

BD Helicobacter Agar, Modified

ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΟΝΤΑΙ

Το **BD Helicobacter Agar, Modified** (Άγαρ Helicobacter BD, τροποποιημένο) είναι ένα επιλεκτικό υλικό για την απομόνωση του *Helicobacter pylori* από γαστρικά δείγματα.

ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Μικροβιολογική μέθοδος.

Από την πρώτη του απομόνωση το 1982 από τους Marshall και Warren, το *Helicobacter pylori* αποδείχθηκε ένας σημαντικός λοιμώδης παράγοντας, υπεύθυνος για χρόνιες γαστρίτιδες, έλκη δωδεκαδάκτυλου, πεπτικά έλκη και συγκεκριμένους τύπους καρκίνου του στομάχου.^{1,2} Παρόλο που συχνά εφαρμόζονται για τη διάγνωση ορολογικές εξετάσεις για την παρουσία αντισωμάτων έναντι του οργανισμού ή ταχείες εξετάσεις ουρεάσης, που ανιχνεύουν την ασυνήθιστα ενεργή ουρεάση του οργανισμού, απαιτείται καλλιέργεια για την ανίχνευση μιας πρώιμης λοίμωξης, όταν ενδεχομένως να είναι απύσχα μια απόκριση αντισωμάτων. Επιπλέον, απαιτείται καλλιέργεια για να καθοριστεί η μορφολογία αντιμικροβιακής ευαισθησίας των μεμονωμένων στελεχών. Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα υλικά για την απομόνωση του οργανισμού, ο οποίος δεν είναι ιδιαίτερα απαιτητικός, ωστόσο είναι πολύ ευαίσθητος στο οξυγόνο, καθώς είναι μικροαερόφιλος, και απαιτεί περίοδο επώασης 3 έως 5 ημερών.³

Το **BD Helicobacter Agar, Modified** (Άγαρ Helicobacter BD, τροποποιημένο) περιέχει ως βάση το άγαρ Columbia. Ο αντιμικροβιακός συνδυασμός αποτελεί τη σύνθεση που περιγράφουν οι Dent και McNulty, ο οποίος περιέχει συνδυασμούς βανκομυκίνης, αμφοτερικίνης B, τριμεθοπρίμης και κεφσουλοντίνης για την αναστολή της μολυσματικής χλωρίδας χωρίς απώλεια ανάκτησης του *H. pylori*.⁴ Σύμφωνα με μια πρόταση του Stevenson και των συναδέλφων του, η συγκέντρωση κεφσουλοντίνης αυξήθηκε, ώστε να παρέχει βελτιωμένη αναστολή της μολυσματικής χλωρίδας.⁵ Προστίθεται αίμα αλόγου που έχει υποστεί λύση για πρόσθετα θρεπτικά συστατικά.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

BD Helicobacter Agar, Modified (Άγαρ Helicobacter BD, τροποποιημένο)

Σύνθεση* ανά λίτρο κεκαθαρμένου νερού

Παγκρεατικό υδρόλυμα καζεΐνης	12,0 g	Άγαρ	13,5 g
Πεπτικό αφομοίωμα ζωικού ιστού	5,0	Βανκομυκίνη	0,01
Εκχύλισμα ζυμομυκήτων	3,0	Αμφοτερικίνη B	0,005
Εκχύλισμα βόειου κρέατος	3,0	Τριμεθοπρίμη	0,02
Άμυλο αραβοσίτου	1,0	Κεφσουλοντίνη	0,01
Χλωριούχο νάτριο	5,0	Αίμα αλόγου που έχει υποστεί λύση	7%

pH 7,3 +/- 0,2

*Προσαρμοσμένο ή/και συμπληρωμένο όπως απαιτείται έτσι, ώστε να πληρούνται τα κριτήρια σχετικά με την απόδοση.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

IVD . Προορίζεται αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση. ⓧ

Μη χρησιμοποιείτε τρυβλία που εμφανίζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης, αποχρωματισμό, ξηρότητα, ρωγμές ή άλλα σημάδια αλλοίωσης.

Συμβουλευτείτε το έγγραφο **ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ** σχετικά με τις ασηπτικές διαδικασίες χειρισμού, τους βιολογικούς κινδύνους και την απόρριψη του χρησιμοποιημένου προϊόντος.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ

Κατά την παραλαβή, φυλάσσετε τα τρυβλία στο σκοτάδι σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C, στην αρχική συσκευασία τους έως τη στιγμή της χρήσης τους. Αποφεύγετε την κατάψυξη και την υπερβολική θέρμανση. Τα τρυβλία είναι δυνατό να ενοφθαλμιστούν έως την ημερομηνία λήξης (δείτε την ετικέτα της συσκευασίας) και να επωαστούν στους συνιστώμενους χρόνους επώασης.

Είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν τρυβλία από ανοιγμένες στοίβες των 10 τρυβλίων για μία εβδομάδα, εφόσον φυλάσσονται σε καθαρό χώρο στους 2 έως 8 °C.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΧΡΗΣΤΗ

Ενοφθαλμίστε αντιπροσωπευτικά δείγματα με τα ακόλουθα στελέχη (για λεπτομέρειες, δείτε το έγγραφο **ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**). Επώαστε σε θερμοκρασία από 35 έως 37 °C σε μικροαερόβιο περιβάλλον, π.χ. σε ένα βάζο **BD GasPak** με περιβάλλον επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας το σύστημα **BD CampyPak** (συμπεριλαμβανομένου του καταλύτη) ή το σύστημα **CampyPak Plus** για 3 έως 5 ημέρες.

Στέλεχος	Αποτελέσματα ανάπτυξης
<i>Helicobacter pylori</i> ATCC 43504	Ανάπτυξη καλή έως εξαιρετική, μικροσκοπικές έως μετρίου μεγέθους διάφανες αποικίες
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Μερική έως πλήρης αναστολή
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Μερική έως πλήρης αναστολή
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Μερική έως πλήρης αναστολή, αναστολή σμηνουργίας
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Πλήρης αναστολή
Μη ενοφθαλμισμένο	Βυσσινί, ελαφρώς διάφανο

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Παρεχόμενα υλικά

BD Helicobacter Agar, Modified (Άγαρ *Helicobacter* BD, τροποποιημένο) (τρυβλία **Stacker** των 90 mm). Μικροβιολογικά ελεγμένα.

Υλικά που δεν παρέχονται

Βοηθητικά υλικά καλλιέργειας, αντιδραστήρια και εργαστηριακός εξοπλισμός, όπως απαιτείται.

Τύποι, συλλογή και μεταφορά δειγμάτων

Συλλέξτε αρκετά φρέσκα δείγματα γαστρικής βιοψίας από τον ασθενή, τουλάχιστον ένα από το γαστρικό άντρο και ένα από το σώμα, σε ένα κατάλληλο υλικό μεταφοράς. Το γαστρικό υγρό δεν αποτελεί κατάλληλο δείγμα. Αν το δείγμα μπορεί να μεταφερθεί και να υποστεί επεξεργασία χωρίς καθυστέρηση, μπορεί να χρησιμοποιηθεί φυσιολογικό αλατούχο διάλυμα. Αν αναμένεται καθυστέρηση, πρέπει να χρησιμοποιηθεί ένα υλικό μεταφοράς όπως το υλικό **Stuart** ή το **BD Port-A-Cul** και η φύλαξη πρέπει να γίνει σε θερμοκρασία από 4 έως 8 °C, για μέγιστο διάστημα 24 ωρών πριν την επεξεργασία. Ο οργανισμός είναι εξαιρετικά ευαίσθητος στην αποξήρανση και την έκθεση στο οξυγόνο.⁶ Έχει αποδειχθεί ότι η προσθήκη γλυκερόλης στο υλικό μεταφοράς βελτιώνει τη βιωσιμότητα, όταν η φύλαξη γίνεται σε συνθήκες ψύξης (π.χ. στους +4 °C) ή κατάψυξης.⁷

Διαδικασία της εξέτασης

Η επιφάνεια του άγαρ θα πρέπει να είναι λεία και υγρή, αλλά να μην παρουσιάζει υπερβολική υγρασία. Τρυβλία που εμφανίζουν ενδείξεις αποξήρανσης, όπως συρρίκνωση του υλικού, δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται.

Κατά το χειρισμό των δειγμάτων και των καλλιιεργειών του οργανισμού αποφεύγετε την παρατεταμένη έκθεση στον αέρα, διότι ο οργανισμός είναι εξαιρετικά ευαίσθητος στο οξυγόνο.⁶ Πριν την εφαρμογή τους στο υλικό, τα δείγματα βιοψίας θα πρέπει να αλέθονται ή να ψιλοκόβονται με μια μικρή ποσότητα στείρου φυσιολογικού αλατούχου διαλύματος. Ο πολτός θα πρέπει να τοποθετείται αμέσως στην επιφάνεια του υλικού και θα πρέπει να συλλέγεται με τον κρίκο και στη συνέχεια να επιστρώνεται πάνω στην επιφάνεια με χρήση μιας μεθόδου γραμμωτής επίστρωσης για απομόνωση. Μαζί με το **BD Helicobacter Agar, Modified** (Άγαρ

Helicobacter BD, τροποποιημένο) θα πρέπει να ενοφθαλμίζεται ένα μη επιλεκτικό υλικό, όπως το **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** (Άγαρ Columbia με 5% αίμα αλόγου BD) ή το **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** (Σοκολατούχο άγαρ BD) (Άγαρ GC με IsoVitaleX), ώστε να επιτευχθεί πλήρης ανάκτηση των εμπλεκόμενων παθογόνων.

Επώαστε τα ενοφθαλμισμένα τρυβλία για 3 έως 5 ημέρες σε θερμοκρασία $35 \pm 2^\circ \text{C}$ σε μικροαερόβιο περιβάλλον, π.χ. σε ένα βάζο **BD GasPak** με περιβάλλον που θα επιτευχθεί χρησιμοποιώντας το σύστημα **BD CampyPak** (συμπεριλαμβανομένου ενός καταλύτη) ή το σύστημα **CampyPak Plus**.

Αποτελέσματα

Μετά την επώαση, τα τρυβλία θα πρέπει να εμφανίζουν απομονωμένες αποικίες στις περιοχές όπου αραιώθηκε σωστά το ενοφθάλμισμα. Οι αποικίες του *Helicobacter pylori* είναι μικροσκοπικές έως μετρίου μεγέθους και διάφανες.

Μια χρώση Gram από τις αντίστοιχες αποικίες θα αποκαλύψει Gram αρνητικά, ελαφρώς καμπυλοειδή ραβδία. Μια θετική ταχεία αντίδραση ουρεάσης, οξειδάσης και καταλάσης, η οποία μπορεί να πραγματοποιηθεί άμεσα με ανάπτυξη από το τρυβλίο απομόνωσης (αν υπάρχει αρκετή ανάπτυξη) είναι ενδεικτική του *H. pylori*. Η τελική ταυτοποίηση θα πρέπει να πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες βιοχημικές εξετάσεις.⁶ Κατά το χειρισμό της καλλιέργειας, αποφύγετε χρονικές καθυστερήσεις, καθώς τα περισσότερα στελέχη του *Helicobacter pylori* δεν επιβιώνουν μετά από έκθεση στον αέρα για περισσότερο από 30 έως 45 λεπτά.⁶ Ανακαλλιέργειες στα κατάλληλα μη επιλεκτικά υλικά (δείτε την ενότητα **Διαδικασία της εξέτασης**) θα πρέπει να γίνονται άμεσα και να επωάζονται σύμφωνα με την παραπάνω περιγραφή.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το **BD Helicobacter Agar, Modified** (Άγαρ *Helicobacter* BD, τροποποιημένο) χρησιμοποιείται για την απομόνωση του *Helicobacter pylori* από ανθρώπινα γαστρικά δείγματα.^{5,6}

Σε αυτό το υλικό μπορεί να αναπτυχθούν βακτήρια πλην του *Helicobacter pylori*. Αυτά μπορεί να περιλαμβάνουν είδη *Helicobacter* άλλα από το *H. pylori* ή μολυσματικούς παράγοντες από φυσιολογική χλωρίδα.

Η ανάπτυξη από αυτό το μέσο πρέπει να διαφοροποιείται περαιτέρω με βιοχημικές, μορφολογικές ή μοριακές εξετάσεις. Δεν πρέπει να εφαρμόζονται δείγματα κοπράνων στο **BD Helicobacter Agar, Modified**, καθώς το υλικό ενδεχομένως να μην είναι επαρκώς επιλεκτικό για την καταστολή της εντερικής χλωρίδας.

Αυτό το υλικό δεν έχει εξεταστεί για ανάπτυξη ειδών *Helicobacter* άλλων από το *H. pylori*.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

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.

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ/ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

BD Helicobacter Agar, Modified (Άγαρ *Helicobacter* BD, Τροποποιημένο)

Αρ. κατ. 254430

Έτοιμα προς χρήση υλικά καλλιέργειας σε τρυβλία, 20 τρυβλία

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για περισσότερες πληροφορίες, παρακαλούμε επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της 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