

BD Bifidobacterium Agar, Modified

KULLANIM AMACI

BD Bifidobacterium Agar, Modified insan dışkı örneklerinde *Bifidobacterium* florasının izolasyonuna yönelik kısmen seçici bir besiyeridir.

PROSEDÜR İLKELERİ VE AÇIKLAMASI

Mikrobiyolojik yöntem.

Bifidobacterium türleri, insan ve hayvan dışkısı, tık su gibi çeşitli materyallerden ve oral kaviteden izole edilebilen Gram pozitif, anaerobik, dallı veya pleomorfik çubuklardır. İnsandaki başlıca yaşam alanı, sağlıklı yetişkinlerde dışkının bir gramında 10^9 ila 10^{11} 'e ulaşan önemli normal barsak bakteri grupları arasında oldukları kalın barsaktır.¹ Normal flora bileşiminin düzeni dahili veya harici faktörler, örn., antimikrobiyal veya antineoplastik tedavi ile bozulduğunda, *Enterobacteriaceae*, psödomonadlar veya mayalar ile kaplanabilirler.¹⁻³ Bu kaplanma durumu kronik diyare ve diğer barsak ve sindirim bozukluklarından sorumlu olabilir. Patojenlikleri düşük olduğundan, hastalık durumunda barsak florasının bileşiminin düzeltilmesi için bifidobakteriler ve laktobasiller artan bir şekilde probiyotik olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, bazı ekstraintestinal hastalıklar veya sendromların, örn., vajinit, *Helicobacter pylori* ve kistik fibrozisin düzeltilmesi için probiyotiklerin kullanılması tartışılmıştır.³ Prematüre bebeklerde kilo alımının ve intestinal anormalliklerin iyileştirilmesi için bifidobakterilerin uygulanması yakın bir zamanda iddia edilmiştir.⁴

Bifidobakterilen elektif veya seçici izolasyonuna yönelik birkaç besiyeri tasarlanmıştır.^{1,2,5-9} Bu sınıf antimikrobiyal ajanlara ve diğer inhibitörlere direnç bakımından dikkate değer bir heterojenliğe sahip 25'ten fazla bilinen türü içerdiğinden, iyi bir geri kazanım devam ettirilirken iyi bir seçiciliğe sahip tek bir besiyerinin tasarlanması güçtür. Bir kaç araştırmada, *Bifidobacterium* Besiyerinin, Beerens^{1,5} tarafından tanımlandığı gibi, insanın barsak bölgesinde bulunan *Bifidobacterium* türlerinin iyi bir şekilde geri kazanımına imkan verdiği iddia edilmiştir. Son çalışmalar, çoğu suşun bu bakterilere yönelik benzer seçici besiyerlerinden daha yüksek sayımlarla geri kazanıldığını göstermektedir.^{1,2}

Beerens tarafından tanımlandığı şekliyle *Bifidobacterium* Besiyeri, pH 5,0'da propiyonik asit ile zenginleştirilmiş Columbia Agar bazını esas almaktadır.⁵ Propiyonik asidin mantarları ve bifidobakteriler hariç intestinal *Bacteroides* ve *Enterobacteriaceae* gibi bir çok bakteriyi inhibe ettiği gösterilmiştir. Besiyerinin düşük pH'sının, insan dışkısında bulunan *Bacteroides* ve *Eubacterium* türleri gibi diğer yaygın organizmaların inhibe edilmesinde payı vardır. Sistein indirgeyici bir ajandır. **BD Bifidobacterium Agar, Modified**, orijinal besiyerinin, tercihen bifidobakteriler tarafından fermente edilen prebiyotik olarak kullanılan bir şeker olan laktuloz ile zenginleştirilmiş hafif bir modifikasyonudur. Genel bir şeker olarak glikoz, ilk gelişimi hızlandırmak üzere eklenmiştir. Riboflavin bir çok bifidobakteri için bir vitamindir.⁸ Agarın jel kuvvetini artırmak ve *Bifidobacterium*'un daha iyi gelişmesi için pH çok az bir şekilde 5,0'ten 5,5'e artırılmıştır.

REAKTİFLER

BD Bifidobacterium Agar, modified

1 Litre Saf Su için Formül*

Columbia Agar Base	42,5 g
Glikoz	2,5
Laktuloz	2,5
Sistein-HCl	0,5
Riboflavin	0,01
Propiyonik Asit	5,0 ml

pH 5,5 +/- 0,2

*Performans kriterlerini karşılamak üzere gereken şekilde ayarlanmış ve/veya desteklenmiştir.

ÖNLEMLER

IVD . Yalnızca profesyonel kullanım içindir. ⓧ

Mikrobiyal kontaminasyon belirtileri, renk değişimi, kuruma, çatlama veya diğer bozulma belirtileri görülen plakları kullanmayın.

Aseptik kullanım prosedürleri, biyolojik tehlikeler ve kullanılmış ürünün atılmasıyla ilgili olarak **GENEL KULLANIM TALİMATLARI** belgesine bakın.

SAKLAMA VE RAF ÖMRÜ

Alındıktan sonra plakları kullanana kadar orijinal kaplı ambalajında karanlıkta 2 ila 8 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve aşırı ısıtmaktan kaçının. Plaklar son kullanma tarihine kadar (ambalaj etiketine bakın) ve önerilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilebilir.

10 plaklık açılmış yığınardan alınan plaklar temiz bir alanda, 2 ila 8 °C'de saklandığında bir hafta kullanılabilir.

KULLANICI TARAFINDAN KALİTE KONTROLÜ

Temsili örnekleri aşağıdaki suşlar ile inoküle edin (detaylar için, bkz. **GENEL KULLANIM TALİMATLARI** belgesi). Plakları anaerobik olarak 2 ila 3 gün boyunca 35 ila 37 °C'de inkübe edin.

Suşlar	Gelişim Sonuçları
<i>Bifidobacterium longum</i> DSM 20219	İyi ila mükemmel gelişim; krem rengimsi beyaz koloniler, asit kokusu
<i>Bifidobacterium bifidum</i> DSM 20082	İyi ila mükemmel gelişim; krem rengimsi beyaz koloniler, asit kokusu
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	İnhibisyon (kısmi ila) tam
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Kısmi ila tam inhibisyon
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	İnhibisyon (kısmi ila) tam
İnoküle edilmemiş	Açık kehribar rengi

PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler

BD Bifidobacterium Agar, Modified (90 mm **Stacker** plaklar). Mikrobiyolojik açıdan kontrol edilmiştir.

Sağlanmayan Malzemeler

Yardımcı kültür ortamı, reaktifler ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

Örnek Türleri

Bu besiyeri, kronik diyare ve diğer barsak ve sindirim bozuklukları izlenen hastaların dışkı örneklerinden *Bifidobacterium* türlerinin izolasyonu ve kantitatif saptanması için kullanılır (aynı zamanda bkz. **PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR**).

Dışkı örnekleri (ideal olarak 10 ila 15 gram dışkı) 24 saatten eski olmamalıdır. Anaerobik bir aktarım besiyerinin kullanılması tavsiye edilir.

Test Prosedürü

Kullanmadan önce, **BD Bifidobacterium Agar, Modified**, oda sıcaklığında tutularak en az 24 saat boyunca anaerobik bir atmosferde yeniden indirgenebilir. Bu prosedür, tespit edilecek organizmaların canlı sayımını artırabilir. Bunun için, **BD GasPak** Anaerobik Sistem kullanılabilir. Fekal floranın incelenmesi için, taze insan dışkısı örnekleri steril salin veya anaerobik salin (bir litrede 0,1 g sistein HCl içeren salin) içerisinde süspanse edilmeli ve bunu aynı süspansiyon besiyerindeki on kat seyreltmeler takip etmelidir. En yüksek seyreltmelerden (örn., 10^{-4} ila 10^{-7}) 20 ila 50 µl'lik numuneler, örn., **BD GasPak** Anaerobik sistem kullanılarak daha sonra yayılarak inoküle edilen ve anaerobik olarak inkübe edilen **BD Bifidobacterium Agar, Modified**'e pipetle alınmalıdır.

Diğer besiyerleri (örn., toplam sayımın saptanması ve muhtemelen diğer bakteri gruplarının, örn., *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae* saptanmasına yönelik) de uygun fekal seyreltimlerden inokle edilmeli ve besiyerleri ve bakteri gruplarının ihtiyaçlarına göre inkübe edilmelidir.

Sonuçlar ve Yorumlama

İnkübasyondan sonra, plaklar gelişim açısından incelenir. Uygun koloniler, tipik bifid, gram pozitif çubuklar bakımından mikroskopik olarak (Gram boyalar) test edilmelidir. Daha sonra koloniler sayılabilir, ve bir gram dışkı için CFU'yu elde etmek üzere koloni sayısı numunenin seyreltme faktörü ile çarpılır. İzole edilen organizmaların nihai tanımlaması için altkültürler ve biyokimyasal testler uygulanmalıdır.

Sağlıklı bireylerin dışkılarında, bifidobakteriler yüksek sayımlarda mevcut olacaktır halbuki yoklukları veya düşük sayımları barsak hastalığı için bir ipucu olabilir.^{1-3,5,9}

Normal florada bifidobakterilerin bulunmasının azalması spesifik enfeksiyöz ajanlar hastalığının nedeni olarak saptanmadıkça, hastaların probiyotiklerin dışında antimikrobiyal ajanlar veya ilaçlar ile tedavi edildiği anlamına gelmez.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

Bu besiyeri, insan dışkısında *Bifidobacterium* florasının saptanması için kullanılır.

Bifidobacterium Agarın Beerens formülasyonu ve benzer besiyerleri, insan bağırsağından bifidobakterilerin izolasyonu için daha yüksek derecede seçiciliğe sahip besiyerlerine göre üstün bulunmuştur.^{1,2,5,6}

Aşırı güç üreyen ve bu veya diğer seçici besiyerlerinde yeterince gelişmeyen bifidobakteriler bulunmaktadır. Bu sebeple, seçici olmayan bir besiyeri (örn., **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**) dahil edilmelidir.^{1,6,7}

Düşük pH'sından ve propiyonik asidin eklenmesinden dolayı, **BD Bifidobacterium Agar, Modified** laktobasilleri, *Eubacterium* türlerini, klostridya, *Enterobacteriaceae* ve diğer bir çoğunu inhibe eder. İnhibisyon organizmaya bağlı olarak kısmi veya tam olabilir. Seyreltilmemiş insan dışkısı inoküle edilmişse, *Bifidobacterium* haricindeki organizmalar bu besiyerinde gelişebilir. **BD Bifidobacterium Agar, modified**, insan dışındaki türlerin dışkılarından *Bifidobacterium* türlerinin izolasyonu için kullanılmamalıdır.¹

REFERANSLAR

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.

AMBALAJ/TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

BD Bifidobacterium Agar, Modified

Kat. No. 254546

Kullanıma Hazır Plak Besiyeri, cpu 20

EK BİLGİ

Daha fazla bilgi için lütfen yerel BD temsilcinizle temasa geçin.



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