



BD LBS Agar (Lactobacillus Selection Agar)

VERWENDUNGSZWECK

BD LBS Agar (auch bekannt als Rogosa-Agar) ist ein semidefiniertes, teilweise selektives Medium zur Isolierung und quantitativen Bestimmung von Laktobazillen aus der Darm-, Vaginal- und Dentalflora, insbesondere zum Nachweis von Störungen der normalen Flora.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Laktobazillen gehören zu den vorherrschenden Organismen der Darm- und Vaginalflora. Wenn die Zusammensetzung der normalen Flora durch interne oder externe Faktoren gestört wird, z.B. durch eine antimikrobielle oder antineoplastische Therapie, könnte sie durch *Enterobacteriaceae*, Pseudomonaden oder Hefen überwuchert werden.¹ Dieser Überwucherungszustand im Darmtrakt kann der Auslöser von chronischer Diarrhö und anderen Erkrankungen des Darm- und Verdauungstraktes sein. Eine Reduktion der *Lactobacillus*-Flora wurde ebenfalls mit Vaginitis oder Vaginose bei Frauen vor der Menopause in Verbindung gebracht.²⁻⁴ Da ihre Pathogenität niedrig ist, werden Laktobazillen und Bifidobakterien immer häufiger als Probiotika verwendet, um die Zusammensetzung der normalen Flora im Falle von Erkrankungen, wie z.B. akute und chronische Diarrhö und Vaginitis, zu verbessern.^{5,6}

Rogosa et al. haben LBS-Agar als selektives Medium zur Isolierung und quantitativen Bestimmung von oralen und fäkalen Laktobazillen entwickelt.^{7,8} Sie haben berichtet, dass LBS-Agar eine höhere Selektivität bei der Verhinderung einer Überwucherung durch Schimmelpilze, Streptokokken und sich ausbreitenden Organismen zeigt, als der zuvor verwendete Tomatensaft-Agar. **BD LBS Agar** wird zur Isolierung und quantitativen Bestimmung von Laktobazillen aus Nahrungsmitteln, Milchprodukten und der menschlichen Darm-, Vaginal- und Dentalflora verwendet.^{9,10}

In **BD LBS Agar** liefern Caseinpepton, Hefeextrakt und Ammoniumsalz den Stickstoff. Polysorbat 80 liefert die für das Wachstum von Laktobazillen notwendigen Fettsäuren. Mangan und Magnesium sind Wachstumsfaktoren. Glucose ist eine Energie- und Kohlenstoffquelle. Ammonium-Citrat, Natriumacetat, Essigsäure und Eisen(II)-sulfat agieren als Inhibitoren für Streptokokken und andere kontaminierende Organismen und sorgen für den niedrigen pH-Wert, welcher von Laktobazillen toleriert wird, nicht aber von vielen anderen Organismen. Phosphat stabilisiert den pH-Wert zusammen mit Acetat und Essigsäure.

REAGENZIEN

BD LBS Agar (Lactobacillus Selection Agar)

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	10,0 g	Natriumacetathydrat	25,0 g
Hefeextrakt	5,0	Essigsäure	1,3 mL
Kaliumdihydrogenphosphat	6,0	Magnesiumsulfat	0,575 g
Ammonium-Citrat	2,0	Mangansulfat	0,12
Glucose	20,0	Eisen(II)-sulfat	0,034
Polysorbat 80	1,0	Agar	15,0

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 in einer anaeroben Atmosphäre inkubieren.

Stämme	Wachstum
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Vollständig gehemmtes Wachstum
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Vollständig gehemmtes Wachstum
Nicht inokuliert	Klar, hell-bernsteinfarben bis bernsteinfarben

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD LBS Agar (90 mm **Stacker**-Platten). Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Dieses Medium wird in Studien über das Vorhandensein der *Lactobacillus*-Flora von Patienten mit chronischer Diarrhö oder anderen Erkrankungen des Darm- und Verdauungstraktes verwendet [Stuhlproben verwenden (ideal sind 10 – 15 g Stuhl), welche nicht älter als 24 h sind] sowie zur Überprüfung des Vorhandenseins von Laktobazillen in der Vaginal- und Dentalflora (Vaginal- oder Dentalabstriche verwenden). Siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**.

Testverfahren

Zur Untersuchung der Darmflora sollten frische menschliche Stuhlproben in steriler oder anaerober Salzlösung (Salzlösung mit 0,1 g Cystein-HCl 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 LBS AGAR** pipettiert, durch Ausstreichen inokuliert und anaerob inkubiert werden, z.B. unter Verwendung des anaeroben **BD GasPak** Systems.

Das selbe Verfahren kann für Nahrungsmittelproben angewandt werden.

Falls das Material direkt von einem Tupfer kultiviert wird, Tupfer über einen kleinen Bereich am Rand der Oberfläche rollen; anschließend zur Isolierung aus dieser inokulierten Fläche ausstreichen.

Andere Medien (z.B. zur quantitativen Bestimmung und zum möglichen Nachweis anderer Bakteriengruppen, z.B. *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*) sollten ebenfalls gemäß den Anforderungen des jeweiligen Mediums und der Bakteriengruppe inokuliert und inkubiert werden.

Die optimale Inkubationszeit und -temperatur sind 2 – 3 Tage bei 35 – 37 °C. Eine längere Inkubationszeit sollte für dieses Medium vermieden werden, wenn Subkulturen der Isolate angelegt werden sollen, da sich die Lebensfähigkeit der Kolonien danach verringern könnte.

Ergebnisse und Interpretation

Auf **BD LBS Agar** erscheinen Laktobazillen als mittelgroße bis große, weiße Kolonien. Falls die Proben quantitativ auf die Platte aufgetragen wurden, können die Kolonien gezählt werden. Danach wird die Anzahl der Kolonien mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert, um den KBE pro Gramm Probe oder Material zu erhalten. Das Wachstum muss durch mikroskopische und biochemische Tests weiter differenziert werden.

In Fäkalien- oder Vaginalproben von gesunden Personen befinden sich eine große Anzahl von Laktobazillen, während ihr Fehlen oder verringertes Vorhandensein auf eine Darmerkrankung bzw. Vaginitis hinweisen.^{1,2,4} Ein vermindertes Aufkommen von Laktobazillen 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 von Diarrhö oder Vaginitis nachgewiesen.

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD LBS Agar ist ein Standardmedium zur Isolierung von *Lactobacillus* aus der menschlichen Flora und aus Nahrungsmitteln.^{1,7-10}

Das Vorhandensein und die Anzahl von Laktobazillen in der Vaginalflora sind altersabhängig. Hohe Anzahlen werden nur bei gesunden Frauen vor der Menopause erwartet.²

BD LBS Agar darf nicht als Erhaltungsmedium für Laktobazillen verwendet werden.

Das Medium hemmt das Wachstum von Streptokokken, Enterokokken und Laktokokken nicht vollständig. Gramfärbung und Mikroskopie ist ein einfaches Verfahren zur Differenzierung von Laktobazillen von diesen grampositiven Kokken.

Auf Grund seines hohen Salzgehaltes ist dieses Medium zur Isolierung von *Lactobacillus lactis* und *L. bulgaricus*, welche üblicherweise aus Milchprodukten isoliert werden, nicht geeignet.⁹

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. Spiegel, C.A. 1991. Bacterial vaginosis. Clin. Microbiol. Rev. 4: 485-502.
3. Hammann, R., Lang, N., and H. Werner. 1984. Die Rolle von *Gardnerella vaginalis* und Anaerobiern – Ätiologie der unspezifischen Kolpitis. Fortschr. Med. 102: 255-258.
4. Hammann, R., A. Kronibus, N. Lang, and H. Werner. 1987. Quantitative studies on the vaginal flora of asymptomatic women and patients with vaginitis and vaginosis. Zbl. Bakt. A 265: 451-461.
5. Pant, A.R., et al. 1996. *Lactobacillus* GG and acute diarrhea in young children in the tropics. J. Trop. Pediatr. 42: 162-165.
6. Parent, D., et al. 1996. Therapy of bacterial vaginosis using exogenously-applied *Lactobacilli acidophili* and a low dose of estriol: a placebo-controlled multicentric clinical trial. Arzneimittelforschung 46: 68-73.
7. Rogosa, M. et al. 1951. A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal lactobacilli. J. Bacteriol. 62: 132.
8. Rogosa, M. et al. 1951. A selective medium for the isolation and enumeration of oral lactobacilli. J. Dental Res. 30: 682.
9. Downes, F.P., and K. Ito (eds.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.
10. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification- maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 275-284. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD LBS Agar

Best.-Nr. 255011

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.

© 2013 BD