als *H. pylori* getestet.

LITERATUR

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.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Helicobacter Agar, Modified

Best.-Nr. 254430

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, Stacker, CampyPak, and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company

© 2011 BD