

BD LBS Agar (Lactobacillus Selection Agar)**KULLANIM AMACI**

BD LBS Agar (Rogosa Agarı olarak da bilinir), gıdalar ve barsak, vajina ve diş eti florasından laktobasillerin izolasyonu ve sayımına yönelik yarı-tanımlı, kısmen seçici besiyeridir.

PROSEDÜR İLKELERİ VE AÇIKLAMASI

Mikrobiyolojik yöntem.

Laktobasiller, barsak bölgesi ve vajina florasının baskın organizmaları arasındadır. Normal floranın bileşiminin düzeni dahili veya harici faktörler, örn., antimikrobiyal veya antineoplastik tedavi ile bozulduğunda, *Enterobacteriaceae*, psödomonadlar veya mayalar ile kaplanabilirler.¹ Barsak bölgesindeki bu kaplanma durumu kronik diyare ve diğer barsak ve sindirim bozukluklarından sorumlu olabilir. Ayrıca, *Lactobacillus* florasındaki bir azalmanın menapoz öncesi kadınlarda vajinit veya vaginosis ile ilişkili olduğu bulunmuştur.²⁻⁴ Patojenlikleri düşük olduğundan, akut ve kronik diyare ve vajinit gibi hastalık durumun normal floranın düzeltilmesi için laktobasiller ve bifidobakteriler probiyotik olarak artan bir şekilde kullanılmaktadır.^{5,6} Rogosa ve ark. LBS Agarı, oral ve fekal laktobasillerin izolasyonu ve sayımına yönelik seçici bir besiyeri olarak geliştirmiştir.^{7,8} LBS Agarı küf, streptokok ve yayılan organizmaların aşırı gelişiminin önlenmesinde daha önce kullanılan domates suyu agarına göre daha seçici olduğunu bildirmişlerdir. **BD LBS Agar** gıdalardan, süt ürünlerinden ve insan barsak, vajina ve diş eti florasından laktobasillerin izolasyonu ve sayımı için kullanılır.^{9,10}

BD LBS Agar'da, kazein peptonu, maya ekstraktı ve amonyum tuzu azotu sağlar. Polisorbata 80, laktobasillerin gelişimi için gerekli olan yağ asitlerinin temin eder. Mangan ve magnezyum gelişim faktörleridir. Glikoz genel bir enerji ve karbon kaynağıdır. Amonyum sitrat, sodyum asetat, asetik asit ve ferröz sülfat streptokok ve diğer kontamine edici organizmaların inhibitörü gibi etki eder ve laktobasiller tarafından tolere edilen fakat diğer birçok organizma tarafından tolere edilmeyen düşük pH'yı sağlar. Fosfat, asetta ve asetik asit ile birlikte pH'yı stabilize eder.

REAKTİFLER**BD LBS Agar (Lactobacillus Selection Agar) (Lactobacillus Seçim Agarı)**

1 Litre Saf Su için Formül

Kazeinin Pankreatik Dijesti	10,0 g	Sodyum Asetat Hidrat	25,0 g
Maya Ekstraktı	5,0	Asetik Asit	1,3 ml
Potasyum Dihidrojen Fosfat	6,0	Magnezyum Sülfat	0,575 g
Amonyum Sitrat	2,0	Mangan Sülfat	0,12
Glikoz	20,0	Ferröz Sülfat	0,034
Polisorbata 80	1,0	Agar	15,0

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 35 ila 37 °C'de anaerobik bir atmosferde 2 ila 3 gün boyunca inkübe edin.

Suşlar	Gelişim Sonuçları
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	İyi ila mükemmel gelişim
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014	İyi ila mükemmel gelişim
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Tam inhibisyon
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Tam inhibisyon
Inoküle edilmemiş	Berrak, açık kehribar ila kehribar

PROSEDÜR

Sağlanan malzemeler

BD LBS Agar (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 ile karşılaşan hastaların *Lactobacillus* floralarının varlığı ile ilgili çalışmalarda [24 saatten daha eski olmayan dışkı örneklerini kullanın (ideal olarak 10 ila 15 gram dışkı)] ve vajina ve dış eti florasında laktobasillerin varlığının test edilmesinde (vajinal veya dental swablar kullanın) kullanılmaktadır. (aynı zamanda bkz **PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR**). Bu besiyeri gıdalarda bulunan laktobasillerin tespit edilmesinde de kullanılır. Tüm örnek ve numune türleri için anaerobik aktarım besiyerinin kullanılması önerilir.

Test Prosedürü

Barsak florasının 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 süspanسیون 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 LBS Agar**'a pipetle alınmalıdır.

Aynı prosedür gıda numuneleri için de kullanılabilir.

Materyal doğrudan swabdan geliştirilecekse, swabı kenarın yüzeyinde küçük bir alanın üzerinde döndürün; ardından izolasyon için bu inoküle edilmiş alandan sürme yöntemi ile ekim yapın. Diğer besiyerleri (örn., toplam sayımın saptanması ve muhtemelen diğer bakteri gruplarının, örn., *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae* saptanmasına yönelik) de besiyerleri ve bakteri gruplarının ihtiyaçlarına göre inoküle ve inkübe edilmelidir.

Optimum inkübasyon süreleri ve sıcaklığı 2 ila 3 gün 35 ila 37 °C'dir. İzolatların altkültürlerinin yapılması gerekiyorsa, kolonilerin canlılıkları sonrasında azalabileceğinden besiyerinin daha uzun bir inkübasyonundan kaçınılmalıdır.

Sonuçlar ve Yorumlama

BD LBS Agar'da, laktobasiller orta büyüklükte ila büyük, beyaz koloniler şeklinde görünür. Örnekler veya numuneler kantitatif bir şekilde plaklandıysa, koloniler sayılabilir, ve gram örnek veya materyal başına CFU'yu elde etmek için koloni sayısı numunenin seyreltme faktörü ile çarpılır. Gelişim, mikroskopik ve biyokimyasal testler ile daha ileri düzeyde ayrıştırılmalıdır.

Sağlıklı bireylerin feçes ve vajinal örneklerinde, laktobasiller yüksek sayımlarla mevcuttur halbuki yoklukları ve düşük sayımları, sırasıyla, barsak hastalığı veya vajinit için bir ipucu olabilir.^{1,2,4}

Normal florada laktobasillerin bulunmasının azalması spesifik enfeksiyöz ajanlar diyare veya vajinitin nedeni olarak saptanmadıkça hastaların probiyotiklerin dışında antimikrobiyal ajanlar veya ilaçlar ile tedavi edildiği anlamına gelmez.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

BD LBS Agar, insan florasından veya gıdalardan *Lactobacillus*'un izolasyonu için kullanılan standart bir besiyeridir.^{1,7-10}

Laktobasillerin vajinal floradaki varlığı ve sayımı yaşa bağlıdır; yüksek sayımlar yalnızca sağlıklı, menapoz öncesi kadınlarda beklenmektedir.²

BD LBS Agar, laktobasiller için idame besiyeri olarak kullanılmamalıdır.

Bu besiyeri streptokok, enterokok ve laktokoklar için tamamen inhibe edici değildir. Gram suş ve mikroskop, laktobasillerin bu Gram pozitif koklardan ayrıştırılması için kolay bir araçtır.

Yüksek tuz içeriğinden dolayı, bu besiyeri genellikle süt ürünlerinden izole edilen *Lactobacillus lactis* ve *L. bulgaricus*'un izolasyonu için uygun değildir.⁹

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. 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 acidophili* 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.

AMBALAJ/TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ

BD LBS Agar

Kat. No. 255011

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