

BD Helicobacter Agar, Modified

ÚČEL POUŽITÍ

BD Helicobacter Agar, Modified (upravený), je selektivní půda pro izolaci *Helicobacter pylori* ze žaludečních vzorků.

PRINCIPY A VYSVĚTLENÍ POSTUPU

Mikrobiologická metoda.

Od jeho první izolace Marshallem a Warrenem v roce 1982 se ukazuje, že *Helicobacter pylori* je významné infekční agens, způsobující chronickou gastritidu, duodenální peptické vředy a některé typy rakoviny žaludku.^{1,2} Přestože jsou pro diagnostiku často používány sérologické testy na přítomnost protilátek proti organismu anebo rychlé ureázové testy, zjišťující neobvykle aktivní ureázu organismu, je kultivace potřebná ke zjištění časně infekce, když ještě protilátková odpověď nemusí být přítomna. Dále je kultivace potřebná ke stanovení antimikrobiální citlivosti jednotlivých kmenů. Několik půd lze použít k izolaci organismu, který není vysoce choulostivý, ale je velmi citlivý na kyslík, protože je mikroaerofilní, a vyžaduje inkubační období 3 až 5 dnů.³

BD Helicobacter Agar, Modified obsahuje jako základ agar Columbia. Antimikrobiální kombinace je preparát popsáný Dentem a McNultym, a obsahuje kombinaci vankomycinu, amfotericinu B, trimethoprimu a cefsulodinu, která inhibuje kontaminující flóru bez nepříznivého účinku na *H. pylori*.⁴ Jak bylo navrženo Stevensonem et al., je zvýšena koncentrace cefsulodinu a tím zajištěna zlepšená inhibice kontaminující flóry.⁵ Lyzovaná koňská krev se přidává pro dodání doplňkových živných látek.

ČINIDLA

BD Helicobacter Agar, Modified (upravený)

Složení* na jeden litr čištěné vody

Pankreatická natrávenina kaseinu	12,0 g	Agar	13,5 g
Peptická natrávenina zvířecí tkáně	5,0	Vankomycin	0,01
Kvasničný extrakt	3,0	Amfotericin B	0,005
Hovězí výtažek	3,0	Trimethoprim	0,02
Kukuřičný škrob	1,0	Cefsulodin	0,01
Chlorid sodný	5,0	Lyzovaná koňská krev	7 %

pH 7,3 +/- 0,2

*Upraveno a/nebo doplněno dle požadavků tak, aby byla splněna kritéria účinnosti.

DŮLEŽITÉ RADY

IVD . Pouze k odbornému použití. 

Pokud misky vykazují známky mikrobiální kontaminace, změny zabarvení, vysušení, popraskání nebo jiné známky poškození, nepoužívejte je.

Pokyny pro aseptickou manipulaci, informace týkající se biologického nebezpečí a pokyny pro likvidaci použitého produktu naleznete v dokumentu **VŠEOBECNÉ POKYNY K POUŽITÍ**.

SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST

Po převzetí až do doby těsně před použitím skladujte misky v originálním pouzdru, v temnu a při teplotě 2 až 8 °C. Chraňte před mrazem a přehřátím. Misky lze inokulovat až do data expirace (viz štítek na obalu) a inkubovat po doporučenou dobu inkubace.

Misky z otevřených sad po 10 kusech lze použít po dobu jednoho týdne, pokud jsou uloženy v čistém prostředí při teplotě 2 až 8 °C.

KONTROLA JAKOSTI UŽIVATELEM

Inokulujte reprezentativní vzorky následujícími kmeny (podrobné informace naleznete v dokumentu **VŠEOBECNÉ POKYNY K POUŽITÍ**). Inkubujte po dobu 3 až 5 dnů při 35 až 37 °C v

mikroaerobní atmosféře, např. ve sklenici **BD GasPak** v atmosféře získané použitím systému **BD CampyPak** (obsahujícího katalyzátor) anebo systému **BD CampyPak Plus**.

Kmeny	Výsledky růstu
<i>Helicobacter pylori</i> ATCC 43504	Růst dobrý až výborný, drobné až středně velké průsvitné kolonie
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Částečná až úplná inhibice
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Částečná až úplná inhibice
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Částečná až úplná inhibice, plazivý růst potlačen
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Úplná inhibice
Slepý vzorek	Červený, lehce průsvitný

POSTUP

Dodaný materiál:

BD Helicobacter Agar, Modified (upravený) (misky **Stacker** o průměru 90 mm).

Mikrobiologicky kontrolováno.

Materiál, který není součástí dodávky

Pomocná kultivační média, činidla a laboratorní vybavení dle potřeby.

Typy, odběr a přeprava vzorků

Odeberte u pacienta několik čerstvých vzorků ze žaludeční biopsie, nejméně jeden ze žaludečního antra a jeden z těla žaludku, a uložte do vhodné transportní půdy. Žaludeční šťáva není vhodný vzorek. Pokud může být vzorek transportován a zpracován bez prodlevy, může být použit fyziologický roztok. Pokud se očekává prodleva, musí být použity transportní půdy jako je např. Stuartova půda nebo **BD Port-A-Cul** a musí být udržován při 4 až 8 °C, a to po dobu ne delší než 24 hodin před zpracováním. Organismus je mimořádně citlivý na vyschnutí a vystavení kyslíku.⁶ Bylo prokázáno, že glycerol přidaný do transportní půdy zlepšuje životnost, pokud je udržována v chladničce (např. při +4 °C) anebo pokud je zmrazena.⁷

Provedení testu

Povrch agarů by měl být hladký a vlhký, ale bez nadměrné vlhkosti. Misky se známkami vyschnutí, jako je smrštění půdy, nesmějí být použity.

Během manipulace se vzorkem a kulturami organismu zabraňte déletrvajícím expozicím vzduchu, protože organismus je vysoce citlivý na kyslík.⁶

Před vložením do půdy musejí být bioptické vzorky rozemlety nebo rozsekány v malém množství sterilního fyziologického roztoku. Homogenát musí být okamžitě uložen na povrch půdy a musí být kličkou rozetřen po povrchu za použití izolační roztírací metody. K dosažení plného zotavení příslušných patogenů musí být spolu s půdou **BD Helicobacter Agar, Modified** použita neselektivní půda **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** (Columbia Agar s 5% koňskou krví) nebo **BD Chocolate Agar** (GC Agar with IsoVitaleX).

Inkubujte naočkované misky po dobu 3 až 5 dnů při 35 ± 2 °C v mikroaerobní atmosféře, např. ve sklenici **BD GasPak** v atmosféře získané použitím systému **BD CampyPak** (obsahujícího katalyzátor) anebo systému **BD CampyPak Plus**.

Výsledky

Po inkubaci by se na miskách měly objevit izolované kolonie v oblastech, kde bylo inokulum řádně zředěno. Kolonie *Helicobacter pylori* jsou drobné až středně velké a průsvitné.

Barvení příslušných kolonií podle Grama ukáže Gram negativní, lehce zakřivené tyčinky.

Pozitivní rychlé reakce na ureázu, oxidázu a katalázu, které mohou být provedeny přímo s růstem na izolační misce (pokud je růst dostatečný) znamenají, že jde o *H. pylori*. Konečná

identifikace musí být učiněna s použitím příslušných biochemických testů.⁶ Během manipulace s kulturou zabraňte prodlevám, protože většina kmenů *Helicobacter pylori* nepřežije expozici vzduchu déle než 30 až 45 minut.⁶ Subkultury na příslušných neselektivních půdách (viz

Provedení testu) musejí být provedeny okamžitě a inkubovány, jak je popsáno výše.

SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI A OMEZENÍ POSTUPU

BD Helicobacter Agar, Modified (upravený), se používá pro izolaci *Helicobacter pylori* z lidských žaludečních vzorků.^{5,6}

Na této půdě mohou růst i jiné bakterie, než je *Helicobacter pylori*. Mezi ně patří jiné druhy *Helicobacter* než je *H. pylori* a kontaminanty z normální flóry.

Bakterie rostoucí na této půdě musejí být dále diferencovány s použitím biochemických, morfologických a molekulárních testů. Na půdu **BD Helicobacter Agar, Modified** nesmějí být aplikovány vzorky stolice, protože půda nemusí být dostatečně selektivní a potlačit intestinální flóru.

Tato půda nebyla testována na růst jiných druhů *Helicobacter* než je *H. pylori*.

LITERATURA

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.

BALENÍ/DOSTUPNOST

BD Helicobacter Agar, Modified

Kat. č. 254430

Ready-to-use Plated Media (Médium na miskách k okamžitému použití), 20 kusů v balení

DALŠÍ INFORMACE

Další informace vám poskytne místní zástupce společnosti 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