



## BD Bifidobacterium Agar, Modified

### НАЗНАЧЕНИЕ

**BD Bifidobacterium Agar, Modified** (модифицированный агар для бифидобактерий) является частично селективной средой для изоляции флоры *Bifidobacterium* в образцах кала человека.

### ПРИНЦИПЫ И ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ

Микробиологический метод.

Виды *Bifidobacterium* являются грамположительными анаэробными разветвленными или плеоморфными палочками, которые можно выделить из различных материалов, например из полости рта, кала людей и животных и бытовых сточных вод. Их основная среда обитания в теле человека — толстая кишка, где они развиваются вместе с другими основными группами обычных кишечных бактерий; их количество у здорового взрослого человека может достигать от  $10^9$  до  $10^{11}$  на грамм кала.<sup>1</sup> В результате нарушения состава обычной флоры под воздействием внутренних или внешних факторов, например вследствие проведения противомикробной или противоопухолевой терапии, их рост может быть заглушен чрезмерным развитием *Enterobacteriaceae*, псевдомонад или дрожжевых грибов.<sup>1-3</sup> Такое чрезмерное развитие может стать причиной хронической диареи и других кишечных расстройств и нарушений пищеварения. В связи с низкой патогенностью бифидобактерии и лактобактерии все чаще используются в качестве пробиотиков, принимаемых для улучшения состава кишечной флоры при наличии расстройств. Кроме того, обсуждается вопрос относительно применения пробиотиков для улучшения состояния при определенных внекишечных расстройствах или синдромах, например при вагините, инфекции *Helicobacter pylori* и кистозном фиброзе.<sup>3</sup> Недавно было заявлено, что прием бифидобактерий способствует набору веса и устранению кишечных отклонений у недоношенных детей.<sup>4</sup>

Для селективной или селективной изоляции бифидобактерий было разработано несколько сред.<sup>1,2,5-9</sup> Так как данный род включает более 25 известных видов со значительной гетерогенностью в отношении устойчивости к противомикробным препаратам и другим ингибиторам, сложно разработать одну среду с высокой селективностью при сохранении хорошей степени выделения. В материалах некоторых исследований заявлено, что среда для бифидобактерий, как указано Биренсом (Beeregens),<sup>1,5</sup> обеспечивает хорошее выделение видов *Bifidobacterium*, присутствующих в кишечнике человека. Последние исследования показали выделение большего числа штаммов, чем в сопоставимых селективных средах, используемых для изоляции этих бактерий.<sup>1,2</sup>

Среда для бифидобактерий, как указывает Биренс, основывается на колумбийском агаре, дополненном пропионовой кислотой, с уровнем pH 5,0.<sup>5</sup> Пропионовая кислота является эффективным ингибитором грибов и многих других бактерий, отличных от бифидобактерий, например кишечных бактерий *Bacteroides* и *Enterobacteriaceae*. Низкий уровень pH данной среды также способствует подавлению других микроорганизмов, преобладающих в человеческом кале, например видов *Bacteroides* и *Eubacterium*. Цистеин является восстановителем. В модифицированный агар для бифидобактерий **BD Bifidobacterium Agar, Modified** внесены незначительные изменения по сравнению с исходной средой: он дополнен лактулозой — сахаром, используемым в качестве пребиотика, который эффективно ферментируется бифидобактериями. Для ускорения начального роста добавлена глюкоза, являющаяся универсальным сахаром. Рибофлавин является витамином для многих бактерий.<sup>8</sup> Уровень pH был слегка повышен (с 5,0 до 5,5) для повышения прочности агара и улучшения роста *Bifidobacterium*.

## РЕАГЕНТЫ

### BD Bifidobacterium Agar, modified

Рецептура\* на литр очищенной воды

Основа из колумбийского агара	42,5 г
Глюкоза	2,5
Лактулоза	2,5
Гидрохлорид цистеина	0,5
Рибофлавин	0,01
Пропионовая кислота	5,0 мл

pH 5,5 +/- 0,2

\* При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

## МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**IVD** Только для профессионального применения. ☒

Не используйте чашки при наличии признаков бактериального заражения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта.

Прочитайте документ **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**, в котором приведено описание асептических методов работы, биологических опасностей и утилизации использованных продуктов.

## ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

После получения храните чашки в темноте при температуре от 2 до 8 °С в оригинальной обертке до начала использования. Избегайте замораживания и перегрева. Чашки могут быть засеяны до даты истечения срока годности (см. этикетку на упаковке) и инкубированы в течение рекомендованного времени инкубации.

Чашки из открытых стопок по 10 чашек могут использоваться в течение одной недели при условии хранения с соблюдением чистоты при температуре от 2 до 8 °С.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Засейте репрезентативные образцы следующими штаммами (подробные сведения см. в документе **ОБЩИЕ ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**). Инкубируйте в анаэробных условиях при температуре от 35 до 37 °С в течение 2 – 3 дн.

Штаммы	Результаты роста
<i>Bifidobacterium longum</i> DSM 20219	Рост от хорошего до превосходного; колонии кремового или белого цвета; кислый запах
<i>Bifidobacterium bifidum</i> DSM 20082	Рост от хорошего до превосходного; колонии кремового или белого цвета; кислый запах
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Ингибирование (от частичного до полного)
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Ингибирование от частичного до полного
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Ингибирование (от частичного до полного)
Незасеянные	Светло-янтарный цвет

## МЕТОДИКА

### Поставляемые материалы

**BD Bifidobacterium Agar, Modified** (чашки **Stacker** 90 мм). Свободные от микроорганизмов.

### Непредоставляемые материалы

Дополнительная питательная среда, реагенты и лабораторное оборудование по мере необходимости.

### Типы образцов

Эта среда используется для изоляции и количественного определения видов *Bifidobacterium* в образцах кала пациентов, страдающих хронической диареей и другими

кишечными расстройствами и нарушениями пищеварения (см. также раздел **ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ**). Образцы кала (в идеале 10 – 15 граммов) не должны храниться дольше 24 ч. Рекомендуется использовать анаэробную среду для транспортировки.

#### **Методика тестирования**

Перед использованием можно провести предварительное восстановление модифицированного агара для бифидобактерий **BD Bifidobacterium Agar, Modified** в течение 24 ч (как минимум), выдерживая его при комнатной температуре. Эта процедура может способствовать увеличению числа обнаруживаемых жизнеспособных микроорганизмов. В этих целях можно использовать анаэробную систему **BD GasPak**. Для изучения фекальной флоры свежие образцы кала следует суспендировать в стерильном физиологическом растворе или анаэробном физиологическом растворе (содержащем 0,1 г гидрохлорида цистеина на литр) с последующим десятикратным разбавлением в этой же суспензии. Образцы наиболее слабых растворов (например, от  $10^{-4}$  до  $10^{-7}$ ) объемом 20 – 50 мкл следует нанести с помощью пипетки на модифицированный агар для бифидобактерий **BD Bifidobacterium Agar, Modified**, который затем засеивается путем растекания и инкубируется в анаэробной атмосфере (например, с помощью анаэробной системы **BD GasPak**).

Следует также засеять образцами соответствующих фекальных растворов другие среды (например, для определения общего числа и, возможно, для определения других бактериальных групп, таких как *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*) и инкубировать их в соответствии с требованиями среды и бактериальной группы.

#### **Результаты и интерпретация**

После инкубации чашки проверяются на наличие роста. Соответствующие колонии необходимо проверить путем микроскопического тестирования (с окрашиванием по Граму) на наличие типичных грамположительных палочек бифидобактерий. Затем можно подсчитать число колоний и умножить это значение на коэффициент разбавления образца для получения числа КОЕ на грамм кала. Для окончательной идентификации изолированных микроорганизмов необходимо выполнять пересев и биохимические тесты.

В кале здорового человека бифидобактерии должны присутствовать в большом количестве. Их недостаточное количество или отсутствие может указывать на кишечное расстройство<sup>1-3,5,9</sup>

Сокращение числа бифидобактерий в нормальной флоре не предполагает лечения пациентов с помощью противомикробных средств или медицинских препаратов, отличных от пробиотиков, если не были выявлены определенные возбудители инфекций, послужившие причиной расстройства.

#### **ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ**

Эта среда используется для определения флоры *Bifidobacterium* в кале человека.

Было выявлено, что рецептура агара для бифидобактерий, предложенная Биренсом, и аналогичные среды являются более эффективными, чем среды с более высокой степенью селективности, при выделении бифидобактерий в кишечнике человека.<sup>1,2,5,6</sup>

Существуют бифидобактерии, крайне требовательные к питательной среде, достаточное развитие которых в этой или любой другой селективной среде невозможно. Поэтому необходимо включать неселективную среду, например агар Шедлера с витамином K1 и 5 % овечьей крови **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**.<sup>1,6,7</sup>

За счет низкого уровня pH и добавления пропионовой кислоты модифицированный агар для бифидобактерий **BD Bifidobacterium Agar, Modified** ингибирует лактобактерии, виды *Eubacterium*, клостридии, *Enterobacteriaceae* и многие другие микроорганизмы.

Ингибирование может быть частичным или полным в зависимости от микроорганизмов. При засевании неразбавленного человеческого кала возможно развитие в этой среде микроорганизмов, отличных от *Bifidobacterium*.

Модифицированный агар для бифидобактерий **BD Bifidobacterium Agar, modified** не следует использовать для изоляции видов *Bifidobacterium* в образцах кала особей, не относящихся к виду людей.<sup>1</sup>

## СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Hartemink, R., and F.M Rombouts. 1999. Comparison of media for the detection of bifidobacteria, lactobacilli and total anaerobes from faecal samples. J. Microbiol. Meth. 36: 181-192.
2. Hartemink, R. et al. 1996. Raffinose-Bifidobacterium (RB) agar, a new selective medium for bifidobacteria. J. Microbiol. Meth. 27: 33-43.
3. Gorbach, S.L. 2002. Probiotics in the third millenium. Dig. Liver Dis. 34 (suppl. 2):S2-S7.
4. Kitajima, H., et al. 1997. Early administration of *Bifidobacterium breve* to preterm infants: randomized controlled trial.. Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Med. 76: F101-F107.
5. Beerens, H. 1990. An elective and selective isolation medium for *Bifidobacterium* spp. Lett. Appl. Microbiol. 11: 155-157.
6. Dave, R.I., and N.P. Shah. 1995. Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and bifidobacteria. J. Dairy Sci. 79: 1529-1536.
7. Munoa, F.J., and R. Pares. 1988. Selective medium for isolation and enumeration of *Bifidobacterium* species. Appl. Env. Microbiol. 54: 1715-1718.
8. Nebra, Y., and A.R. Blanch. 1999. A new selective medium for *Bifidobacterium* spp. Appl. Env. Microbiol. 65: 5173-5176.
9. Silvi, S. et al. 1996. An assessment of three selective media for bifidobacteria in faeces. J. Appl. Bacteriol. 81: 561-564.

## УПАКОВКА И НАЛИЧИЕ

### BD Bifidobacterium Agar, Modified

№ по каталогу 254546      Готовая к использованию среда в чашках; 20 чашек

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для получения дополнительной информации обратитесь к местному представителю компании 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 and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

© 2012 BD