

BD LBS Agar (Lactobacillus Selection Agar)

TILSIGTET BRUG

BD LBS Agar (også kendt Rogosa-agar) er et semi-defineret, delvist selektivt medium til isolering og optælling af lactobaciller fra intestinal-, vaginal- og dentalfloora, særligt til påvisning af sygdomme i normal flora.

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

Mikrobiologisk metode.

Lactobaciller er blandt de mest fremtrædende organismer i floraer fra tarmkanalen og vagina. 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 eller gærarter.¹ Overvæksttilstanden i tarmkanalen kan forårsage kronisk diarré og andre tarm- og fordøjelsessygdomme. Desuden er det påvist, at en reduktion af *Lactobacillus*-flora er forbundet med vaginitis eller vaginosis hos præmenopausale kvinder.²⁻⁴ 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, f.eks. kronisk diarré og vaginitis.^{5,6}

Rogosa et al. udviklede LBS-agar som et selektivt medium til isolering og optælling af orale og fækale lactobaciller.^{7,8} De rapporterede, at LBS-agar var mere selektiv til forebyggelse af overvækst af mug, streptokokker og spredning af organismer end det tidligere anvendte tomatjuice-agar. **BD LBS Agar** bruges til isolering og optælling af lactobaciller fra fødevarer, mejeriprodukter og intestinal-, vaginal- og dentalfloora.^{9,10}

I **BD LBS Agar** afgiver kaseinpepton, gærekstrakt og ammoniumsalt nitrogen. Polysorbat 80 tilføjer fedtsyrer, der er nødvendige til dyrkning af lactobaciller. Mangan og magnesium er vækstfaktorer. Glucose udgør en grundlæggende energi- og kulstofkilde. Ammoniumcitrat, natriumacetat, eddikesyre og jernsulfat fungerer som hæmmere af streptokokker og andre kontaminerende organismer og giver den lave pH-værdi, som tåles af lactobaciller, men ikke af mange andre organismer. Fosfat sammen med acetat- og eddikesyre stabiliserer pH-værdien.

REAGENSER

BD LBS Agar (Lactobacillus Selection Agar)

Formel pr. liter rensset vand

Pankreatisk fordøjelse af kasein	10,0 g	Natriumacetathydrat	25,0 g
Gærekstrakt	5.0	Eddikesyre	1,3 mL
Kaliumdihydrogenfosfat	6.0	Magnesiumsulfat	0,575 g
Ammoniumcitrat	2.0	Mangansulfat	0.12
Glucose	20.0	Jernsulfat	0.034
Polysorbat 80	1.0	Agar	15.0

pH 5,5 +/- 0,2

*Justeret og/eller suppleret efter behov 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.

Se 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 – 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 åbnede 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 følgende stammer (se dokumentet **GENEREL**

BRUGSANVISNING for at få detaljer). Inkuber plader ved 35 – 37 °C i en aerob atmosfære i 2 – 3 dage.

Stammer	Vækstresultater
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Vækst god til fortrinlig
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014	Vækst god til fortrinlig
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Hæmning fuldstændig
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Hæmning fuldstændig
Ikke-inokuleret	Klar, svagt ravgul til ravgul

PROCEDURE

Vedlagte materialer

BD LBS Agar (90 mm **Stacker™**-plader). Mikrobiologisk kontrolleret.

Materialer, der ikke er vedlagt

Hjælpedyrkningsmedier, reagenser og laboratorieudstyr efter behov.

Præparattyper

Dette medium anvendes til studier i tilstedeværelsen af *Lactobacillus*-flora hos patienter, der lider af kronisk diarré og andre tarm- og fordøjelsessygdomme [brug fæcespræparater (ideelt 10 – 15 gram fæces), som ikke er ældre end 24 timer, og til test for tilstedeværelsen af lactobaciller i vaginal- og dentalflora (brug vaginal- eller dentalpodepinde)]. Se også

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER. Mediet anvendes også til at påvise lactobaciller, der findes i fødevarer. Brugen af et anaerobt transportmedium anbefales til alle typer præparater og prøver.

Testprocedure

Til undersøgelsen af tarmfloraen skal friske humane fæcespræparater opløses 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 LBS Agar**, som derefter inokuleres ved hjælp af spredning og inkuberes anaerobt, f.eks. ved hjælp af **BD GasPak** anaerobic system (anaerobt system).

Samme procedure kan anvendes til fødevareprøver.

Hvis materialet dyrkes direkte fra en podepind, kan podepinden rulles over et lille område på overfladen ved kanten. Derefter udstryges der for isolation fra dette inokulerede område.

Andre medier (f.eks. til bestemmelse af totale tællinger og eventuelt til påvisning af andre bakteriegrupper, f.eks. *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*) skal også inokuleres og inkuberes i henhold til betingelserne for mediet og bakterielgrupperne.

Optimal inkubationstid og -temperatur er 2 – 3 dage ved 35 – 37 °C. En længere inkubationstid for mediet skal undgås, hvis der skal laves subkulturer af isolaterne, da koloniernes levedygtighed derefter kan forringes.

Resultater og tolkning

På **BD LBS Agar** fremstår lactobaciller som mellemstore til store hvide kolonier. Hvis præparaterne eller prøverne anbragt på plader kvantitativt, kan kolonier tælles, og antallet af kolonier multipliceres derefter med prøvens fortyndingsfaktor for at finde CFU pr. gram præparat eller materiale. Vækst skal differentieres yderligere vha. mikroskopiske og biokemiske test.

I fæces- eller vaginalpræparater fra raske personer skal lactobaciller være til stede i høje tal, mens fravær af den eller lave tal kan være tegn på henholdsvis tarmsygdom eller vaginitis.^{1,2,4}

Lav forekomst af lactobaciller i normal flora indebærer ikke behandling af patienter med andre antimikrobielle stoffer eller lægemidler end probiotika, medmindre der er registreret smitstoffer, som er årsag til diarré eller vaginitis.

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

BD LBS Agar er et standardmedium, der anvendes til isolering af *Lactobacillus* fra human flora og fødevarer.^{1,7-10}

Tilstedeværelsen og antallet af lactobaciller i vaginalflora er aldersafhængigt: Høje tal forventes kun hos raske præmenopausale kvinder.²

BD LBS Agar må ikke bruges som vedligeholdelsesmedie til lactobaciller.

Mediet er ikke fuldstændigt hæmmende over for streptokokker, enterokokker og lactokokker. Gramfarvning og mikroskopi er nemme metoder til differentiering af lactobaciller fra disse grampositive kokker.

Pga. dets høje saltindhold er mediet ikke egnet til isolering af *Lactobacillus lactis* og *L. bulgaricus*, som typisk isoleres fra mejeriprodukter.⁹

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. 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.

EMBALLERING/BESTILLING

BD LBS Agar

Katalognummer 255011

Plademedier klar til brug, cpu 20

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For further information please contact your local BD representative.



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