BD Bifidobacterium Agar, Modified

VERWENDUNGSZWECK

BD Bifidobacterium Agar, Modified (modifizierter Bifidobakterium-Agar) ist ein teilweise selektives Medium zur Isolierung von *Bifidobacterium*-Flora aus menschlichen Stuhlproben.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Bifidobacterium-Spezies sind grampositive, anaerobe, verzweigte oder pleomorphe Stäbchen, welche aus einer Vielzahl von Materialien, wie z.B. menschlichen und tierischen Fäkalien, Abwasser und Proben aus der Mundhöhle, isoliert werden können. Ihr Hauptlebensraum im Menschen ist der Dickdarm, wo sie zu den Hauptgruppen der normalen Darmbakterien gehören und in Fäkalien von gesunden Erwachsenen ein Aufkommen von 10^9 bis 10^{11} pro Gramm zeigen.[1] Wenn die Zusammensetzung der normalen Flora durch interne oder externe Faktoren gestört wird, z.B. durch eine antimikrobielle oder antineoplastische Therapie, könnten sie durch *Enterobacteriaceae*, Pseudomonaden oder Hefen überwuchert werden.[1-3] Dieser Überwucherungszustand im Darmtrakt kann der Auslöser von chronischer Diarrhö und anderen Erkrankungen des Darm- und Verdauungstraktes sein. Da ihre Pathogenität niedrig ist, werden Bifidobakterien und Laktobazillen vermehrt als Probiotika verwendet, um bei Erkrankungen die Zusammensetzung der Darmflora zu verbessern. Außerdem wurde die Anwendung von Probiotika zur Verbesserung von gewissen extraintestinalen Erkrankungen oder Syndromen, wie z.B. Vaginitis, *Helicobacter pylori*-Infektion und zystischer Fibrose, diskutiert.[3] Gemäss kürzlich gemachter Aussagen soll die Verabreichung von Bifidobakterien Gewichtszunahme und Darmabnormalitäten bei Frühgeborenen verbessern.[4]

Mehrere Medien wurden für die elektive oder selektive Isolierung von Bifidobakterien konzipiert.[1,2,5-9] Da der Genus mehr als 25 bekannte Spezies mit erheblicher Heterogenität in der Resistenz gegenüber antimikrobiellen Agenzien und anderen Inhibitoren umfasst, ist es schwierig, ein einzelnes Medium mit guter Selektivität zu entwickeln und gleichzeitig eine gute Identifizierung beizubehalten. In einigen Untersuchungen wird behauptet, dass das von Beerens beschriebene Bifidobakterium-Medium[1,5] eine gute Identifizierung von im menschlichen Darmtrakt vorhandenen *Bifidobacterium*-Spezies erlaubt. Kürzlich durchgeführte Studien haben gezeigt, dass die meisten Stämme in höherer Anzahl isoliert werden können als auf vergleichbaren selektiven Medien für diese Bakterien.[1,2]

Das von Beerens beschriebene Bifidobakterium-Medium basiert auf Columbia-Agar-Basis, ergänzt mit Propionsäure, mit einem pH-Wert von 5,0.[5] Es hat sich gezeigt, dass Propionsäure das Wachstum von Pilzen und anderen Bakterien außer Bifidobakterien hemmt, wie, z.B. *Bacteroides* im Darm und *Enterobacteriaceae*. Der niedrige pH-Wert des Mediums trägt ebenfalls dazu bei, andere vorherrschende Organismen in menschlichen Fäkalien, wie z.B. *Bacteroides* und *Eubacterium*-Spezies, zu hemmen. Cystein ist ein Reduktionsmittel. **BD Bifidobacterium Agar, Modified** ist eine leichte Modifizierung des Originalmediums, ergänzt mit Lactulose, einer als Präbiotikum verwendeten Zuckerart, welche bevorzugt von Bifidobakterien fermentiert wird. Glucose als Universalzuckerart wurde beigefügt, um das Erstwachstum zu beschleunigen. Riboflavin ist ein Vitamin für viele Bifidobakterien.[8] Der pH-Wert wurde von 5,0 auf 5,5 leicht erhöht, um die Gelstärke des Agars und das Wachstum von *Bifidobacterium* zu verbessern.

REAGENZIEN

BD Bifidobacterium Agar, Modified

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Columbia-Agar-Basis	42,5 g
Glucose	2,5
Lactulose	2,5
Cystein-HCl	0,5
Riboflavin	0,01
Propionsäure	5,0 mL

pH 5,5 ± 0,2

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch.

Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Hinweise zur aseptischen Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). Platten 2 – 3 Tage bei 35 – 37 °C anaerob inkubieren.

Stämme	**Wachstum**
Bifidobacterium longum DSM 20219	Gutes bis sehr gutes Wachstum; cremig-weiße Kolonien, Säuregeruch
Bifidobacterium bifidum DSM 20082	Gutes bis sehr gutes Wachstum; cremig-weiße Kolonien, Säuregeruch
Bacteroides fragilis ATCC 25285	(Teilweise bis) vollständig gehemmtes Wachstum
Lactobacillus acidophilus ATCC 4356	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
Escherichia coli ATCC 25922	(Teilweise bis) vollständig gehemmtes Wachstum
Nicht inokuliert	Hell bernsteinfarben

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Bifidobacterium Agar, Modified (90 mm **Stacker**-Platten). Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Dieses Medium wird zur Isolierung und quantitativen Bestimmung von *Bifidobacterium*-Spezies aus Stuhlproben von Patienten mit chronischer Diarrhö und anderen Darm- und Verdauungserkrankungen verwendet (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**). Stuhlproben (ideal sind 10 – 15 Gramm Stuhl) dürfen nicht älter sein als 24 h. Die Verwendung eines anaeroben Transportmediums wird empfohlen.

Testverfahren
Vor der Anwendung kann **BD Bifidobacterium Agar, Modified** in einer anaeroben Atmosphäre für mindestens 24 h bei Raumtemperatur vorreduziert werden. Dieses Verfahren kann die Anzahl der nachweisbaren, lebensfähigen Organismen erhöhen. Zu diesem Zweck kann das anaerobe **BD GasPak** System verwendet werden.
Zur Untersuchung der fäkalen Flora sollten frische menschliche Stuhlproben in steriler oder anaerober Salzlösung (Salzlösung mit 0,1 g Cystein-HCI pro 1 L) suspendiert werden, gefolgt von 10-fachen Verdünnungen mit dem selben Suspensionsmedium. Proben von 20 – 50 µL der stärksten Verdünnungen (z.B. 10^{-4} bis 10^{-7}) sollten auf **BD Bifidobacterium Agar, Modified** pipettiert, durch Ausstreichen inokuliert und anaerob inkubiert werden, z.B. unter Verwendung des anaeroben **BD GasPak** Systems.
Andere Medien (z.B. zur quantitativen Bestimmung oder gegebenenfalls zum Nachweis anderer Bakteriengruppen, z.B. *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*) sollten ebenfalls mit den Fäkalverdünnung gemäss den Anforderungen des jeweiligen Mediums und der Bakteriengruppe inokuliert und inkubiert werden.

Ergebnisse und Interpretation
Platten nach der Inkubation auf Wachstum überprüfen. Geeignete Kolonien müssen mikroskopisch (Gramfärbung) auf das Vorhandensein der typischen zweigeteilten, grampositiven Stäbchen getestet werden. Danach können die Kolonien gezählt und die Anzahl der Kolonien kann mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden, um den KBE pro Gramm Fäkalien zu erhalten. Subkulturen müssen angelegt und biochemische Tests durchgeführt werden, um die isolierten Organismen endgültig zu identifizieren.
In den Fäkalien von gesunden Individuen sind Bifidobakterien in großer Anzahl vorhanden, während ihr Fehlen oder reduzierte Anzahlen ein Anzeichen einer Darmerkrankung sein kann.[1-3,5,9]
Ein vermindertes Aufkommen von Bifidobakterien in der normalen Flora impliziert nicht die Behandlung von Patienten mit antimikrobiellen Agenzien oder Medikamenten, außer Probiotika, es sei denn, es wurden spezifische Infektionserreger als Auslöser der Erkrankung nachgewiesen.

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN
Dieses Medium wird zum Bestimmung der *Bifidobacterium*-Flora in menschlichen Fäkalien verwendet.
Die Rezeptur von Bifidobakterium-Agar von Beerens und ähnliche Medien haben sich gegenüber Medien mit einem höheren Grad an Selektivität zur Isolierung von Bifidobakterien aus dem menschlichen Darm überlegen gezeigt.[1,2,5,6]
Es existieren Bifidobakterien, welche außerordentlich anspruchsvoll sind und auf diesem oder anderen selektiven Medien kein ausreichendes Wachstum zeigen. Aus diesem Grund sollte auch ein nicht selektives Medium (z.B. **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**). miteinbezogen werden.[1,6,7]
Auf Grund seines niedrigen pH-Wertes und dem Zusatz von Propionsäure hemmt **BD Bifidobacterium Agar, Modified** Lactobazillen, *Eubacterium*-Spezies, Clostridien, *Enterobacteriaceae* und viele andere. Je nach Organismen wird das Wachstum teilweise bis vollständig gehemmt. Wenn unverdünnte menschliche Fäkalien inokuliert werden, können auf diesem Medium auch andere Organismen als *Bifidobacterium* wachsen.
BD Bifidobacterium Agar, Modified sollte nicht zur Isolierung von *Bifidobacterium*-Spezies aus nicht-menschlichen Fäkalien verwendet werden.[1]

LITERATUR

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.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Bifidobacterium Agar, Modified
Best.-Nr. 254546 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.

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