



BD Helicobacter Agar, Modified

PRZEZNACZENIE

BD Helicobacter Agar, Modified jest selektywnym podłożem przeznaczonym do izolowania *Helicobacter pylori* z próbek pobranych z żołądka.

ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.

Od czasu pierwszego wyizolowania *Helicobacter pylori* w 1982 r. przez Marshalla i Warrena drobnoustroj ten okazał się ważnym czynnikiem zakaźnym, odpowiedzialnym za przewlekłe zapalenie żołądka, wrzody żołądka i dwunastnicy oraz pewne typy raka żołądka.^{1,2} Wprawdzie w diagnostyce często stosowane są testy serologiczne na obecność przeciwciał przeciwko temu drobnoustrojowi lub szybkie testy na ureazę, wykrywające nietypową aktywność ureazową bakterii, jednak do wykrycia wczesnej infekcji, gdy odpowiedź na przeciwciała może wciąż nie występować, niezbędne jest wykonanie hodowli. Ponadto, hodowla jest konieczna do określenia wrażliwości poszczególnych szczepów na antybiotyki. Do izolowania tego drobnoustroju wykorzystuje się różne podłoża. Bakteria ta nie ma zbyt wysokich wymagań odżywczych, lecz jest bardzo wrażliwa na tlen, gdyż jest ona mikroorganizmem mikroaerofilnym, wymagającym inkubacji przez 3–5 dni.³

Podłoże **BD Helicobacter Agar, Modified** jako bazę zawiera Columbia Agar. Kombinacja czynników przeciwbakteryjnych zawartych w opisywanym podłożu została po raz pierwszy opracowana przez Dent i McNulty. Jest to połączenie wankomycyny, amfoterycyny B, trimetoprimu i cefsulodyny, które hamuje wzrost flory zanieczyszczającej, nie hamując przy tym *H. pylori*.⁴ Zgodnie z propozycją Stevensona i wsp., zwiększone zostało stężenie cefsulodyny dla jeszcze lepszego hamowania wzrostu flory fizjologicznej.⁵ Źródłem dodatkowych czynników odżywczych jest lizat krwi końskiej.

ODCZYNNIKI

BD Helicobacter Agar, Modified

Skład* w przeliczeniu na jeden litr wody oczyszczonej

Trzustkowy hydrolizat kazeiny	12,0 g	Agar	13,5 g
Hydrolizat pepsynowy tkanki zwierzęcej	5,0	Wankomycyna	0,01
Wyciąg drożdżowy	3,0	Amfoterycyna B	0,005
Wyciąg wołowy	3,0	Trimetoprim	0,02
Skrobia kukurydziana	1,0	Cefsulodyna	0,01
Chlorek sodu	5,0	Krew końska, lizat	7%

pH 7,3 ± 0,2

*Skorygowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów wydajności.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych. Ⓢ

Nie należy używać płytek, jeżeli są na nich widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne zjawiska wskazujące na pogorszenie jakości. Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz usuwanie zużytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA**.

WARUNKI I OKRES PRZECHOWYWANIA

Dostarczone płytki należy umieścić w zacienionym pomieszczeniu, w temperaturze od 2 do 8°C, w oryginalnych opakowaniach w formie rękawa, aż do momentu użycia. Nie zamrażać i nie przegrzewać. Płytki należy wykorzystać do posiewu bakterii przed upływem daty ważności (zobacz etykietę na opakowaniu) i inkubować zgodnie z zalecanymi czasami inkubacji. Płytki z otwartego opakowania zawierającego 10 płytek mogą zostać użyte w ciągu tygodnia pod warunkiem przechowywania w czystym miejscu, w temperaturze od 2 do 8°C.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Podłoża zaszczenia się reprezentatywnymi próbkami wymienionych szczepów (szczegółowe informacje – zobacz dokument **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA**). Inkubować w temperaturze 35–37°C w atmosferze tlenowej, np. w pojemniku **BD GasPak** z atmosferą wytworzoną przez system **BD CampyPak** (z katalizatorem) lub system **BD CampyPak Plus**, przez 3 do 5 dni.

Szczepy bakteryjne	Wzrost
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC™ 43504	Wzrost dobry lub bardzo dobry; kolonie od bardzo małych do średnich, przejrzyste
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu; zahamowanie stopniowego wzrostu kolonii
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Całkowite zahamowanie wzrostu
Bez posiewu	Kolor czerwieni burgundzkiej, nieznacznie przejrzyste

PROCEDURA

Dostarczane materiały

Podłoże **BD Helicobacter Agar, Modified** (płytki **Stacker** o śr. 90 mm). Sprawdzane pod kątem obecności mikroorganizmów.

Materiały niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Rodzaje, pobieranie i transport próbek

Od pacjenta należy pobrać kilka świeżych próbek z biopsji żołądka, co najmniej jedną z jamy odźwiernikowej i jedną z trzonu. próbki umieścić w odpowiednim podłożu transportowym. Sok żołądkowy nie stanowi odpowiedniej próbki. Jeśli istnieje możliwość niezwłocznego przetransportowania próbki i jej wykorzystania, wówczas można użyć roztworu fizjologicznego. W przypadku przewidywanego opóźnienia należy użyć podłoża transportowego takiego jak podłoże Stuarta lub podłoże **BD Port-A-Cul**. Do czasu rozpoczęcia pracy podłoże z próbką można przechowywać w temperaturze 4–8°C, jednak nie dłużej niż 24 godziny. Badana bakteria jest niezwykle wrażliwa na wysychanie i ekspozycję na tlen.⁶ Wykazano, że dodanie glicerolu do podłoża transportowego poprawia przeżywalność bakterii, o ile są one przechowywane w warunkach chłodniczych (np. w temperaturze +4°C) lub zamrożone.⁷

Procedura testowa

Powierzchnia podłoża agarowego powinna być gładka i wilgotna, lecz bez nadmiernej wilgoci. Nie należy używać płytek wykazujących oznaki wysychania, takie jak obkurczanie się podłoża. Podczas pracy z próbkami i hodowlami należy unikać przedłużonej ekspozycji na powietrze, gdyż badany drobnoustrój jest bardzo wrażliwy na tlen.⁶

Przed umieszczeniem próbek biopsyjnych na podłożu należy je rozdrobnić lub posiekać i umieścić w niewielkiej ilości sterylnego roztworu fizjologicznego. Taki homogenat należy niezwłocznie umieścić na powierzchni podłoża, a następnie uchwycić go eżą i rozprowadzić po całej powierzchni, stosując metodę posiewu do izolacji. W celu pełnego wyizolowania patogenów występujących w próbce należy wykonać posiew także na podłoże nieselektywne,

takie jak **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** lub **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**.

Zaszczepione płytki inkubować przez 3 do 5 dni w temperaturze $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ w atmosferze mikroaerobowej, np. w pojemniku **BD GasPak** z atmosferą wytworzoną przez system **BD CampyPak** (z katalizatorem) lub system **BD CampyPak Plus**.

Wyniki

Po inkubacji na płytkach powinny pojawić się pojedyncze kolonie w miejscach posiewu odpowiedniego rozcieńczonego inokulum. Kolonie *Helicobacter pylori* są małe lub średniej wielkości, przejrzyste.

Barwienie materiału z tych kolonii metodą Grama ujawnia Gram-ujemne, nieznacznie zakrzywione pałeczki. Obecność *H. pylori* potwierdzają dodatnie wyniki szybkich reakcji na ureazę, oksydazę i katalazę, które można wykonać bezpośrednio na materiale z płytki do izolacji (o ile występuje na niej wystarczający wzrost). Ostateczną identyfikację należy przeprowadzić za pomocą odpowiednich testów biochemicznych.⁶ Podczas pracy z hodowlą należy unikać przestojów, gdyż większość szczepów *Helicobacter pylori* nie przeżywa ekspozycji na powietrze przez czas dłuższy niż 30 do 45 minut.⁶ Niezwłocznie należy wykonać hodowle pochodne na odpowiednich podłożach nieselektywnych (zobacz **Procedura testowa**) i poddać je inkubacji w opisanych powyżej warunkach.

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW I OGRANICZENIA DOTYCZĄCE PROCEDURY

Podłoże **BD Helicobacter Agar, Modified** jest używane do izolowania *Helicobacter pylori* z próbek pobranych z żołądka ludzi.^{5,6}

Na podłożu tym czasem obserwuje się wzrost bakterii innych niż *Helicobacter pylori*. Należą do nich gatunki z rodzaju *Helicobacter* inne niż *H. pylori* oraz zanieczyszczenia pochodzące z fizjologicznej flory bakteryjnej.

Kolonie uzyskane na opisywanym podłożu należy dodatkowo zróżnicować za pomocą testów biochemicznych, morfologicznych lub molekularnych. Na podłożu **BD Helicobacter Agar, Modified** nie należy umieszczać próbek kału, gdyż podłoże to zazwyczaj nie jest wystarczająco selektywne, aby zahamować wzrost flory jelitowej.

Podłoże to nie było badane pod kątem wzrostu gatunków z rodzaju *Helicobacter* innych niż *H. pylori*.

PIŚMIENNICTWO

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.

PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ

BD Helicobacter Agar, Modified

Nr katalogowy 254430 Gotowe podłoża na płytkach
hodowlanych, cpu 20

DODATKOWE INFORMACJE

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy się skontaktować z lokalnym przedstawicielem firmy 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