



BD Helicobacter Agar, Modified

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD Helicobacter Agar, Modified** é um meio selectivo utilizado no isolamento da *Helicobacter pylori* proveniente de amostras gástricas.

PRINCÍPIO E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

Desde que foi isolada pela primeira vez em 1982 por Marshall and Warren, que se tem verificado que a *Helicobacter pylori* é um importante agente infeccioso, responsável pela gastrite crónica, úlceras pépticas e duodenais e certos tipos de cancro do estômago.^{1,2} Embora se utilize frequentemente, para elaboração do diagnóstico, testes serológicos para detectar a presença de anticorpos contra o organismo ou testes de urease rápidos (que detectam a urease invulgarmente activa do organismo), é necessário utilizar técnicas de cultivo para detectar o começo de uma infecção, quando ainda não se verificou a resposta do anticorpo. Além disso, é necessário o cultivo para determinar o padrão de sensibilidade antimicrobiana das estirpes individuais. Têm sido usados vários meios para o isolamento do organismo, que não é extremamente exigente, mas é muito sensível ao oxigénio, dado tratar-se de um microaerófilo, e necessita de um período de incubação de 3 a 5 dias.³

O **BD Helicobacter Agar, Modified** contém a Agar Columbia como base. A combinação antimicrobiana é a formulação descrita por Dent e McNulty, que contém combinações de vancomicina, anfotericina B, trimetoprim e cefsulodina para inibir a flora contaminante, sem prejudicar o isolamento da *H. pylori*.⁴ De acordo com a proposta de Stevenson e colegas, a concentração de cefsulodina foi aumentada para proporcionar uma melhor inibição da flora contaminante.⁵ Também foi adicionado sangue de cavalo lisado para fornecer nutrientes adicionais.

REAGENTES

BD Helicobacter Agar, Modified

Fórmula* por Litro de Água Purificada

Hidrolisado pancreático de caseína	12,0 g	Agar	13,5 g
Hidrolisado péptico de tecido animal	5,0	Vancomicina	0,01
Extracto de leveduras	3,0	Anfotericina B	0,005
Extracto de bovino	3,0	Trimetoprim	0,02
Amido de milho	1,0	Cefsulodina	0,01
Cloreto de sódio	5,0	Sangue de cavalo, lisado	7%

pH 7,3 ± 0,2

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

PRECAUÇÕES

IVD . Apenas para uso profissional.

Não utilizar as placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura, fissuras ou outros sinais de deterioração.

Consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO** para informação sobre os procedimentos de manuseamento asséptico, os riscos biológicos e os procedimentos de eliminação do produto usado.

ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após recepção das placas, conservar no escuro a uma temperatura entre 2 e 8°C, dentro do invólucro original até ao momento da utilização. Evitar congelar e aquecer excessivamente. As placas podem ser inoculadas até ao prazo de validade (ver a etiqueta da embalagem) e incubadas durante o tempo de incubação recomendado.

As placas são fornecidas em pilhas de 10 e, quando uma destas pilhas é aberta, as respectivas placas terão de ser utilizadas no prazo máximo de uma semana, se forem conservadas em local limpo a uma temperatura entre 2 e 8°C.

CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR

Inocular amostras representativas com as seguintes estirpes (para mais detalhes, consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO**). Incubar a uma temperatura entre 35 e 37°C em atmosfera aeróbia, por exemplo, num frasco **BD GasPak**, com uma atmosfera conseguida com o sistema **BD CampyPak** (incluindo o catalisador) ou com o sistema **CampyPak Plus**, durante 3 a 5 dias.

Estirpes	Resultados de Crescimento
<i>Helicobacter pylori</i> ATCC 43504	Crescimento bom a excelente; colónias transparentes de tamanho pequeno a médio
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Inibição parcial a completa
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibição parcial a completa
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Inibição parcial a completa; proliferação inibida
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Inibição completa
Não inoculadas	Vermelho Burgundy, ligeiramente transparente

PROCEDIMENTO

Material fornecido

BD Helicobacter Agar, Modified (placas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlados.

Material não fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Tipos, colheita e transporte de amostra

Efectuar a colheita de várias amostras de biópsia gástrica fresca do doente, pelo menos uma do antro gástrico e uma do corpo, num meio de transporte adequado. O suco gástrico não é uma amostra adequada. Se a amostra puder ser transportada e processada imediatamente, pode utilizar-se soro fisiológico. Se for esperado um atraso, devem ser usados meios de transporte tais como o meio de Stuart ou o meio **BD Port-A-Cul**, mantidos a uma temperatura entre 4 e 8°C, durante um período não superior a 24 h antes do processamento da amostra. O organismo é extremamente sensível à dessecação e à exposição ao oxigénio.⁶ Contudo, verificou-se que a adição de glicerol ao meio de transporte aumentava a sua viabilidade, se este fosse mantido no frio (por exemplo, a +4°C) ou congelado.⁷

Procedimento do teste

A superfície do ágar deve estar lisa e húmida, mas sem humidade excessiva. As placas que tenham sinais de dessecação, como encolhimento do meio, não devem ser utilizadas.

Durante o manuseamento das amostras e das culturas do organismo, evitar uma exposição prolongada ao ar, dado que o organismo é muito sensível ao oxigénio.⁶

O material das biópsias deve ser moído ou picado com uma pequena quantidade de soro fisiológico estéril, antes de ser aplicado ao meio. O homogenado deve ser colocado imediatamente na superfície do meio e deve ser preso com a ansa e depois espalhado sobre a superfície. Um meio não selectivo, tal como o **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** ou o **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**, deve ser inoculado juntamente com o **BD Helicobacter Agar, Modified**, para se obter o isolamento total dos agentes patogénicos envolvidos.

Incubar as placas inoculadas durante 3 a 5 dias, a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, numa atmosfera microaeróbia, por exemplo, num frasco **BD GasPak**, com uma atmosfera conseguida com o sistema **BD CampyPak** (incluindo o catalisador) ou com o sistema **CampyPak Plus**.

Resultados

Após a incubação, as placas devem mostrar colónias isoladas nas áreas onde o inóculo foi diluído correctamente. As colónias de *Helicobacter pylori* têm uma dimensão pequena a média e são transparentes.

Uma estirpe Gram das respectivas colónias, revelará bastonetes Gram negativos, ligeiramente curvos. Uma reacção rápida positiva à catalase, oxidase e urease, que pode ser realizada directamente com o crescimento do isolado (se estiver disponível um crescimento suficiente), é indicativo da presença de *H. pylori*. A identificação final deve ser efectuada com o auxílio de testes bioquímicos apropriados.⁶ Durante o manuseamento da cultura, evitar atrasos, dado que a maior parte das estirpes de *H. Pylori* não sobrevivem a uma exposição ao ar durante mais de 30 a 45 min.⁶ Devem ser realizadas imediatamente repicagens em meios não selectivos apropriados (ver **Procedimento do Teste**) e incubadas como descrito acima.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O **BD Helicobacter Agar, Modified** é utilizado no isolamento da *Helicobacter pylori* proveniente de amostras gástricas humanas.^{5,6}

Neste meio podem crescer outras bactérias além da *Helicobacter pylori*. Isto pode incluir outras espécies *Helicobacter* ou contaminantes da flora normal.

O crescimento deste meio deve ser diferenciado através de testes moleculares, morfológicos e bioquímicos. Não se deve utilizar amostras de fezes com o meio **BD Helicobacter Agar, Modified**, dado que o meio pode não ser suficientemente selectivo para suprimir a flora intestinal.

Este meio não foi testado para o crescimento de outras espécies *Helicobacter*, além 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. 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.

EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

BD Helicobacter Agar, Modified

No. de cat. 254430

Meios em placas prontos a usar, 20 placas

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para obter informações adicionais, contacte o representante local da 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