

BD Bifidobacterium Agar, Modified**TILSIGTET BRUG**

BD Bifidobacterium Agar, Modified (BD Bifidobacterium-agarmiddel, ændret) er et delvist selektivt medium til isolering af *Bifidobacterium*-flora i humane fæcesarter.

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

Mikrobiologisk metode.

Bifidobacterium-arter er Gram-positive, anaerobe, forgrenede eller pleomorfe stave, som kan isoleres fra en række materialer, f.eks. humant og animalsk fæces, spildevand og fra mundhulen. Deres vigtigste habitat hos mennesker er tyktarmen, hvor de er en af de større grupper af normale tarmbakterier med 10^9 til 10^{11} per gram fæces hos raske voksne.¹ Når sammensætningen af den normale flora forstyrres af interne eller eksterne faktorer, f.eks. antimikrobiel eller antineoplastisk behandling, sker det, at de overgros af *Enterobacteriaceae*, pseudomonader ellers gærkolonier.¹⁻³ Overgroningen kan medføre kronisk diarre og andre tarm- og fordøjelsessygdomme. Eftersom deres patogenicitet er lav, anvendes bifidobakterier og lactobaciller i stigende grad som probiotika med henblik på at forbedre sammensætningen af tarmfloraen i tilfælde af sygdomme. Det har desuden været diskuteret, om probiotika forbedrer visse extraintestinale sygdomme eller syndromer, f.eks. vaginitis, *Helicobacter pylori*-infektion og cystisk fibrose.³ Det er for nylig hævdet, at administration af bifidobakterier øger vægten og mindsker tarmproblemerne hos for tidligt fødte børn.⁴

Flere medier er blevet udviklet med henblik på elektiv eller selektiv isolering af bifidobakterier.^{1,2,5-9} Eftersom slægten består af mere end 25 kendte arter, som er væsentligt forskellige med hensyn til modstandsdygtighed over for antimikrobielle stoffer og andre hæmningsstoffer, er det vanskeligt at designe et enkelt medie med god selektivitet, uden at det går ud over restitutionen. I mange undersøgelser hævdes det, at Bifidobacterium-medium som beskrevet af Beerens^{1,5} giver en god restitution ved *Bifidobacterium*-arter i den humane tarmkanal. Nye undersøgelser viser, at de fleste stammer restitueres i højere tællinger end tilsvarende selektive medier for disse bakterier.^{1,2}

Bifidobacterium-medium er som beskrevet af Beerens baseret på Columbia Agar-basen suppleret med propionsyre ved pH 5,0.⁵ Propionsyre har vist sig at hæmme fungi og mange andre bakterier end bifidobakterier, f.eks. *Bacteroides* og *Enterobacteriaceae* i tarmen. Mediets lave pH bidrager yderligere til at hæmme andre fremherskende organismer i human fæces, f.eks. *Bacteroides*- og *Eubacterium*-arter. Cystein er et reduktionsmiddel. **BD Bifidobacterium Agar, Modified** er en modificeret udgave af det oprindelige medium, suppleret med laktulose, som er et sukkerstof, der bruges som præbiotisk stof, som fortrinsvist fermenteres af bifidobakterier. Glukose, som er et universelt sukkerstof, er tilføjet for at fremskynde den første vækst. Riboflavin er et vitamin for mange bifidobakterier.⁸ pH er øget en smule fra 5,0 til 5,5 for at forbedre agarmidlets gelstyrke og øge væksten af *Bifidobacterium*.

REAGENSER**BD Bifidobacterium Agar, modified**

Formel* pr. liter oprenset vand

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

*Justeret og/eller suppleret, som krævet for at opfylde funktionskriterierne.

FORHOLDSREGLER

IVD . Kun til professionel brug. 

Pladerne må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring, brud eller andre tegn på nedbrydning.

Læs dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for procedurer om aseptisk håndtering, biologiske farer og bortskaffelse af brugte produkter.

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Pladerne opbevares efter modtagelse i mørke ved 2 til 8 °C i deres originale hylsterindpakning indtil umiddelbart inden ibrugtagning. Undgå nedfrysning og overophedning. Pladerne kan inokuleres indtil udløbsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalede inkubationstider.

Plader fra åbne stabler med 10 plader kan bruges i en uge, når de opbevares i et rent område ved 2 – 8 °C.

BRUGERKVALITETSKONTROL

Inokuler repræsentative prøver med de følgende stammer (se dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for at få detaljer). Inkuber anaerobt i 2 til 3 dage ved 35 – 37 °C.

Stammer	Vækstresultater
<i>Bifidobacterium longum</i> DSM 20219	Vækst god til fortrinlig; rige hvide kolonier, syrelugt
<i>Bifidobacterium bifidum</i> DSM 20082	Vækst god til fortrinlig; rige hvide kolonier, syrelugt
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Hæmning (delvis til) fuldstændig
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Hæmning delvis til fuldstændig
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Hæmning (delvis til) fuldstændig
Ikke-inokuleret	Svagt ravgul

PROCEDURE

Vedlagte materialer

BD Bifidobacterium Agar, Modified (90 mm **Stacker**-plader). Mikrobiologisk kontrolleret.

Materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpekulturmedier, reagenser og laboratorieudstyr som påkrævet.

Præparattyper

Dette medie bruges til isolering og kvantitativ bestemmelse af *Bifidobacterium* -arter fra fæcespræparater hos patienter, som lider af kronisk diaré og andre tarm- og fordøjelsessygdomme (se også **FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER**). Fæcespræparater (ideelt 10 – 15 gram fæces) må ikke være mere end 24 timer gamle. Det anbefales at bruge et anaerobt transportmedium.

Testprocedure

Inden brug kan **BD Bifidobacterium Agar, Modified** eventuelt præreduceres i en anaerob atmosfære i mindst 24 timer ved rumtemperatur. Denne procedure kan muligvis øge den levedygtige optælling af de organismer, som skal detekteres. Det anaerobe **BD GasPak**-system kan eventuelt anvendes til dette formål.

Til undersøgelsen af fæcesfloraen skal friske humane fæcespræparater suspenderes i en steril saltvandsopløsning eller anaerob saltvandsopløsning (saltvandsopløsning indeholdende 0,1 g cystein-HCl pr. liter) efterfulgt af tifold fortyndinger i den samme opløsning. Prøver af 20 – 50 µl af de højeste fortyndinger (f.eks. 10^{-4} til 10^{-7}) skal pipetteres på **BD Bifidobacterium Agar, Modified**, som derefter inokuleres ved hjælp af spredning og inkuberes anaerobt, f.eks. ved hjælp af det anaerobe **BD GasPak**-system.

Andre medier (f.eks. til bestemmelse af totale tællinger og eventuelt til detektering af andre bakterielle grupper, f.eks. *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*) skal også inokuleres fra de relevante fæcesopløsninger og inkuberes i henhold til betingelserne for mediet og de bakterielle grupper.

Resultater og tolkning

Efter inkubationen skal pladerne undersøges for vækst. Passende kolonier skal testes mikroskopisk (Gramfarvning) for tilstedeværelse af typiske bifidobacterium-Gram-positive stave. Derefter kan kolonier tælles, og antallet af kolonier multipliceres derefter med prøvens fortyndingsfaktor for at finde CFU pr. gram fæces. Der skal foretages videredyrkning og biokemiske test for at få en endelig identifikation af de isolerede organismer.

I fæces fra raske personer skal bifidobakterier være til stede i høje tællinger, mens fravær af bifidobakterier eller lave tællinger kan være tegn på tarmsygdom.^{1-3,5,9}

Lav forekomst af bifidobakterier i normal flora indebærer ikke behandling af patienter med andre antimikrobielle stoffer eller præparater end probiotika, medmindre der er registreret smitstoffer som årsag til sygdommen.

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Dette medium anvendes til kvantitativ bestemmelse af *Bifidobacterium*-flora i human fæces. Beerens-formuleringen af Bifidobacterium-agarmiddel og lignende medier er påvist at være bedre end medier med en højere grad af selektivitet til isolering af bifidobakterier fra det humane tarmsystem.^{1,2,5,6}

Der findes bifidobakterier, som er ekstremt kræsne og ikke gror tilstrækkeligt på dette eller andre selektive medier. Derfor bør der medtages et ikke-selektivt medium (f.eks. **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood (BD Schaedler-agarmiddel med vitamin K1 og 5 % fåreblod)**).^{1,6,7}

Takket være dets lave pH og tilsætningen af propionsyre hæmmer **BD Bifidobacterium Agar, Modified** lactobaciller, *Eubacterium*-arter, clostridia, *Enterobacteriaceae* og mange andre. Hæmningen kan være delvis eller komplet afhængig af organismernes. Hvis ikke-fortyndet human fæces inokuleres, kan andre organismer end *Bifidobacterium* muligvis vokse på dette medium. **BD Bifidobacterium Agar, Modified** bør kun bruges til isolering af *Bifidobacterium*-arter fra human fæces.¹

LITTERATUR

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.

EMBALLERING/BESTILLING

BD Bifidobacterium Agar, Modified

Kat. Nr. 254546

Plademedier klar til brug, cpu 20

YDERLIGERE OPLYSNINGER

Kontakt den lokale BD-repræsentant angående yderligere oplysninger.



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 er et varemærke tilhørende American Type Culture Collection.

BD, BD-logoet, Stacker og GasPak er varemærker tilhørende Becton, Dickinson and Company.

© 2012 BD