

BD Bifidobacterium Agar, Modified

USO PREVISTO

BD Bifidobacterium Agar, Modified (agar modificato per *Bifidobacterium*) è un terreno parzialmente selettivo per l'isolamento di *Bifidobacterium* spp. in campioni di feci umane.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

Bifidobacterium spp. sono bacilli Gram-positivi, anaerobi, ramificati o pleomorfi isolabili da vari materiali, come feci umane e animali, liquami, e dalla cavità orale. Il loro habitat primario nell'uomo è l'intestino crasso, in cui sono tra i batteri principali della flora normale e raggiungono una concentrazione di $10^9 - 10^{11}$ per grammo di feci negli adulti sani.¹ Se la composizione della flora normale viene alterata da fattori interni o esterni, ad es. per effetto della terapia antibiotica o antineoplastica, la crescita di questi batteri può essere superata dallo sviluppo di *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* o lieviti.¹⁻³ La crescita eccessiva può provocare diarrea cronica e altri disturbi intestinali e digestivi. Avendo scarsa patogenicità, *Bifidobacterium* e lattobacilli sono sempre più impiegati come probiotici per integrare la composizione della flora intestinale in casi di disturbi. L'uso di probiotici è stato preso in considerazione anche per trattare alcuni disturbi o sindromi extraintestinali, ad es. vaginiti, infezioni da *Helicobacter pylori* e fibrosi cistica.³ Di recente, la somministrazione di *Bifidobacterium* è stata associata a incremento ponderale e miglioramento delle anomalie intestinali nei neonati prematuri.⁴

Sono stati allestiti diversi terreni per l'isolamento elettivo o selettivo di *Bifidobacterium*.^{1,2,5-9}

Poiché il genere è composto da oltre 25 specie note, altamente eterogenee in quanto a resistenza ad agenti antimicrobici e altri inibitori, è difficile allestire un solo terreno con buona selettività mantenendo al contempo una discreta capacità di isolamento. Diverse indagini hanno dimostrato che il terreno per *Bifidobacterium* allestito da Beerens^{1,5} assicura un buon isolamento delle *Bifidobacterium* spp. presenti nel tratto intestinale dell'uomo. Secondo studi più recenti, gran parte dei ceppi isolati mostra conte più elevate rispetto ad altri terreni selettivi allestiti per questi batteri.^{1,2}

Il terreno per *Bifidobacterium* descritto da Beerens è basato su agar Columbia, arricchito con acido propionico, a pH 5,0.⁵ L'acido propionico è in grado di inibire funghi e numerosi batteri diversi dai *Bifidobacterium*, tipo *Bacteroides* intestinali ed *Enterobacteriaceae*. Il basso pH del terreno contribuisce a inibire ulteriormente altri organismi predominanti nelle feci umane, tipo *Bacteroides* ed *Eubacterium* spp. La cisteina è un agente riducente. **BD Bifidobacterium Agar, Modified** è un terreno lievemente modificato rispetto alla versione originaria, arricchito con lattulosio, uno zucchero usato come prebiotico che viene fermentato prevalentemente da *Bifidobacterium*. Il glucosio, essendo uno zucchero universale, è stato aggiunto per accelerare la crescita iniziale. La riboflavina è una vitamina adatta per numerosi *Bifidobacterium*.⁸ Il pH è stato lievemente aumentato da 5,0 a 5,5 per migliorare il potere gelificante dell'agar e facilitare la crescita di *Bifidobacterium*.

REAGENTI

BD Bifidobacterium Agar, Modified

Formula* per litro di acqua purificata

Base agar sangue Columbia	42,5 g
Glucosio	2,5
Lattulosio	2,5
Cisteina-HCl	0,5
Riboflavina	0,01
Acido propionico	5,0 mL

pH 5,5 ± 0,2

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

PRECAUZIONI

IVD . Solo per uso professionale.

Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazioni cromatiche, essiccamento, fessurazioni o altri segni di deterioramento.

Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C nella confezione originaria fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per informazioni più dettagliate, v. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare in aerobiosi a 35 – 37 °C per 2 – 3 giorni.

Ceppi	Risultati della crescita
<i>Bifidobacterium longum</i> DSM 20219	Crescita da buona a eccellente, colonie color crema, odore di acido
<i>Bifidobacterium bifidum</i> DSM 20082	Crescita da buona a eccellente, colonie color crema, odore di acido
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Inibizione (da parziale a) completa
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 314	Inibizione da parziale a completa
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibizione (da parziale a) completa
Non inoculate	Color ambra chiaro

PROCEDURA

Materiali forniti

BD Bifidobacterium Agar, Modified (piastre **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Tipi di campioni

Il terreno viene usato per l'isolamento e la conta di *Bifidobacterium* spp. da campioni di feci di pazienti con diarrea cronica e altre patologie intestinali e digestive (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**). I campioni di feci (possibilmente 10 – 15 grammi) non devono avere più di 24 h. Si consiglia di usare un terreno di trasporto anaerobico.

Procedura del test

Prima dell'uso, **BD Bifidobacterium Agar, Modified** può essere preridotto in atmosfera anaerobica per almeno 24 h, a temperatura ambiente. Grazie a questa procedura si può aumentare il numero di organismi vivi rilevabili, utilizzando il sistema anaerobico **BD GasPak**. Per analizzare la flora fecale, sospendere campioni freschi di feci umane in soluzione fisiologica sterile o anaerobica (con 0,1 g di cisteina-HCl per litro), diluendo dieci volte nello stesso mezzo di sospensione. Pipettare 20 – 50 µL dei campioni più diluiti (ad es. 10⁻⁴ – 10⁻⁷) su **BD Bifidobacterium Agar, Modified**, che viene inoculato per strisciamento superficiale in aerobiosi, ad es. usando il sistema anaerobico **BD GasPak**.

Inoculare altri terreni (ad es. per la conta totale ed eventualmente l'isolamento di altri gruppi batterici, tipo *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*) da feci adeguatamente diluite e incubare secondo i requisiti previsti per i terreni e i gruppi batterici.

Risultati e interpretazione

Dopo l'incubazione, ricercare sulle piastre i segni di crescita. Controllare al microscopio (colorazione di Gram) le colonie appropriate per rilevare la presenza dei tipici bacilli bifidi Gram-positivi. Dopo la conta, il numero di colonie viene moltiplicato per il fattore di diluizione del campione, ottenendo le UFC per grammo di feci. Per identificare in maniera definitiva gli organismi isolati, eseguire subcolture e test biochimici.

Nelle feci di soggetti sani si riscontrano conte elevate di *Bifidobacterium*, mentre la loro assenza o una bassa conta possono essere segni di disturbi intestinali.^{1-3,5,9}

Se i *Bifidobacterium* sono presenti in numero ridotto nella flora normale, ciò non implica che i pazienti debbano essere trattati con agenti antimicrobici o farmaci diversi dai probiotici, salvo il caso in cui il disturbo sia causato da specifici agenti infettivi.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Questo terreno viene usato per l'isolamento di *Bifidobacterium* nelle feci umane.

L'agar per *Bifidobacterium* con formula di Beerens e i terreni analoghi si sono dimostrati superiori ai terreni con più elevato grado di selettività per quanto riguarda l'isolamento di *Bifidobacterium* dall'intestino umano.^{1,2,5,6}

Esistono *Bifidobacterium* particolarmente esigenti che non crescono adeguatamente su questo o altri terreni selettivi. Pertanto, inoculare anche un terreno non selettivo (ad es. **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**).^{1,6,7}

Grazie al basso pH e all'aggiunta di acido propionico, **BD Bifidobacterium Agar, Modified** inibisce lattobacilli, *Eubacterium* spp., *Clostridium*, *Enterobacteriaceae* e molti altri batteri.

L'inibizione può essere parziale o completa, a seconda degli organismi. Se vengono inoculate feci umane non diluite, sul terreno possono svilupparsi organismi diversi dal *Bifidobacterium*.

Non usare **BD Bifidobacterium Agar, Modified** per l'isolamento di *Bifidobacterium* spp. da feci di specie diverse dall'uomo.¹

BIBLIOGRAFIA

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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Bifidobacterium Agar, Modified

N. di cat. 254546

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



BD Diagnostic Systems

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

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, BD logo, GasPak and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2003 Becton, Dickinson and Company.