



BD LBS Agar (Lactobacillus Selection Agar)

USO PREVISTO

BD LBS Agar (también conocido como Rogosa Agar) es un medio semidefinido y parcialmente selectivo para el aislamiento y el recuento de lactobacilos a partir de la flora intestinal, vaginal y dental y, en especial, para la detección de alteraciones de la flora normal.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

Los lactobacilos se encuentran entre los organismos predominantes de las floras intestinal y vaginal. Cuando la composición de la flora normal se ve afectada por factores internos o externos (por ejemplo, tratamientos antimicrobianos o antineoplásticos), pueden ser superados en crecimiento por las *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* o levaduras¹. Dicha situación de crecimiento excesivo en el intestino puede ser responsable de la diarrea crónica y otros trastornos intestinales y digestivos. Asimismo, se ha descubierto que una reducción de la flora de *Lactobacillus* se encuentra asociada con vaginitis o vaginosis en las mujeres premenopáusicas²⁻⁴. Dada su baja patogenicidad, cada vez se utilizan más los lactobacilos y las bifidobacterias como probióticos para mejorar la composición de la flora normal en los casos de trastornos tales como la diarrea crónica aguda y la vaginitis^{5,6}.

Rogosa et al desarrollaron el agar LBS como medio selectivo para el aislamiento y cuantificación de lactobacilos orales y fecales^{7,8}. Descubrieron que el agar LBS es más selectivo para evitar el crecimiento excesivo de mohos, estreptococos y proliferación de organismos que el agar jugo de tomate anterior. **BD LBS Agar** se utiliza para el aislamiento y recuento de lactobacilos a partir de alimentos, productos lácteos y las floras intestinal, vaginal y dental humanas^{9,10}.

En **BD LBS Agar**, la peptona de caseína, el extracto de levadura y la sal de amonio proporcionan nitrógeno. El polisorbato 80 suministra ácidos grasos necesarios para el crecimiento de lactobacilos. El manganeso y el magnesio son factores de crecimiento. La glucosa es una fuente universal de energía y carbono. El citrato de amonio, el acetato de sodio, el ácido acético y el sulfato ferroso actúan como inhibidores de los estreptococos y otros organismos contaminantes y suministran el bajo pH que es tolerado por los lactobacilos, pero no por muchos otros organismos. El fosfato, junto con acetato y ácido acético, estabiliza el pH.

REACTIVOS

BD LBS Agar (Lactobacillus Selection Agar)

Fórmula* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína	10,0 g	Hidrato acetato de sodio	25,0 g
Extracto de levadura	5,0	Acido acético	1,3 mL
Fosfato monopotásico	6,0	Sulfato magnésico	0,575 g
Citrato de amonio	2,0	Sulfato de manganeso	0,12
Glucosa	20,0	Sulfato ferroso	0,034
Polisorbato 80	1,0	Agar	15,0

pH 5,5 ± 0,2

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

PRECAUCIONES

IVD . Solamente para uso profesional.

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura de 2 – 8 °C, en su envase original hasta momentos antes de su utilización. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Las placas pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados. Las placas de pilas abiertas de 10 unidades pueden utilizarse durante una semana cuando se almacenan en un área limpia a una temperatura de 2 – 8 °C.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar las placas a 35 – 37 °C en una atmósfera anaerobia durante 2 – 3 días.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Crecimiento de bueno a excelente
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014	Crecimiento de bueno a excelente
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 43071	Inhibición completa
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibición completa
Sin inocular	Transparente, de ámbar claro a ámbar

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD LBS Agar (placas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

Materiales no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

Tipos de muestras

Este medio se utiliza en estudios sobre la presencia de la flora de *Lactobacillus* en pacientes que sufren de diarrea crónica y otros trastornos intestinales y digestivos [utilizar muestras fecales (idealmente de 10 a 15 gramos de muestra fecal) de no más de 24 horas] y para el análisis de la presencia de lactobacilos en la flora vaginal y dental (utilizar torundas vaginales o dentales). Véase también **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**. Este medio también se utiliza para determinar los lactobacilos presentes en los alimentos. Se recomienda utilizar un medio de transporte anaerobio para todos los tipos de muestras.

Procedimiento de análisis

Para el estudio de la flora intestinal, las muestras fecales humanas recientes deben suspenderse en solución salina estéril o anaerobia (solución salina con 0,1 g de cisteína-HCl por litro), seguido de diluciones de 1:10 en el mismo medio en suspensión. Las muestras de 20 a 50 µL de las diluciones más altas (por ejemplo, las de 10⁻⁴ a 10⁻⁷) deben transferirse mediante pipeta a **BD LBS Agar**, que luego se inocula mediante extensión de la muestra y se incuba en atmósfera anaerobia, por ejemplo, utilizando el sistema anaerobio **BD GasPak**. Se utiliza el mismo procedimiento para las muestras de alimentos.

Si el material se cultiva directamente empleando una torunda, hacerla girar en una sección pequeña cercana al borde, extendiendo luego a partir de esta área inoculada.

Otros medios (por ejemplo, para la determinación de recuentos totales de anaerobios y posiblemente para la detección de otros grupos bacterianos, como *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*) también deben inocularse e incubarse según los requisitos de los medios y los grupos bacterianos.

Los factores óptimos de tiempo y temperatura de incubación son de 2 a 3 días a 35 – 37 °C. Se debe evitar una incubación prolongada del medio si se requieren subcultivos de los aislados, porque la viabilidad de las colonias puede reducirse posteriormente.

Resultados e Interpretación

En **BD LBS Agar**, los lactobacilos presentan colonias blancas de tamaño mediano a grande. Si las muestras habían sido colocadas en placas de manera cuantitativa, se puede hacer un recuento de colonias. Luego, esta cifra puede ser multiplicada por el factor de dilución de la muestra para obtener las UFC por gramo de muestra o material. Debe realizarse una diferenciación ulterior del crecimiento mediante pruebas bioquímicas y al microscopio.

En las muestras fecales o vaginales de personas sanas, los lactobacilos se encuentran presentes en grandes cantidades, mientras que su ausencia o los recuentos bajos pueden indicar un trastorno intestinal o vaginitis, respectivamente^{1,2,4}. La presencia menos frecuente de lactobacilos en flora normal no implica el tratamiento de pacientes con agentes antimicrobianos o medicamentos diferentes de probióticos, a menos que se hayan detectado agentes infecciosos específicos como la causa de la diarrea o vaginitis.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD LBS Agar es un medio estándar utilizado para el aislamiento de *Lactobacillus* a partir de flora humana y alimentos^{1,7-10}.

La presencia y los recuentos de lactobacilos en la flora vaginal dependen de la edad de las pacientes: se esperan recuentos altos sólo en mujeres sanas pre-menopáusicas².

BD LBS Agar no debe utilizarse como medio de mantenimiento para lactobacilos.

El medio no inhibe completamente los estreptococos, enterococos ni lactococos. La tinción de Gram y microscopía constituyen un medio sencillo para la diferenciación de lactobacilos de dichos cocos gram positivos.

Debido a su alto contenido de sal, el medio no es adecuado para el aislamiento de *Lactobacillus lactis* ni de *L. bulgaricus*, que habitualmente se aíslan de productos lácteos⁹.

REFERENCIAS

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.

ENVASE/DISPONIBILIDAD

BD LBS Agar

Nº de cat. 255011

Medios en placa listos para usar, 20 placas

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante 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, Stacker and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

© 2013 BD