



BD Bifidobacterium Agar, Modified

ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΟΝΤΑΙ

Το **BD Bifidobacterium Agar, Modified** (Άγαρ Bifidobacterium, τροποποιημένο) είναι ένα μερικώς επιλεκτικό υλικό για την απομόνωση της χλωρίδας *Bifidobacterium* σε δείγματα ανθρώπινων κοπράνων.

ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Μικροβιολογική μέθοδος.

Τα είδη *Bifidobacterium* είναι Gram θετικά, αναερόβια, διακλαδωμένα ή πλειόμορφα ραβδία, τα οποία μπορούν να απομονωθούν από μια ποικιλία υλικών, όπως ανθρώπινα και ζωικά κόπρανα, αστικά λύματα καθώς και από τη στοματική κοιλότητα. Η κύρια κατοικία τους στον άνθρωπο είναι το παχύ έντερο, όπου συγκαταλέγονται στις μείζονες ομάδες των φυσιολογικών εντερικών βακτηρίων, φθάνοντας τα 10^9 έως 10^{11} ανά γραμμάριο κοπράνων στους υγιείς ενήλικες.¹ Όταν η σύνθεση της φυσιολογικής χλωρίδας διαταράσσεται από εσωγενείς ή εξωγενείς παράγοντες, π.χ. από αντιμικροβιακές ή αντινεοπλασματικές θεραπείες, ενδέχεται να αυξηθούν υπερβολικά εις βάρος τους τα *Enterobacteriaceae*, οι ψευδομονάδες ή οι ζυμομύκητες.¹⁻³ Η κατάσταση υπερβολικής ανάπτυξης ενδέχεται να ευθύνεται για χρόνιες διάρροιες και άλλες εντερικές διαταραχές και διαταραχές της πέψης. Καθώς η παθογένειά τους είναι χαμηλή, τα δισχιδοβακτήρια και οι γαλακτοβάκιλλοι χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο ως προβιοτικά για τη βελτίωση της σύνθεσης της εντερικής χλωρίδας σε περίπτωση διαταραχών. Επιπλέον, συζητείται η χρήση των προβιοτικών για τη βελτίωση συγκεκριμένων εξωεντερικών διαταραχών ή συνδρόμων π.χ. κολπίτιδα, λοίμωξη *Helicobacter pylori* και κυστική ίνωση.³ Η χορήγηση δισχιδοβακτηρίων θεωρήθηκε πρόσφατα ότι βελτιώνει την αύξηση του βάρους και τις εντερικές ανωμαλίες σε πρόωρα βρέφη.⁴

Έχουν επινοηθεί διάφορα υλικά για την εκλεκτική ή επιλεκτική απομόνωση των δισχιδοβακτηρίων.^{1,2,5-9} Καθώς το γένος αποτελείται από περισσότερα από 25 γνωστά είδη με σημαντική ετερογένεια όσον αφορά την αντίσταση σε αντιμικροβιακούς παράγοντες και άλλους αναστολείς, είναι δύσκολο να σχεδιαστεί ένα μοναδικό υλικό με καλή επιλεκτικότητα και ταυτόχρονα να διατηρηθεί μια καλή ανάκτηση. Σε διάφορες έρευνες, υπήρξε ο ισχυρισμός ότι το υλικό Bifidobacterium, όπως περιγράφεται από τον Beerens^{1,5} επιτρέπει καλή ανάκτηση των ειδών *Bifidobacterium* που υπάρχουν στην πεπτική οδό του ανθρώπου. Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, τα περισσότερα στελέχη ανακτώνται σε υψηλότερους αριθμούς από ό,τι σε συγκρίσιμα επιλεκτικά υλικά για αυτά τα βακτήρια.^{1,2}

Το υλικό Bifidobacterium, όπως περιγράφεται από τον Beerens, βασίζεται στη βάση άγαρ Columbia, συμπληρωμένη με προπιονικό οξύ, σε pH 5,0.⁵ Το προπιονικό οξύ έχει αποδειχτεί ότι αναστέλλει τους μύκητες και πολλά βακτήρια πλην των δισχιδοβακτηρίων, όπως τα εντερικά *Bacteroides* και *Enterobacteriaceae*. Το χαμηλό pH του υλικού συμβάλλει περαιτέρω στην αναστολή άλλων κυρίαρχων οργανισμών των ανθρώπινων κοπράνων, όπως των ειδών *Bacteroides* και *Eubacterium*. Η κυστεΐνη είναι αναγωγικός παράγοντας. Το **BD Bifidobacterium Agar, Modified** είναι μια μικρή τροποποίηση του αρχικού υλικού, συμπληρωμένη με λακτουλόζη, ένα σάκχαρο που χρησιμοποιείται ως προβιοτικό, το οποίο κατά προτίμηση ζυμώνεται από δισχιδοβακτήρια. Η γλυκόζη είναι ένα διεθνές σάκχαρο, το οποίο έχει προστεθεί για την επιτάχυνση της αρχικής ανάπτυξης. Η ριβοφλαβίνη είναι μια βιταμίνη για πολλά δισχιδοβακτήρια.⁸ Το pH έχει αυξηθεί ελαφρά από 5,0 σε 5,5 για τη βελτίωση της ισχύος της γέλης του άγαρ και την καλύτερη ανάπτυξη του *Bifidobacterium*.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

BD Bifidobacterium Agar, modified (Άγαρ Bifidobacterium BD, τροποποιημένο)

Σύνθεση* ανά λίτρο κεκαθαρμένου νερού

Βάση άγαρ Columbia	42,5 g
Γλυκόζη	2,5
Λακτουλόζη	2,5
Κυστεΐνη-HCl	0,5
Ριβοφλαβίνη	0,01
Προπιονικό οξύ	5,0 ml

pH 5,5 +/- 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 ασφατικές 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**). Επωάστε σε αναερόβιες συνθήκες επί 2 έως 3 ημέρες, στους 35 έως 37 °C.

Στελέχη	Αποτελέσματα ανάπτυξης
<i>Bifidobacterium longum</i> DSM 20219	Ανάπτυξη καλή έως εξαιρετική, κρεμώδεις λευκές αποικίες, όξινη οσμή
<i>Bifidobacterium bifidum</i> DSM 20082	Ανάπτυξη καλή έως εξαιρετική, κρεμώδεις λευκές αποικίες, όξινη οσμή
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Αναστολή (μερική έως) πλήρης
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Μερική έως πλήρης αναστολή
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Αναστολή (μερική έως) πλήρης
Μη ενοφθαλμισμένο	Ανοιχτό πορτοκαλί

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Παρεχόμενα υλικά

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

Υλικά που δεν παρέχονται

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

Τύποι δειγμάτων

Το υλικό αυτό χρησιμοποιείται για την απομόνωση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των ειδών *Bifidobacterium* από δείγματα κοπράνων ασθενών που υποφέρουν από χρόνια διάρροια και

άλλες εντερικές και πεπτικές διαταραχές (δείτε επίσης **ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ**). Τα δείγματα κοπράνων (στην ιδανική περίπτωση 10 έως 15 γραμμάρια κόπρανα) δεν πρέπει να είναι παλαιότερα από 24 ώρες. Συνιστάται η χρήση ενός αναερόβιου υλικού μεταφοράς.

Διαδικασία της εξέτασης

Πριν από τη χρήση, το **BD Bifidobacterium Agar, Modified** μπορεί να προ-αναχθεί σε αναερόβιο περιβάλλον για τουλάχιστον 24 ώρες, φυλασσόμενο σε θερμοκρασία δωματίου. Αυτή η διαδικασία ενδέχεται να αυξήσει τους βιώσιμους αριθμούς των οργανισμών προς ανίχνευση. Για αυτό το σκοπό μπορεί να χρησιμοποιηθεί το αναερόβιο σύστημα **BD GasPak**. Για τη μελέτη της χλωρίδας των κοπράνων, πρέπει να πραγματοποιηθεί εναιώρηση φρέσκων δειγμάτων ανθρώπινων κοπράνων σε στείρο αλατούχο διάλυμα ή αναερόβιο αλατούχο διάλυμα (αλατούχο διάλυμα που περιέχει 0,1 g κυστεΐνης-HCl ανά λίτρο), και στη συνέχεια δεκαπλάσιες αραιώσεις στο ίδιο υλικό εναιώρησης. Δείγματα 20 έως 50 μl από τις υψηλότερες αραιώσεις (π.χ. 10^{-4} έως 10^{-7}) θα πρέπει να μεταφέρονται με πιπέτα στο **BD Bifidobacterium Agar, Modified** το οποίο στη συνέχεια ενοφθαλμίζεται διασπείροντας και επωάζεται αναερόβια, π.χ. με χρήση του αναερόβιου συστήματος **BD GasPak**.

Άλλα υλικά (π.χ. για τον προσδιορισμό των συνολικών αριθμών και πιθανόν για την ανίχνευση άλλων βακτηριακών ομάδων, π.χ. *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*) θα πρέπει επίσης να ενοφθαλμίζονται από τις κατάλληλες αραιώσεις κοπράνων και να επωάζονται σύμφωνα με τις απαιτήσεις των υλικών και των βακτηριακών ομάδων.

Αποτελέσματα και ερμηνεία

Μετά την επώαση, τα τρυβλία εξετάζονται για ανάπτυξη. Οι κατάλληλες αποικίες πρέπει να εξετάζονται μικροσκοπικά (χρώσεις Gram) για την παρουσία τυπικών δισχιδίων, gram θετικών ραβδίων. Στη συνέχεια οι αποικίες μπορούν να καταμετρηθούν και ο αριθμός τους μπορεί να πολλαπλασιαστεί επί το συντελεστή αραιώσης του δείγματος, ώστε να προκύψει το CFU ανά γραμμάριο κοπράνων. Ανακαλλιέργειες και βιοχημικές εξετάσεις πρέπει να πραγματοποιούνται για μια τελική ταυτοποίηση των απομονωμένων οργανισμών.

Στα κόπρανα υγιών ατόμων, τα δισχιδοβακτήρια είναι παρόντα σε υψηλούς αριθμούς, ενώ η απουσία τους ή χαμηλοί αριθμοί ενδέχεται να υποδηλώνουν κάποια εντερική διαταραχή.^{1-3,5,9}

Μειωμένη παρουσία δισχιδοβακτηρίων στη φυσιολογική χλωρίδα δεν υποδηλώνει θεραπεία των ασθενών με αντιμικροβιακούς παράγοντες ή φάρμακα άλλα από προβιοτικά, αν δεν έχουν ανιχνευθεί μολυσματικοί παράγοντες ως αιτία της διαταραχής.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το υλικό αυτό χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της χλωρίδας *Bifidobacterium* στα ανθρώπινα κόπρανα.

Η σύνθεση του άγαρ *Bifidobacterium* του Beerens και τα παρόμοια υλικά έχει αποδειχθεί ότι είναι ανώτερα των υλικών με υψηλότερο βαθμό επιλεκτικότητας για την απομόνωση των δισχιδοβακτηρίων από το ανθρώπινο έντερο.^{1,2,5,6}

Υπάρχουν δισχιδοβακτήρια που είναι εξαιρετικά απαιτητικά και δεν αναπτύσσονται επαρκώς σε αυτό ή σε άλλα επιλεκτικά υλικά. Επομένως, θα πρέπει να συμπεριληφθεί ένα μη επιλεκτικό υλικό (π.χ. το **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** (Άγαρ Schaedler με βιταμίνη K1 και 5% αίμα προβάτου BD)).^{1,6,7}

Εξαιτίας του χαμηλού του pH και της προσθήκης προπιονικού οξέος, το **BD Bifidobacterium Agar, Modified** αναστέλλει τους γαλακτοβάκιλλους, τα είδη *Eubacterium*, τα κλωστρίδια, το *Enterobacteriaceae* και πολλά άλλα. Η αναστολή ενδέχεται να είναι μερική ή πλήρης, ανάλογα με τους οργανισμούς. Αν ενοφθαλμιστούν μη αραιωμένα ανθρώπινα κόπρανα, στο υλικό αυτό ενδέχεται να αναπτυχθούν οργανισμοί πλην του *Bifidobacterium*.

Το **BD Bifidobacterium Agar, modified** δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται για την απομόνωση των ειδών *Bifidobacterium* από κόπρανα ειδών πλην του ανθρώπου.¹

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

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.

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ/ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

BD Bifidobacterium Agar, modified (Άγαρ Bifidobacterium BD, τροποποιημένο)

Αρ. κατ. 254546 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 and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

© 2012 BD