

BD Bifidobacterium Agar, Modified

BRUKSOMRÅDE

BD Bifidobacterium Agar, Modified er et delvis selektivt medium til isolering av *Bifidobacterium*-floraen i fecesprøver fra mennesker.

PRINSIPPER FOR OG FORKLARING AV PROSEDYREN

Mikrobiologisk metode.

Bifidobacterium-arter er grampositive, anaerobe, forgreinede eller pleomorfe staver som kan isoleres fra en rekke materialer, f.eks. feces fra mennesker og dyr, avløpsvann og munnhulen. Det primære voksestedet hos mennesker er tykktarmen, der de er blant de største gruppene av normale tarmbakterier med opptil 10^9 til 10^{11} per gram feces hos friske voksne.¹ Når den normale tarmfloraen forstyrres av indre og ytre faktorer, f.eks. av antimikrobiell eller antineoplastisk behandling, kan bakteriene bli overgrodd med *Enterobacteriaceae*, pseudomonader eller gjærsopper.¹⁻³ Dette kan føre til kronisk diaré og andre lidelser i tarm- og fordøyelsessystemet. Bifidobakterier og laktobasiller har lav patogenisitet og brukes derfor i stadig større grad som probiotika for å bedre sammensetningen av tarmfloraen når denne er forstyrret. Bruken av probiotika for å bedre enkelte ekstraintestinale lidelser eller syndromer, f.eks. vaginitt, infeksjon med *Helicobacter pylori* og cystisk fibrose, er også blitt diskutert.³ Det er også nylig hevdet at administrering av bifidobakterier kan bedre vektøkningen og tarmanomalier hos premature barn.⁴

Det er utviklet flere medier til elektiv eller selektiv isolering av bifidobakterier.^{1,2,5-9} Siden genuset består av flere enn 25 kjente arter med en betydelig heterogenitet med tanke på resistens mot antimikrobielle stoffer og andre hemmere, er det vanskelig å designe ett enkelt medium med god selektivitet samtidig med at man sikrer en god gjenfinning. I flere undersøkelser hevdes det at Bifidobacterium-mediet beskrevet av Beerens^{1,5}, muliggjør god gjenfinning av *Bifidobacterium*-arter i tarmkanalen hos mennesker. Nylige studier viser at de fleste stammene gjenfinnes i høyere antall enn på sammenlignbare selektive medier for disse bakteriene.^{1,2}

Bifidobacterium-mediet som beskrives av Beerens, er basert på Columbia Agar-base, supplert med propionsyre, med en pH på 5,0.⁵ Propionsyre er vist å hemme sopp og en rekke andre bakterier enn bifidobakterier, f.eks. intestinale *Bacteroides* og *Enterobacteriaceae*. Mediets lave pH-verdi bidrar ytterligere til å hemme andre fremtredende organismer i feces hos mennesker, f.eks. *Bacteroides*- og *Eubacterium*-arter. Cystein er et reduksjonsmiddel. **BD Bifidobacterium Agar, Modified** er en lett modifisering av det opprinnelige mediet supplert med laktulose, et sukker som brukes som prebiotikum, og som fortrinnsvis fermenteres av bifidobakterier. Som universelt sukker er glukose tilsatt for å akselerere den initiale veksten. Riboflavin er et vitamin for mange bifidobakterier.⁸ pH-verdien er blitt noe økt fra 5,0 til 5,5 for å bedre agarens gelstyrke og bedre veksten av *Bifidobacterium*.

REAGENSER

BD Bifidobacterium Agar, Modified

Sammensetning* per liter renset vann

Columbia Agar-base	42,5 g
Glukose	2.5
Laktulose	2.5
Cystein-HCl	0.5
Riboflavin	0.01
Propionsyre	5,0 mL

pH 5,5 +/- 0,2

*Justert og/eller supplert etter behov for å oppfylle ytelseskriteriene.

FORSIKTIGHETSREGLER

IVD . Kun til profesjonell bruk. ☒

Skålene må ikke brukes hvis de viser tegn på mikrobiell kontaminering, misfarging, uttørking, sprekkdannelse eller har andre tegn til forringelse.

Se dokumentet **GENERELL BRUKSANVISNING** for informasjon om aseptisk håndtering, biologiske farer og avhending av brukte produkter.

OPPBEVARING OG HOLDBARHET

Etter mottak skal skålene oppbevares mørkt ved 2 – 8 °C i originalinnpakningen inntil like før de skal brukes. Unngå frysing og overoppheting. Agarskålene kan inokuleres frem til utløpsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalte inkubasjonsperiodene.

Agarskåler fra åpnete stabler på 10 skåler kan brukes i én uke når de oppbevares på et rent sted med en temperatur på 2 – 8 °C.

KVALITETSKONTROLL FOR BRUKERE

Inokuler representative prøver med følgende stammer (for mer informasjon, se dokumentet **GENERELL BRUKSANVISNING**). Inkuberes anaerobt i 2 – 3 dager ved 35 – 37 °C.

Stammer	Vekstresultater
<i>Bifidobacterium longum</i> DSM 20219	God til fremragende vekst, kremhvite kolonier, sur lukt
<i>Bifidobacterium bifidum</i> DSM 20082	God til fremragende vekst, kremhvite kolonier, sur lukt
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	(Delvis til) fullstendig hemming
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Delvis til fullstendig hemming
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	(Delvis til) fullstendig hemming
Ikke-inokulert	Lys ravgul

PROSEDYRE

Materialer som følger med

BD Bifidobacterium Agar, Modified (90 mm **Stacker**-skåler). Mikrobiologisk kontrollert.

Materialer som ikke følger med

Supplerende vekstmedier, reagenser og laboratorieutstyr etter behov.

Prøvetyper

Dette mediet brukes til isolering og kvantitativ bestemmelse av *Bifidobacterium*-arter i fecesprøver fra pasienter med kronisk diaré og andre lidelser i tarm- og fordøyelsessystemet (se også **EGENSKAPER VED UTFØRELSEN OG BEGRENSNINGER VED PROSEDYREN**). Fecesprøvene (ideelt 10 – 15 gram feces) må ikke være eldre enn 24 timer. Det anbefales å bruke et anaerobt transportmedium.

Testprosedyre

Før bruk kan **BD Bifidobacterium Agar, Modified** prereduseres i en anaerob atmosfære i minst 24 timer (ved romtemperatur). Denne prosedyren kan øke de levedyktige tellingene av organismene som skal påvises. **BD GasPak** anaerobt system kan brukes til dette.

Ved undersøkelse av fecesfloraen må ferske fecesprøver fra mennesker suspenderes i sterilt eller anaerobt saltvann (saltvann som inneholder 0,1 g cystein-HCl per liter), etterfulgt av tifoldig fortynning i det samme suspensjonsmediet. Prøver med 20 til 50 µl av de høyeste fortynningene (f.eks. 10⁻⁴ til 10⁻⁷) skal pipetteres i **BD Bifidobacterium Agar, Modified**, som deretter spredningsinokuleres og inkuberes anaerobt, f.eks. ved å bruke **BD GasPak** anaerobt system.

Andre medier (f.eks. til bestemmelse av totalt antall og potensielt til påvisning av andre bakteriegrupper, f.eks. *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*) må også inokuleres fra de riktige fecesfortynningene og inkuberes i henhold til kravene som gjelder for mediene og bakteriegruppene.

Resultater og tolkning

Etter inkubering må skålene undersøkes for vekst. Egnede kolonier må testes mikroskopisk (gramstammer) for forekomst av vanlige bifide, grampositive staver. Koloniene kan deretter telles, og antall kolonier multipliseres deretter med prøvens fortynningsfaktor for å oppnå CFU per gram feces. Subkulturer og biokjemiske tester må utføres for å foreta en endelig identifisering av de isolerte organismene.

I feces hos friske personer skal bifidobakterier forekomme i høyt antall, mens lavt antall eller fravær av disse bakteriene kan tyde på tarmsykdom.^{1-3,5,9}

Redusert forekomst av bifidobakterier i den normale floraen medfører ikke behandling av pasienter med andre antimikrobielle stoffer eller legemidler enn probiotika, med mindre spesifikk smittestoffer er påvist som årsaken til lidelsen.

EGENSKAPER VED UTFØRELSEN OG BEGRENSNINGER VED PROSEDYREN

Dette mediet brukes til bestemmelse av *Bifidobacterium*-floraen i feces hos mennesker.

Beerens-formuleringen av Bifidobacterium Agar og lignende medier er funnet å være bedre enn medier med høyere grad av selektivitet til isolering av bifidobakterier i tarmkanalen hos mennesker.^{1,2,5,6}

Noen bifidobakterier er ekstremt kresne, og vil ikke vokse tilstrekkelig på dette eller andre selektive medier. Et ikke-selektivt medium (f.eks. **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**) bør derfor brukes.^{1,6,7}

På grunn av den lave pH-verdien og tilsetningen av propionsyre hemmer **BD Bifidobacterium Agar, Modified** laktobasiller, *Eubacterium*-arter, Clostridia, *Enterobacteriaceae* og en rekke andre. Avhengig av organismene kan hemmingen være delvis eller fullstendig. Hvis ufortynnet human feces inokuleres, kan andre organismer enn *Bifidobacterium* vokse på dette mediet.

BD Bifidobacterium Agar, modified skal ikke brukes til isolering av *Bifidobacterium*-arter i fecesprøver fra annet enn mennesker.¹

REFERANSER

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.

FORPAKNING/TILGJENGELIGHET

BD Bifidobacterium Agar, Modified

Kat. nr. 254546

Ferdiglagde agarskåler, 20 stk.

FLERE OPPLYSNINGER

Ta kontakt med din lokale BD-representant for mer informasjon.



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