

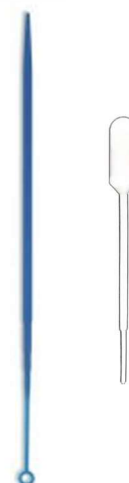
Etapes pré analytiques pour la détection de *Helicobacter pylori* par PCR temps réel et/ou par culture

Matériels nécessaires et recommandés

Modalités de traitement, de transport et de stockage des biopsies en Portagerm présentes sur le site du CNRCH.
<https://www.cnrch.fr/wp-content/uploads/2022/03/Modalites-denvoi-des-prelevements-pour-le-CNR-des-Campylobacters-et-des-Helicobacters.pdf>

Pour le broyage

Milieu de transport spécifique pour *H. pylori*



Portagerm pylori (PORT-PYL)

-bioMérieux
Réf. 42041*

Bouillon nutritif**

-Thermo Scientific
Réf. TV5090E*

Pilon en plastique et microtube 1,5 ml stériles

-Dutscher Réf. 947832*
-VWR Réf. 431-0098*

Broyeur à bille

-MM400, Restsch

Oese 10 µl ou
Pipette de transfert stérile

*Références validées par le CNRCH ; ** ou à défaut du sérum physiologique

Pour la digestion enzymatique



Tampon de lyse pour tissu

QIAGEN Réf. 3722174*

/!\ pas avec RIDA®GENE
Helicobacter pylori sur BD
MAX™

Protéinase K (20 mg/ml)

SIGMA ALDRICH Réf.
3115844001*
>à aliquoter

Microtube à vis 1,5 ml stérile

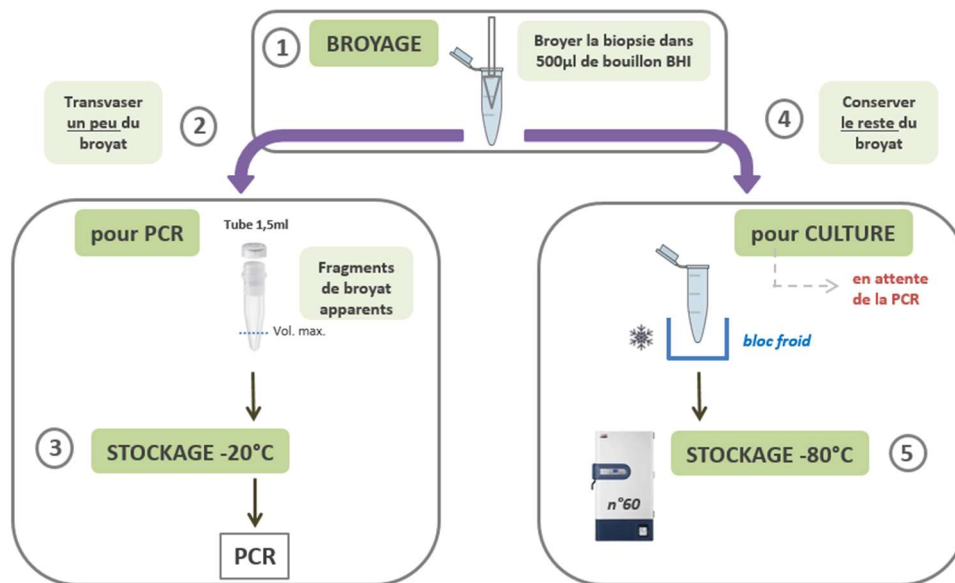
SARSTEDT Réf. 72.692.005*

Bloc chauffant à sec 56°C

Eppendorf ThermoMixer*

*Références données comme exemple

Etapes de broyage



- 1 Remplir un microtube stérile avec 500µl de bouillon

Récupérer le(s) morceau(x) de biopsie(s) présent(s) dans le milieu de transport PORT-PYL à l'aide d'une oese (10µl) ou d'une pipette de transfert : les déposer dans le tube contenant le bouillon.

Un minimum de deux fragments de biopsies (antre et fundus) garantit une meilleure détection de l'infection.

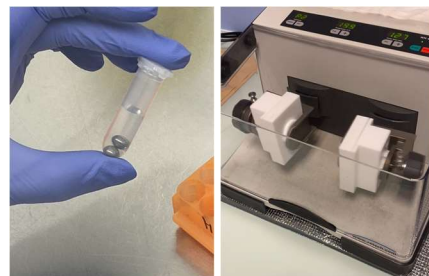


Broyer le(s) biopsies(s) :

-dans le microtube à l'aide du pilon en plastique à usage unique



-ou à l'aide du broyeur à billes (voir consignes du fournisseur) : 1ml sérum physiologique, fréquence 20/sec pendant 1min30.



- ② Transférer environ 50-100 µl du broyat (avec fragments apparents) dans le microtube à vis 1,5 ml.



- ③ Stocker le tube pour la PCR à -20°C, jusqu'au moment de la prédigestion.

- ④ Si vous souhaitez cultiver *in vitro* *H. pylori*, et que vous avez plusieurs biopsies à broyer, il est conseillé de garder le temps de la technique les broyats dans un bloc froid avant mise en culture.



- ⑤ Conserver le tube contenant le reste de broyat à -80°C.

Explications du broyage également disponibles en version vidéo sur le site internet du CNRCH.

Prédigestion enzymatique

- 1/ Ajouter au tube dédié pour la PCR :
 - 180 µl de tampon de lyse
 - 20 µl de protéinase K
- 2/ Incuber dans le bain à sec à 56°C sous agitation à 450 rpm pendant minimum 3h, ou toute la nuit.
- 3/ Effectuer l'extraction d'ADN.

Pour une utilisation sur systèmes automatisés : se reporter aux recommandations des fournisseurs, du CNRCH et aux publications associées listées ci-dessous.

Ces applications ne sont pas certifiées IVDr par les fabricants en 2024.

-RIDA®GENE Helicobacter pylori PCR on the ELITE InGenius System.

Bénéjat L, Ducournau A, Martins CD, Bessède E, Lehours P. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2023 May;42(5):593-596. doi: 10.1007/s10096-023-04563-3. Epub 2023 Mar 16. PMID: 36929324

-Automation of RIDA®GENE Helicobacter pylori PCR on the BD MAX™ System.

Bénéjat L, Giese A, Lescaudron Z, Bonnac J, Ducournau A, Bessède E, Lehours P. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2022 Jun;41(6):875-879. doi: 10.1007/s10096-022-04444-1. Epub 2022 Apr 22. PMID: 35460029