

BD Bifidobacterium Agar, Modified

UTILIZARE SPECIFICĂ

BD Bifidobacterium Agar, Modified (Agar pentru Bifidobacterium, modificat) este un mediu parțial selectiv pentru izolarea florei *Bifidobacterium* din probe de scaun uman.

PRINCIPIILE ȘI EXPLICAREA PROCEDURII

Metodă microbiologică.

Speciile *Bifidobacterium* sunt bacili Gram pozitivi, anaerobi, ramificați sau pleomorfi, care pot fi izolați din mai multe materii, cum ar fi fecalele umane și animale, apele reziduale, precum și din cavitatea bucală. Principalul lor habitat în ființele umane este intestinul gros, unde se află printre grupurile principale de bacterii intestinale normale, atingând valori de 10^9 până la 10^{11} per gram de fecale la adulții sănătoși.¹ Atunci când compoziția florei normale este perturbată de factori interni sau externi, de exemplu, de terapie antimicrobiană sau antineoplazică, numărul acestora poate fi depășit de numărul de *Enterobacteriaceae*, pseudomonade sau levuri.¹⁻³ Starea de creștere excesivă poate fi responsabilă pentru diareea cronică și alte tulburări intestinale și digestive. Deoarece patogenitatea lor este scăzută, bifidobacteriile și lactobaciliile sunt utilizați tot mai mult ca probiotice, pentru îmbunătățirea compoziției florei intestinale în caz de tulburări. În plus, s-a analizat faptul că utilizarea probioticelor poate ameliora anumite tulburări sau sindroame extraintestinale, de exemplu, vaginitele, infecțiile cu *Helicobacter pylori* și fibroza chistică.³ Recent, s-a afirmat că administrarea bifidobacteriilor afectează pozitiv creșterea în greutate și anomaliile intestinale la copiii născuți prematur.⁴

Pentru izolarea electivă sau selectivă a bifidobacteriilor au fost concepute mai multe medii.^{1,2,5-9} Deoarece genul constă în peste 25 de specii cunoscute cu eterogenitate semnificativă în rezistența la agenți antimicrobieni și la alți inhibitori, este dificil de conceput un singur mediu cu selectivitate bună, simultan cu menținerea unei recuperări eficiente. În mai multe investigații se afirmă că Bifidobacterium Medium, așa cum este descris de Beerens^{1,5}, permite o recuperare eficientă a speciilor de *Bifidobacterium* prezente în tractul intestinal uman. Studii recente indică faptul că majoritatea tulpinilor sunt recuperate în număr mai mare decât din medii selective comparabile pentru aceste bacterii.^{1,2}

Bifidobacterium Medium, așa cum este descris de Beerens, are la bază Agar Columbia, completat cu acid propionic, la pH 5,0.⁵ S-a demonstrat că acidul propionic inhibă fungii și multe bacterii diferite de bifidobacterii, cum ar fi *Bacteroides* și *Enterobacteriaceae* intestinale. pH-ul scăzut al mediului contribuie în plus la inhibarea altor organisme predominante din fecalele umane, cum ar fi speciile *Bacteroides* și *Eubacterium*. Cisteina este un agent reducător. **BD Bifidobacterium Agar, Modified** reprezintă o adaptare ușoară a mediului original, prin completare cu lactuloză, un zahăr folosit ca prebiotic, preferabil fermentat de bifidobacterii. Glucoza, ca zahăr universal, a fost adăugată pentru accelerarea creșterii inițiale. Riboflavina este o vitamină pentru multe bifidobacterii.⁸ pH-ul a fost ușor crescut, de la 5,0 la 5,5, pentru a îmbunătăți rezistența de gel a agarului și a determina o creștere mai bună a *Bifidobacterium*.

REACTIVI

BD Bifidobacterium Agar, Modified

Formulă* pentru un litru de apă purificată

Bază Agar Columbia	42,5 g
Glucoză	2,5
Lactuloză	2,5
Cisteină-HCl	0,5
Riboflavină	0,01
Acid propionic	5,0 ml

pH 5,5 ± 0,2

*Ajustată și/sau suplimentată după cum este necesar pentru a îndeplini criteriile de performanță.

PRECAUȚII

IVD . Numai pentru uz profesional. ②

Nu utilizați plăcile dacă prezintă semne de contaminare microbiană, decolorare, deshidratare, fisuri sau alte semne de deteriorare.

Consultați documentul **INSTRUCȚIUNI GENERALE DE UTILIZARE** pentru detalii referitoare la procedurile de manipulare aseptică, riscurile biologice și eliminarea produselor utilizate.

DEPOZITAREA ȘI DURATA DE DEPOZITARE

La recepție, depozitați plăcile la întuneric la 2 până la 8 °C, în ambalajul original până în momentul utilizării. Evitați congelarea și supraîncălzirea. Plăcile pot fi inoculate până la expirarea termenului de valabilitate (consultați eticheta ambalajului) și pot fi incubate pentru perioadele recomandate de incubare.

Plăcile dintr-o stivă de 10 plăci desfăcută pot fi utilizate timp de o săptămână, dacă sunt depozitate într-o zonă curată, la o temperatură cuprinsă între 2 și 8 °C.

CONTROLUL CALITĂȚII EFECTUAT DE UTILIZATOR

Inoculați probele reprezentative cu următoarele tulpini (pentru informații suplimentare, consultați documentul **INSTRUCȚIUNI GENERALE DE UTILIZARE**). Incubați anaerob timp de 2-3 zile, la temperaturi între 35 și 37 °C.

Tulpini	Rezultate de creștere
<i>Bifidobacterium longum</i> DSM 20219	Creștere bună spre excelentă, colonii alb-crem, miros acid
<i>Bifidobacterium bifidum</i> DSM 20082	Creștere bună spre excelentă, colonii alb-crem, miros acid
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Inhibare (parțială spre) completă
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Inhibare parțială spre completă
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibare (parțială spre) completă
Neinoculat	Galben deschis

PROCEDURA

Materiale furnizate

BD Bifidobacterium Agar, Modified (plăci **Stacker** de 90 mm). Controlate microbiologic.

Materiale nefurnizate

Medii de cultură auxiliare, reactivi și echipamentul de laborator necesar.

Tipuri de probe

Acest mediu este folosit la izolarea și determinarea cantitativă a speciilor de *Bifidobacterium* din probe de scaun de la pacienți care suferă de diaree cronică și de alte tulburări intestinale și digestive (a se vedea și **CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE**

PROCEDURII). Probele de scaun (ideal, 10-15 grame) nu trebuie să fie mai vechi de 24 de ore. Se recomandă utilizarea unui mediu de transport anaerob.

Procedura de testare

Înainte de utilizare, **BD Bifidobacterium Agar, Modified** poate fi preredus într-o atmosferă anaerobă timp de cel puțin 24 de ore, la temperatura camerei. Această procedură poate crește numărul de organisme viabile care vor fi detectate. În acest scop se poate folosi Sistemul anaerob **BD GasPak**.

Pentru studierea florei fecale, probele proaspete de scaun uman trebuie suspendate în ser fiziologic steril sau în ser fiziologic anaerob (ser fiziologic conținând 0,1 g cisteină-HCl per litru), apoi diluate de zece ori în același mediu de suspensie. Probe de 20 până la 50 µl din diluțiile cele mai mari (de ex., 10⁻⁴ până la 10⁻⁷) trebuie aplicate cu o pipetă în **BD Bifidobacterium Agar, Modified**, care este apoi inoculat prin dispersie și incubat anaerobic, de exemplu, prin utilizarea Sistemului anaerob **BD GasPak**.

Alte medii (de ex., pentru determinarea numărărilor totale și, posibil, pentru detectarea altor grupuri de bacterii, precum *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*) trebuie să fie, de asemenea, inoculate cu diluțiile fecale corespunzătoare și incubate în conformitate cu cerințele pentru mediu și pentru grupurile de bacterii.

Rezultate și interpretare

După incubare, plăcile sunt inspectate pentru observarea creșterii. Coloniile adecvate trebuie testate la microscop (pete Gram) pentru detectarea prezenței bacililor tipici bifidus, gram pozitivi. Apoi, coloniile pot fi numărate iar numărul de colonii este multiplicat cu factorul de diluție al probei pentru a se obține UFC per gram de fecale. Pentru identificarea finală a organismelor izolate trebuie efectuate subculturi și teste biochimice.

Bifidobacteriile sunt prezente în cantități mari în fecalele indivizilor sănătoși, în timp ce absența acestora sau numărul mic poate indica o tulburare intestinală.^{1-3,5,9}

Prezența redusă a bifidobacteriilor în flora normală nu implică tratarea pacienților cu agenți antimicrobieni sau cu alte medicamente în afară de probiotice, cu excepția cazului în care s-au detectat agenți infecțioși specifici drept cauză a tulburării.

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE PROCEDURII

Mediul este folosit pentru determinarea florei *Bifidobacterium* în fecale umane.

S-a descoperit că modul de pregătire Beerens a Agarului pentru bifidobacterii și mediile similare sunt superioare mediilor cu un grad mai mare de selectivitate pentru izolarea bifidobacteriilor din intestinale umane.^{1,2,5,6}

Există bifidobacterii care sunt deosebit de pretențioase și care nu se dezvoltă suficient pe acest tip de mediu sau pe alte medii selective. Prin urmare, trebuie să se includă un mediu neselectiv (de ex., **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**).^{1,6,7}

Din cauza pH-ului scăzut și adăugării acidului propionic, **BD Bifidobacterium Agar, Modified** inhibă lactobacili, speciile de *Eubacterium*, clostridiile, *Enterobacteriaceae* și multe altele.

Inhibarea poate fi parțială sau completă, în funcție de organisme. Dacă se inoculează fecale umane nediluate, pe acest mediu pot crește alte organisme în afară de *Bifidobacterium*.

BD Bifidobacterium Agar, Modified nu trebuie utilizat pentru izolarea speciilor de *Bifidobacterium* din materii fecale de la alte specii în afară de specia umană.¹

REFERINȚE

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.

AMBALAJ/DISPONIBILITATE

BD Bifidobacterium Agar, Modified

Nr. cat. 254546

Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 20 cpu

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

Pentru informații suplimentare, contactați reprezentantul local 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.

© 2011 BD