



BD Helicobacter Agar, Modified

POUŽITIE

BD Helicobacter Agar, Modified (Pôda BD pre baktérie *Helicobacter*, modifikovaná) je selektívna pôda na izoláciu organizmov *Helicobacter pylori* zo žalúdočných vzoriek.

PRINCÍPY A VYSVETLENIE POSTUPU

Mikrobiologická metóda.

Od prvej izolácie baktérie *Helicobacter pylori* Marshallom a Warrenom v roku 1982 sa preukázalo, že je to dôležitá infekčná baktéria zodpovedná za chronickú gastritídu, duodenálne, peptické vredy a niektoré typy rakoviny žalúdka.^{1,2} Aj keď sa na diagnostiku často používajú sérologické testy na prítomnosť protilátok proti tomuto organizmu alebo testy na rýchlu urinázu, ktoré detekujú nezvyčajne aktívnu urinázu organizmu, na detekciu skorej infekcie, keď ešte stále chýba odpoveď protilátok, je potrebná kultúra. Ďalej je potrebná kultúra na určenie schémy bakteriostatickej citlivosti jednotlivých kmeňov. Na izoláciu organizmu, ktorý nie je veľmi náročný, no je veľmi citlivý na kyslík, pretože je to mikroaerofilný organizmus a vyžaduje inkubačnú dobu 3 až 5 dní, sa používajú mnohé pôdy.³

BD Helicobacter Agar, Modified obsahuje ako bázu Columbia Agar. Dent a McNulty popísali zmes tvorenú kombináciou antibiotík – vankomycínu, amfotericínu B, trimethoprimu a cefsulodinu na inhibíciu kontaminovanej flóry bez zlyhania izolácie *H. pylori*.⁴ Ako navrhol Stevenson a kolegovia, zvýšila sa koncentrácia cefsulodinu, aby bola možná zlepšená inhibícia kontaminovanej flóry.⁵ Dodatočné živiny poskytuje prídavok lyzovanej konskej krvi.

ZLOŽENIE

BD Helicobacter Agar, Modified

Zloženie* na jeden liter deionizovanej vody

Kazeínový hydrolyzát	12,0 g	Agar	13,5 g
Bakteriologický peptón	5,0	Vankomycín	0,01
Kvasničný extrakt	3,0	Amfotericín B	0,005
Hovädzí extrakt	3,0	Trimethoprim	0,02
Kukurličný škrob	1,0	Cefsulodin	0,01
Chlorid sodný	5,0	Konská krv, lyzovaná	7%

pH 7,3 +/- 0,2

*Upravené alebo doplnené podľa potreby, aby boli splnené analytické parametre.

UPOZORNENIA

IVD . Iba na profesionálne použitie.

Pôdu nepoužívajte, ak nesie známky mikrobiálnej kontaminácie, zmeny farby, vysušenia, prasknutia alebo iné znaky poškodenia.

Ďalšie informácie o postupoch pri práci s aseptikami, o biologicky nebezpečnom odpade a likvidácii použitého produktu nájdete v dokumente **VŠEOBECNÉ POKYNY NA POUŽÍVANIE**.

USKLADNENIE A ŽIVOTNOSŤ

Prijaté misky s pôdou uskladňujte na tmavom mieste pri teplote 2 až 8 °C v pôvodnom obale až do začiatku používania. Nezmrazujte a nevystavujte nadmerným teplotám. Pôdy sa môžu použiť na kultiváciu až do dňa expirácie (uvedeného na obale) a môžu byť inkubované podľa odporúčania.

Pôdy z otvorených balení po 10 kusov sa môžu používať jeden týždeň (ak sú uskladnené na čistom mieste pri teplote 2 až 8 °C).

KONTROLA KVALITY UŽÍVATEĽOM

Reprezentatívne vzorky naočkujte nasledujúcimi kmeňmi (ďalšie informácie nájdete v dokumente **VŠEOBECNÉ POKYNY NA POUŽÍVANIE**). Misky inkubujte pri teplote 35 až 37 °C v mikroaeróbnom prostredí, napríklad v nádobe **BD GasPak** s prostredím vytvoreným pomocou systému **BD CampyPak** (vrátane katalyzátora) alebo systému **BD CampyPak Plus** počas 3 až 5 dní.

Kmene	Výsledky rastu
<i>Helicobacter pylori</i> ATCC 43504	Rast dobrý až výborný; drobné až stredné transparentné kolónie
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Čiastočná až úplná inhibícia
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Čiastočná až úplná inhibícia
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Čiastočná až úplná inhibícia; plazenie inhibované
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Úplná inhibícia
Nenaočkované	Farba burgundská červeň, trochu transparentné

POSTUP

Dodávaný materiál

BD Helicobacter Agar, Modified (90 mm Petriho misky **Stacker**). Mikrobiologicky kontrolované.

Nedodávaný materiál

Pomocné kultivačné pôdy, činidlá a potrebné laboratórne vybavenie.

Typy vzoriek, ich odber a prenos

Do vhodnej pôdy na prenos odoberte pacientovi niekoľko čerstvých vzoriek z biopsie žalúdka, aspoň jednu zo žalúdočkovej dutiny a jednu z tela žalúdka. Žalúdočné šťavy sú nevhodnou vzorkou. Ak možno vykonať prenos a spracovanie vzorky okamžite, možno použiť fyziologický roztok. Ak bude spracovanie prebiehať neskôr, je nutné použiť pôdu na prenos, napríklad Stuartovu pôdu alebo pôdu **BD Port-A-Cul**, a uchovať ju pri teplote 4 až 8 °C nie dlhšie ako 24 hodín pred spracovaním. Tento organizmus je veľmi citlivý na vysušenie a vystavenie kyslíku.⁶ Preukázalo sa, že prídavok glycerolu do pôdy na prenos zlepšuje jeho životaschopnosť pri uchovaní v chlade (napríklad pri teplote + 4 °C) alebo zmrazení.⁷

Postup testu

Povrch agaru má byť vlhký a rovný, ale bez prílišnej vlhkosti. Misky vykazujúce znaky vyschnutia, ako je napríklad zmrštenie pôdy, sa nesmú používať.

Počas práce so vzorkami a kultúrami organizmu ich nevystavujte nadlho vzduchu, pretože tento organizmus je veľmi citlivý na kyslík.⁶

Pred aplikovaním vzoriek z biopsie na pôdu je nutné rozdrviť alebo pomlieť ich s malým množstvom sterilného fyziologického roztoku. Homogenát je nutné okamžite umiestniť na povrch pôdy, chytiť kľučkou a rozotrieť po povrchu za účelom izolácie. Aby bola zaistená úplná izolácia prítomných patogénov, s pôdou **BD Helicobacter Agar, Modified** je nutné zaočkovať aj neselektívnu pôdu, napríklad **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** alebo **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**.

Naočkované misky inkubujte 3 až 5 dní pri teplote 35 ± 2 °C v mikroaeróbnom prostredí, napríklad v nádobe **BD GasPak** s prostredím vytvoreným pomocou systému **BD CampyPak** (vrátane katalyzátora) alebo systému **BD CampyPak Plus**.

Výsledky

Po inkubácii sa na miskách ukážu izolované kolónie v oblastiach, kde bola očkovacia látka vhodne zriedená. Kolónie *Helicobacter pylori* sú drobné až stredne veľké a transparentné. Gramovým farbením príslušných kolónií možno zistiť gramnegatívne, trochu zahnuté paličky. Pozitívna reakcia na testy na rýchlu urinázu, oxidázu a katalázu, ktoré možno vykonať priamo pri raste z izolačnej pôdy (ak je rast dostatočný), sú indikátormi *H. pylori*. Konečnú identifikáciu je nutné vykonať vhodnými biochemickými testmi.⁶ Počas práce s kultúrou zabráňte časovým prestojom, pretože väčšina kmeňov *Helicobacter pylori* neprežije vystavenie vzduchu dlhšie ako

30 až 45 minút.⁶ Je nutné okamžite vytvoriť subkultúry na vhodnej neselektívnej pôde (pozri časť **POSTUP TESTU**) a inkubovať ich podľa popisu vyššie.

VLASTNOSTI A OBMEDZENIA POSTUPU

BD Helicobacter Agar, Modified sa používa na izoláciu organizmov *Helicobacter pylori* z ľudských žalúdočných vzoriek.^{5,6}

Na tejto pôde môžu rásť aj iné baktérie ako *Helicobacter pylori*. Môžu sem patriť rody *Helicobacter* iné ako *H. pylori* alebo infekčné látky z normálnej flóry.

Rast z tejto pôdy musí byť ďalej diferencovaný pomocou biochemických, morfológických alebo molekulárnych testov. Na pôdu **BD Helicobacter Agar, Modified** by sa nemali očkovať vzorky stolice, pretože táto pôda nemusí byť dostatočne selektívna na potlačenie črevnej flóry.

Táto pôda nebola testovaná na rast rodov *Helicobacter* iných ako *H. pylori*.

POUŽITÁ LITERATÚRA

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.

BALENIE/DOSTUPNOSŤ

BD Helicobacter Agar, Modified

Kat. č. 254430

Pôda v Petriho miskách pripravená na použitie, 20 ks

ĎALŠIE INFORMÁCIE

Ak máte záujem o ďalšie informácie, kontaktujte miestneho zástupcu 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