



## BD Bifidobacterium Agar, Modified

### USO PREVISTO

**BD Bifidobacterium Agar, Modified** (agar BD para *Bifidobacterium*, modificado) es un medio parcialmente selectivo para el aislamiento de la flora de *Bifidobacterium* en muestras fecales humanas.

### PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

Las especies de *Bifidobacterium* son bacilos gram positivos, anaerobios, ramificados o pleomórficos que pueden aislarse de diversos materiales tales como heces humanas y animales, aguas negras y la cavidad bucal. Su hábitat principal en los seres humanos es el intestino grueso, donde es uno de los grupos más importantes de bacterias intestinales normales, llegando a alcanzar una concentración de  $10^9$  a  $10^{11}$  por gramo de heces en adultos sanos<sup>1</sup>. Cuando la composición de la flora normal es afectada por factores internos o externos, por ejemplo, un tratamiento antimicrobiano o antineoplástico, pueden ser superados en crecimiento por las *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* o levaduras<sup>1-3</sup>. Dicho crecimiento excesivo puede ser responsable de la diarrea crónica y otros trastornos intestinales y digestivos. Dada su baja patogenicidad, cada vez es más frecuente el uso de bifidobacterias y lactobacilos como probióticos para mejorar la composición de la flora intestinal en el caso de trastornos. Además, se ha debatido el uso de probióticos en la mejora de determinados trastornos o síndromes extraintestinales, por ejemplo, vaginitis, la infección de *Helicobacter pylori* y la fibrosis quística<sup>3</sup>. Se ha afirmado recientemente que la administración de bifidobacterias favorece el aumento de peso y mejora la función intestinal anómala en los bebés prematuros<sup>4</sup>.

Se han diseñado varios medios para el aislamiento electivo o selectivo de bifidobacterias<sup>1,2,5-9</sup>. Dado que el género está formado por más de 25 especies conocidas, con una heterogeneidad considerable en la resistencia a los agentes microbianos y otros inhibidores, es difícil diseñar un solo medio con una buena selectividad y que a la vez mantenga una buena recuperación de organismos. En numerosas investigaciones se afirma que el Bifidobacterium Medium, tal como lo describe Beerens<sup>1,5</sup> permite una buena recuperación de las especies de *Bifidobacterium* presentes en los intestinos de los seres humanos. Se ha demostrado en estudios recientes que la mayoría de las cepas se recuperan en cantidades más elevadas que en medios selectivos comparables para dichas bacterias<sup>1,2</sup>.

Bifidobacterium Medium, tal como lo describe Beerens, se basa en la base de agar Columbia, suplementado con ácido propiónico, a un pH de 5,0<sup>5</sup>. Se ha demostrado que el ácido propiónico inhibe los hongos y muchas bacterias diferentes de las bifidobacterias, tales como *Bacteroides* intestinal y *Enterobacteriaceae*. El pH bajo del medio contribuye adicionalmente a la inhibición de otros organismos predominantes en las heces humanas, tales como las especies de *Bacteroides* y *Eubacterium*. La cisteína es un agente reductor. **BD Bifidobacterium Agar, Modified** constituye una leve modificación del medio original, suplementado con lactulosa, un azúcar utilizado como prebiótico que es fermentado preferentemente por las bifidobacterias. Se ha añadido glucosa como azúcar universal para acelerar el crecimiento inicial. La riboflavina es una vitamina para numerosas bifidobacterias<sup>8</sup>. El pH se ha incrementado levemente de 5,0 a 5,5 para mejorar la rigidez del gel del agar y favorecer el crecimiento de *Bifidobacterium*.

## REACTIVOS

### BD Bifidobacterium Agar, modified

Fórmula\* por litro de agua purificada

Base de agar Columbia	42,5 g
Glucosa	2,5
Lactulosa	2,5
Cisteína-HCl	0,5
Riboflavina	0,01
Acido propiónico	5,0 mL

pH 5,5 ± 0,2

\*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

## PRECAUCIONES

**IVD** . Solamente para uso profesional. 

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

## ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura de 2 – 8 °C, en su envase original hasta momentos antes de su utilización. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Las placas pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados.

Las placas de pilas abiertas de 10 unidades pueden utilizarse durante una semana cuando se almacenan en un área limpia a una temperatura de 2 – 8 °C.

## CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar en atmósfera anaerobia durante 2 – 3 días a 35 – 37 °C.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Bifidobacterium longum</i> DSM 20219	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de color crema a blanco, olor ácido
<i>Bifidobacterium bifidum</i> DSM 20082	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de color crema a blanco, olor ácido
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Inhibición (parcial a) completa
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Inhibición de parcial a completa
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibición (parcial a) completa
Sin inocular	Ámbar claro

## PROCEDIMIENTO

### Materiales suministrados

**BD Bifidobacterium Agar, Modified** (placas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

### Materiales no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

### Tipos de muestras

Este medio se utiliza para el aislamiento y la determinación cuantitativa de las especies de *Bifidobacterium* a partir de muestras fecales de pacientes que sufren de diarrea crónica y otros trastornos intestinales y digestivos (véase también **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**). Las muestras fecales (idealmente, 10 a 15 gramos

de heces) no deben tener más de 24 h. Se recomienda utilizar un medio de transporte anaerobio.

### Procedimiento de análisis

Antes de utilizar, **BD Bifidobacterium Agar, Modified** puede reducirse previamente en una atmósfera anaerobia durante al menos 24 h y mantenerse a temperatura ambiente. Este procedimiento puede aumentar los recuentos viables de los organismos que se detecten. El sistema anaerobio **BD GasPak** puede utilizarse con dicho propósito.

Para el estudio de la flora intestinal, las muestras fecales humanas recientes deben suspenderse en solución salina estéril o anaerobia (solución salina con 0,1 g de cisteína-HCl por litro), seguido de diluciones de 1:10 en el mismo medio en suspensión. Las muestras de 20 a 50 µL de las diluciones más altas (por ejemplo, las de  $10^{-4}$  a  $10^{-7}$ ) deben transferirse mediante pipeta a **BD Bifidobacterium Agar, Modified** que luego se inocular mediante extensión de la muestra y se incuba en atmósfera anaerobia, por ejemplo, utilizando el sistema anaerobio **BD GasPak**.

También deben inocularse otros medios (por ejemplo, para la determinación de recuentos totales y posiblemente detección de otros grupos bacterianos, tal como *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*) a partir de las diluciones fecales apropiadas e incubarse según los requisitos de los medios y los grupos bacterianos.

### Resultados e Interpretación

Después de la incubación, se examinan las placas para determinar el crecimiento. Las colonias de bifidobacterias deben analizarse al microscopio (mediante tinción de Gram) para detectar la presencia de bacilos bífidos gram positivos característicos. Luego, se puede realizar un recuento de colonias y después, multiplicar el número de colonias por el factor de dilución de la muestra para obtener las UFC por gramo de muestra fecal. Se deben realizar subcultivos y pruebas bioquímicas para lograr una identificación final de los organismos aislados.

En las heces de personas sanas, las bifidobacterias están presentes en altas cantidades, mientras que su ausencia o bajos recuentos puede indicar una afección intestinal<sup>1-3,5,9</sup>.

La presencia menos frecuente de bifidobacterias en la flora normal no implica el tratamiento de pacientes con agentes antimicrobianos o medicamentos que no sean probióticos a menos que se hayan detectado agentes infecciosos específicos como la causa del trastorno.

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Este medio se utiliza para la determinación de la flora de *Bifidobacterium* en las heces humanas. Se ha demostrado que la fórmula de Beerens del agar *Bifidobacterium* y medios similares son superiores a los medios con un nivel más elevado de selectividad para el aislamiento de bifidobacterias de los intestinos humanos<sup>1,2,5,6</sup>.

Existen bifidobacterias extremadamente exigentes que no crecen suficientemente en estos u otros medios selectivos. Por tanto, debe incluirse un medio no selectivo (por ejemplo, **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**)<sup>1,6,7</sup>.

Debido a su bajo pH y la adición de ácido propiónico, **BD Bifidobacterium Agar, Modified** inhibe los lactobacilos, las especies de *Eubacterium*, los clostridios, *Enterobacteriaceae* y muchos otros. La inhibición puede ser parcial o completa, según los organismos. Si se inoculan heces humanas sin diluir, en este medio pueden crecer organismos diferentes de *Bifidobacterium*.

**BD Bifidobacterium Agar, modified** no debe utilizarse para el aislamiento de las especies de *Bifidobacterium* a partir de muestras fecales que no sean humanas<sup>1</sup>.

### REFERENCIAS

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.

## ENVASE Y DISPONIBILIDAD

### BD Bifidobacterium Agar, Modified

Nº de cat. 254546 Medios en placa listos para usar, 20 placas

## INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante local de 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 and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

© 2012 BD