BD Helicobacter Agar, Modified

USO PREVISTO
BD Helicobacter Agar, Modified è un terreno selettivo per l'isolamento di *Helicobacter pylori* da campioni gastrici.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA
Metodo microbiologico.
Sin da quando è stato isolato per la prima volta da Marshall e Warren, nel 1982, *Helicobacter pylori* ha rappresentato un importante agente infettivo causa di gastrite cronica, ulcera peptica duodenale e alcuni tipi di neoplasie gastriche.[1,2] Benché i test sierologici per la presenza di anticorpi antibatterici o i test rapidi dell'ureasi, che rilevano l'iperattività dell'ureasi del microrganismo, siano spesso utilizzati per la diagnosi, la coltura è indispensabile per rilevare precocemente un'infezione quando è ancora assente la reazione degli anticorpi. La coltura, inoltre, è necessaria per stabilire i criteri di sensibilità antimicrobica dei singoli ceppi. Sono stati usati vari terreni per isolare il microrganismo, che non è particolarmente esigente ma è molto sensibile all'ossigeno, essendo microaerofilo, e richiede un periodo di incubazione di 3 – 5 giorni.[3]
BD Helicobacter Agar, Modified contiene come base l'agar Columbia. Questa combinazione antimicrobica è il preparato descritto da Dent e McNulty, che contiene varie combinazioni di vancomicina, amfotericina B, trimethoprim e cefsulodina per inibire la flora contaminante senza peraltro ostacolare il rilevamento di *H. pylori*.[4] Come suggerito da Stevenson e colleghi, la concentrazione di cefsulodina è stata aumentata per migliorare l'inibizione della flora contaminante.[5] Il sangue lisato di cavallo viene aggiunto per fornire ulteriori sostanze nutritive.

REAGENTI
BD Helicobacter Agar, Modified
Formula* per litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	12,0 g	Agar	13,5 g
Digerito peptico di tessuto animale	5,0	Vancomicina	0,01
Estratto di lievito	3,0	Amfotericina B	0,005
Estratto di carne bovina	3,0	Trimethoprim	0,02
Amido di granturco	1,0	Cefsulodina	0,01
Cloruro di sodio	5,0	Sangue lisato di cavallo	7%

pH 7,3 ± 0,2
*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

PRECAUZIONI
IVD . Solo per uso professionale.
Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazioni di colore, essiccamento, incrinature o altri segni di deterioramento.
Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE
Alla consegna, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C nella confezione originaria fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per informazioni più dettagliate, v. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare a 35 – 37 °C in atmosfera microaerobica, ad es. in un contenitore **BD GasPak** con atmosfera ottenuta usando il sistema **BD CampyPak** (con catalizzatore) o **BD CampyPak Plus**, per 3 – 5 giorni.

Ceppi	**Risultati della crescita**
Helicobacter pylori ATCC 43504	Crescita da buona a eccellente, colonie trasparenti da minuscole a medie
Candida albicans ATCC 10231	Inibizione da parziale a completa
Escherichia coli ATCC 25922	Inibizione da parziale a completa
Proteus mirabilis ATCC 43071	Inibizione da parziale a completa, sciamatura inibita
Staphylococcus aureus ATCC 29213	Inibizione completa
Non inoculate	Rosso bordeaux, lievemente trasparenti

PROCEDURA

Materiali forniti

BD Helicobacter Agar, Modified (piastre impilate **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Tipologia, prelievo e trasporto dei campioni

Prelevare mediante biopsia diversi campioni gastrici freschi, almeno uno dall'antro e uno dal corpo dello stomaco, e disporre su un terreno di trasporto adatto. Il succo gastrico non è adatto come campione. Se il campione può essere trasportato e trattato in breve tempo, è sufficiente la soluzione fisiologica. Per tempi più lunghi, utilizzare mezzi di trasporto come il terreno di Stuart o **BD Port-A-Cul**, conservando a 4 – 8 °C per non più di 24 h prima di trattare il campione. Il microrganismo è estremamente sensibile all'essiccamento e all'esposizione all'ossigeno.[6]
L'aggiunta di glicerolo ai terreni di trasporto ne migliora la vitalità se vengono refrigerati (ad es. a +4 °C) o congelati.[7]

Procedura del test

La superficie dell'agar deve essere liscia e umida, ma senza eccessiva umidità. Non usare piastre che mostrino segni di essiccamento, come il restringimento del terreno.
Evitare una prolungata esposizione all'aria durante il trattamento dei campioni e la coltura del batterio, in quanto il microrganismo è particolarmente sensibile all'ossigeno.[6]
Tritare o macinare i campioni bioptici in un piccolo quantitativo di soluzione fisiologica sterile prima di disporli sul terreno. Disporre immediatamente l'omogeneizzato sul terreno e strisciare la superficie con un'ansa applicando la tecnica di isolamento. Per individuare tutti i patogeni coinvolti, inoculare oltre a **BD Helicobacter Agar, Modified** anche un terreno non selettivo, come **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** o **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**.
Incubare le piastre inoculate a 35 ± 2 °C per 3 – 5 giorni in atmosfera microaerobica, ad es. in un contenitore **BD GasPak** con atmosfera ottenuta usando il sistema **BD CampyPak** (con catalizzatore) o **BD CampyPak Plus**.

Risultati

Dopo il periodo di incubazione, le piastre dovrebbero mostrare colonie isolate nelle aree dove l'inoculo è stato correttamente diluito. Le colonie di *Helicobacter pylori* sono da minuscole a medie e trasparenti.
Alla colorazione di Gram le rispettive colonie rivelano bacilli Gram-negativi lievemente ricurvi. La presenza di *H. pylori* è indicata dalla positività della reazione rapida dell'ureasi, dell'ossidasi e

della catalasi, che viene eseguita direttamente utilizzando la crescita della piastra di isolamento (qualora la crescita sia sufficiente). Per l'identificazione definitiva, utilizzare gli appropriati test biochimici.[6] Evitare di protrarre il trattamento della coltura, perché molti ceppi di *Helicobacter pylori* non sopravvivono all'esposizione all'aria per più di 30 – 45 min.[6] Eseguire immediatamente le subcolture su appropriati terreni non selettivi (v. **Procedura del test**) e incubarle come descritto in precedenza.

PERFORMANCE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD Helicobacter Agar, Modified è utilizzato per l'isolamento di *Helicobacter pylori* da campioni gastrici.[5,6]
Su questo terreno possono crescere batteri diversi da *Helicobacter pylori*, fra cui *Helicobacter* spp. diverse da *H. pylori* o contaminanti appartenenti alla normale microflora.
La crescita su questo terreno deve essere ulteriormente differenziata usando test biochimici, morfologici o molecolari. Non usare campioni di feci su **BD Helicobacter Agar, Modified**, perché il terreno potrebbe non essere sufficientemente selettivo per sopprimere la flora intestinale.

Questo terreno non è stato testato per sostenere la crescita di *Helicobacter* spp. diverse da *H. pylori*.

BIBLIOGRAFIA

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. Yolken (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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Helicobacter Agar, Modified
N. di cat. 254430 Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.

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