

BD Bifidobacterium Agar, Modified

APPLICATION

La **BD Bifidobacterium Agar, Modified** (gélose Bifidobacterium modifiée) est un milieu partiellement sélectif servant à l'isolement de la flore *Bifidobacterium* à partir d'échantillons fécaux humains.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Les *Bifidobacterium* spp. sont des bâtonnets à Gram positif, anaérobies, ramifiés ou pléomorphes pouvant être isolés depuis diverses matières telles que les fèces humaines ou animales ou les eaux usées, ou encore depuis la cavité buccale. Chez l'humain, leur principal habitat est le gros intestin, où elles constituent l'un des principaux groupes de bactéries intestinales normales, leur quantité pouvant atteindre 10^9 à 10^{11} par gramme de fèces chez l'adulte en bonne santé.¹ Lorsque la composition de la flore normale est perturbée par des facteurs internes ou externes, par exemple une thérapie antimicrobienne ou antinéoplastique, elles peuvent être supplantées par des *Enterobacteriaceae*, des pseudomonas ou des levures.¹⁻³ Cette situation peut entraîner une diarrhée chronique et d'autres troubles intestinaux et digestifs. Leur pathogénicité étant faible, les bactéries bifidus et les lactobacilles sont de plus en plus utilisés comme probiotiques afin d'améliorer la composition de la flore intestinale en cas de trouble. De plus, l'utilisation de probiotiques a été examinée en tant que moyen d'améliorer certains troubles ou syndromes extraintestinaux, par exemple la vaginite, l'infection à *Helicobacter pylori* et la mucoviscidose.³ Récemment, il a été avancé que l'administration de bactéries bifidus pouvait améliorer la prise de poids et les anomalies intestinales chez l'enfant prématuré.⁴

Plusieurs milieux ont été mis au point pour l'isolement électif ou sélectif des bactéries bifidus.^{1,2,5-9} Ce genre comportant plus de 25 espèces connues considérablement hétérogènes en termes de résistance aux agents antimicrobiens et aux autres inhibiteurs, il est difficile d'élaborer un seul milieu qui serait satisfaisant à la fois sur le plan de la sélectivité et sur celui de la mise en évidence. Plusieurs enquêtes ont permis d'avancer que le milieu Bifidobacterium tel que décrit par Beerens^{1,5} permettait une mise en évidence satisfaisante des *Bifidobacterium* spp. présentes dans le tube digestif humain. Des études récentes montrent que la plupart des souches sont mises en évidence en plus grandes quantités que sur des milieux sélectifs comparables pour ces bactéries.^{1,2}

Le milieu Bifidobacterium décrit par Beerens est développé à partir d'une Columbia Agar base, complétée en acide propionique à un pH de 5,0.⁵ Il a été démontré que l'acide propionique inhibait les champignons et de nombreuses bactéries autres que les bactéries bifidus, par exemple les *Enterobacteriaceae* et les *Bacteroides* intestinaux. Le faible pH du milieu contribue en outre à inhiber d'autres microorganismes prédominants des fèces humaines, tels que les *Bacteroides* et les *Eubacterium* spp. La cystéine joue le rôle d'agent réducteur. La **BD Bifidobacterium Agar, Modified** est une légère modification du milieu d'origine, complété en lactulose, un sucre utilisé comme prébiotique et fermenté, de préférence, par des bactéries bifidus. Le glucose a été ajouté en tant que sucre universel pour accélérer la croissance initiale. La riboflavine est une vitamine pour de nombreuses bactéries bifidus.⁸ Le pH a été légèrement augmenté, de 5,0 à 5,5, afin d'améliorer la résistance de gel de la gélose et de stimuler la croissance des *Bifidobacterium*.

REACTIFS

BD Bifidobacterium Agar, modified

Formule* par litre d'eau purifiée

Columbia Agar Base	42,5 g
Glucose	2,5
Lactulose	2,5
Hydrochlorure de cystéine	0,5
Riboflavine	0,01
Acide propionique	5,0 mL

pH 5,5 ± 0,2

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement. 

Ne pas utiliser de boîte de Pétri présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.

Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations concernant les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Les boîtes peuvent êtreensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette de l'emballage), et incubées pendant les durées recommandées.

Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus de détails, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Incuber en anaérobiose à une température de 35 à 37 °C pendant 2 à 3 jours.

Souches	Croissance
<i>Bifidobacterium longum</i> DSM 20219	Croissance bonne à importante ; colonies blanc crème, odeur acide
<i>Bifidobacterium bifidum</i> DSM 20082	Croissance bonne à importante ; colonies blanc crème, odeur acide
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Inhibition (partielle à) complète
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Inhibition partielle à complète
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibition (partielle à) complète
Sans ensemencement	Couleur ambre claire

METHODE

Matériaux fournis

BD Bifidobacterium Agar, Modified (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons

Ce milieu est utilisé pour l'isolement et la détermination quantitative des *Bifidobacterium* spp. à partir d'échantillons fécaux de patients souffrant de diarrhée chronique ou d'autres troubles intestinaux ou digestifs (voir également la rubrique « **CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE** »). Les échantillons fécaux (de 10 à

15 grammes, idéalement) ne doivent pas être âgés de plus de 24 h. Il est recommandé d'utiliser un milieu de transport en anaérobiose.

Mode opératoire du test

Avant utilisation, la **BD Bifidobacterium Agar, Modified** peut être pré-réduite en atmosphère anaérobiose pendant 24 h minimum, conservée à température ambiante. Cela peut augmenter la quantité viable de microorganismes devant être détectés. Le système anaérobiose **BD GasPak** peut être utilisé à cet effet.

Pour une étude de flore fécale, mettre en suspension des échantillons fécaux humains frais dans du sérum physiologique stérile ou anaérobiose (sérum physiologique contenant 0,1 g de HCl de cystéine/litre), puis effectuer des dilutions au 1/10^{ème} dans le même milieu de suspension. Pipeter des échantillons de 20 à 50 µL des dilutions les plus élevées (p. ex. 10⁻⁴ à 10⁻⁷) sur la **BD Bifidobacterium Agar, Modified**, puis l'ensemencer par étalement et l'incuber en conditions anaérobioses, par exemple à l'aide du système anaérobiose **BD GasPak**.

Les autres milieux (destinés, par exemple, à déterminer des nombres totaux ou à détecter d'autres groupes bactériens, p. ex. *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium* ou *Enterobacteriaceae*) doivent aussi être ensemencés à partir de dilutions fécales appropriées et incubés conformément aux conditions requises par ces milieux et par les groupes bactériens concernés.

Résultats et interprétation

Après l'incubation, examiner les boîtes de Pétri afin de contrôler la croissance. Les colonies appropriées doivent être testées au microscope (coloration de Gram) afin de détecter la présence de bâtonnets à Gram positif bifides typiques. Ensuite, les colonies peuvent être comptées. Pour connaître l'UFC par gramme de matière fécale, multiplier le nombre ainsi obtenu par le facteur de dilution de l'échantillon. Pour réaliser l'identification définitive des microorganismes isolés, procéder par repiquages et par tests biochimiques.

Dans les fèces de personnes en bonne santé, les bactéries bifidus sont présentes en grande quantité. Si celles-ci sont absentes ou peu nombreuses, cela peut être révélateur d'un trouble intestinal.^{1-3,5,9}

Un patient présentant une faible quantité de bifidobacteria dans une flore normale ne doit pas être traité systématiquement par des agents antimicrobiens ou par des médicaments autres que des probiotiques, sauf s'il est déterminé que des agents infectieux spécifiques sont à l'origine du trouble.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

Ce milieu est utilisé pour la détermination de la flore *Bifidobacterium* dans les matières fécales humaines.

Pour l'isolement des bactéries bifidus à partir de l'intestin humain, la formulation de Beerens de la Bifidobacterium Agar et autres milieux similaires s'est avérée plus efficace que les milieux présentant un degré de sélectivité plus élevé.^{1,2,5,6}

Il existe des bactéries bifidus extrêmement exigeantes qui ne se développent pas suffisamment sur ce milieu ou sur d'autres milieux sélectifs. Il convient donc d'ensemencer également un milieu non sélectif (p. ex. **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**).^{1,6,7}

En raison de son faible pH et de la présence d'acide propionique, la **BD Bifidobacterium Agar, Modified** inhibe les lactobacilles, les *Eubacterium*, les clostridia, les *Enterobacteriaceae* et bien d'autres microorganismes. L'inhibition peut être partielle ou complète, selon les microorganismes. Si des matières fécales humaines non diluées sont ensemencées, il est possible que d'autres microorganismes que *Bifidobacterium* se développent sur ce milieu.

La **BD Bifidobacterium Agar, modified** ne doit pas être utilisée pour isoler les *Bifidobacterium* spp. à partir de matières fécales d'origine non humaine.¹

REFERENCES

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.

CONDITIONNEMENT

BD Bifidobacterium Agar, Modified

N° réf. 254546

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités par carton

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.



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

© 2012 BD