



BD LBS Agar (Lactobacillus Selection Agar)

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

BD LBS Agar (também conhecido como Rogosa Agar) é um meio semi-definido e parcialmente selectivo para o isolamento e enumeração de lactobacilos provenientes da flora intestinal, vaginal, e dentária, especialmente para detecção de distúrbios da flora normal.

PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

Os lactobacilos encontram-se entre os organismos predominantes das floras do tracto intestinal e vaginal. Quando a composição da flora normal é afectada por factores internos ou externos como, por exemplo, por uma terapêutica antimicrobiana ou antineoplástica, pode verificar-se um desenvolvimento excessivo por *Enterobacteriaceae*, bactérias do tipo pseudomonas ou leveduras.¹ O estado de desenvolvimento excessivo no tracto intestinal poderá ser responsável pela diarreia crónica e outras perturbações intestinais e digestivas. Além disso, verificou-se que a redução da flora de *Lactobacillus* está associada à vaginite ou vaginose nas mulheres em idade pré-menopáusia.²⁻⁴ Uma vez que a sua patogenicidade é reduzida, os lactobacilos e as bifidobactérias são cada vez mais utilizados como probióticos para melhorar a composição da flora normal no caso de perturbações como, por exemplo, diarreia aguda ou crónica e vaginite.^{5,6}

Rogosa et al. desenvolveram um ágar LBS como meio selectivo para o isolamento e enumeração de lactobacilos orais e fecais.^{7,8} Referiram que o ágar LBS era mais selectivo na prevenção da hiperproliferação de bolores, estreptococos e organismos em disseminação do que o ágar de sumo de tomate utilizado anteriormente. O **BD LBS Agar** é utilizado para o isolamento e enumeração de lactobacilos provenientes dos alimentos, produtos lácteos e floras intestinal, vaginal e dental humanas.^{9,10}

No **BD LBS Agar**, a peptona de caseína, o extracto de leveduras e o sal de amónio fornecem nitrogénio. O polissorbato 80 fornece os ácidos gordos necessários para o crescimento dos lactobacilos. O manganésio e o magnésio são também factores de crescimento. A glucose é uma fonte universal de energia e carbono. O citrato de amónio, acetato de sódio, ácido acético e o sulfato ferroso actuam como inibidores de estreptococos e de outros organismos contaminantes e fornecem um pH baixo que é tolerado pelos lactobacilos mas não por um grande número de outros organismos. O fosfato, em conjunto com o acetato e o ácido acético, estabiliza o pH.

REAGENTES

BD LBS Agar (Lactobacillus Selection Agar)

Fórmula por Litro de Água Purificada

Hidrolisado pancreático de caseína	10,0 g	Hidrato de acetato de sódio	25,0 g
Extracto de leveduras	5,0	Ácido acético	1,3 mL
Fosfato diidrógeno de potássio	6,0	Sulfato de magnésio	0,575 g
Citrato de amónia	2,0	Sulfato de manganésio	0,12
Glucose	20,0	Sulfato ferroso	0,034
Polissorbato 80	1,0	Ágar	15,0

pH 5,5 ± 0,2

*Ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios do desempenho.

PRECAUÇÕES

IVD . Apenas para uso profissional. ⓧ

Não utilizar as placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura, fissuras ou outros sinais de deterioração.

Consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO** para informação sobre os procedimentos de manuseamento asséptico, os riscos biológicos e os procedimentos de eliminação do produto usado.

ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após recepção das placas, conservar no escuro a uma temperatura entre 2 e 8°C, dentro do invólucro original até ao momento da utilização. Evitar congelar e aquecer excessivamente. As placas podem ser inoculadas até ao prazo de validade (ver a etiqueta da embalagem) e incubadas durante o tempo de incubação recomendado.

As placas são fornecidas em pilhas de 10 e, quando uma destas pilhas é aberta, as respectivas placas terão de ser utilizadas no prazo máximo de uma semana, se forem conservadas em local limpo a uma temperatura entre 2 e 8°C.

CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR

Inocular amostras representativas com as seguintes estirpes (para mais detalhes, consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO**). Incubar as placas a uma temperatura entre 35 e 37°C numa atmosfera anaeróbia durante 2 a 3 dias.

Estirpes	Resultados de crescimento
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Crescimento bom a excelente
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014	Crescimento bom a excelente
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Inibição completa
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibição completa
Não inoculadas	Transparente, âmbar claro a âmbar

PROCEDIMENTO

Materiais fornecidos

BD LBS Agar (placas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlado.

Materiais não fornecidos

Meios de cultura auxiliares, reagentes e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Tipos de amostra

Este meio é utilizado em estudos na presença da *Lactobacillus* na flora de pacientes que sofrem de diarreia crónica e outros distúrbios intestinais e digestivos [utilize amostras fecais (idealmente 10 a 15 gramas de fezes) que não tenham mais de 24 horas] e para testes na presença de lactobacilos na flora vaginal e dentária (utilize zaragatoas vaginais ou dentárias)].

Consultar também **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO**

PROCEDIMENTO. O meio é igualmente utilizado para determinar os lactobacilos presentes nos alimentos. Recomenda-se a utilização de um meio de transporte anaeróbio para todos os tipos de amostras.

Procedimento do teste

Para o estudo da flora intestinal, as amostras de fezes humanas frescas deverão ser submetidas a suspensão numa solução salina estéril ou solução salina anaeróbia (solução salina contendo 0,1 g de cisteína HCl por litro), e seguidamente a dez diluições adicionais no mesmo meio de suspensão. As amostras de 20 a 50 µL das diluições mais elevadas (por exemplo, 10⁻⁴ a 10⁻⁷) devem ser pipetadas no **BD LBS Agar** que é, em seguida, inoculado por extensão e incubado em condições anaeróbias, utilizando, por exemplo, o sistema anaeróbio **BD GasPak**.

Pode utilizar-se o mesmo procedimento para as amostras de alimentos.

Se o material estiver a ser cultivado directamente de uma zaragatoa, fazer rolar a zaragatoa sobre uma pequena área da superfície, na extremidade; em seguida, espalhar a partir desta área inoculada, para obter o isolamento.

Os outros meios (por exemplo, para a determinação de contagens totais de anaeróbios e possivelmente para a detecção de outros grupos bacterianos, por exemplo, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*) deverão também ser inoculados e incubados de acordo com os requisitos dos meios e dos grupos bacterianos.

O tempo e temperatura de incubação óptimos são 2 a 3 dias a uma temperatura entre 35 e 37°C. Deve evitar-se um período de incubação do meio mais longo se tiverem que se realizar subculturas dos isolados após a qual a viabilidade das colónias pode diminuir.

Resultados e interpretação

No **BD LBS Agar**, os lactobacilos aparecem como colónias brancas de média a grande dimensão. Se as amostras tiverem sido colocadas em placas de forma quantitativa, é possível proceder à contagem das colónias e o número de colónias é, em seguida, multiplicado pelo factor de diluição da amostra para obter a CFU por grama de amostra ou material. O crescimento deve ser ainda mais diferenciado por testes microscópicos e bioquímicos.

Nas amostras de fezes ou vaginais de indivíduos saudáveis, os lactobacilos estão presentes em contagens elevadas, ao passo que a sua ausência ou contagens reduzidas poderão ser indicativos de uma perturbação intestinal ou vaginite, respectivamente.^{1,2,4} A ocorrência reduzida de lactobacilos na flora normal não implica o tratamento de doentes com agentes antimicrobianos ou medicamentos que não os probióticos, excepto nos casos em foram detectados agentes infecciosos específicos como a causa de diarreia ou vaginite.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O **BD LBS Agar** é um meio padrão utilizado para o isolamento de *Lactobacillus* provenientes de flora humana e alimentos.^{1,7-10}

A presença e as contagens de lactobacilos na flora vaginal dependem da idade; as contagens elevadas só são esperadas em mulheres saudáveis em idade pré-menopáusia.²

O **BD LBS Agar** não pode ser utilizado como meio de manutenção para os lactobacilos.

O meio não é completamente inibidor relativamente aos estreptococos, enterococos e lactococos. A coloração de Gram e a microscopia são métodos simples utilizados para a diferenciação entre lactobacilos e estes cocos Gram-positivos.

Devido ao seu elevado teor de sal, o meio não é adequado para o isolamento do *Lactobacillus lactis* e do *L. bulgaricus* que são, geralmente, isolados dos produtos lácteos.⁹

BIBLIOGRAFIA

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 acidophilii* 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.

EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

BD LBS Agar

No. de cat. 255011 Meios em placas prontos a usar, 20 placas

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para obter informações adicionais, contacte o representante local da 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.

© 2013 BD