BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood

VERWENDUNGSZWECK

BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood (BD Wilkins-Chalgren-Agar mit Amikacin und 7 % Schafblut) ist ein selektives Medium zur Isolierung von obligat anaeroben Bakterien aus klinischen Proben. Auf Grund des Amikacins werden die meisten fakultativen Organismen gehemmt.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Das Wilkins-Chalgren-Medium wurde zur Empfindlichkeitsprüfung von anaeroben Bakterien beschrieben.[1] Da es sich um ein halbsynthetisches Medium mit Supplementen, wie z.B. Arginin, Pyruvat, Hämin und Vitamin K1, handelt, ist es für das Wachstum von vielen obligaten Anaerobiern verschiedener Stoffwechselarten geeignet, einschließlich *Bacteroides*, *Prevotella*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Veillonella* und andere.[2] Es wurde beobachtet, dass dieses Medium, falls es ohne Blut verwendet wird, das Wachstum von *Porphyromonas* und *Peptostreptococcus* nicht so gut unterstützt. Der Zusatz von Blut und Vitamin K macht das Medium zum Universal-Medium für das Wachstum und zur Isolierung von allen an menschlichen Infektionen beteiligten anaeroben Bakterien. Es hat sich gezeigt, dass Aminoglycoside das Wachstum der meisten fakultativ anaeroben Bakterien (z.B. *Enterobacteriaceae*) hemmt, während viele obligat anaeroben Bakterien, wie z.B. *Bacteroides*, gegen diese Gruppe antimikrobieller Agenzien vollständig resistent sind.[3,4] In früheren Jahren wurden verschiedenen Medien Neomycin oder Gentamicin zugegeben, um sie für obligate Anaerobier selektiv zu machen. Amikacin, ein neueres Aminoglycosid, zeigt im Vergleich zu Gentamicin einen besseren hemmenden Effekt und ein etwas breiteres Aktivitätsspektrum.

In **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood** liefern Peptone und andere im Basismedium vorhandene Verbindungen, zusammen mit dem Schafblut, die notwendigen Nährstoffe. Die Amikacinkonzentration wurde so eingestellt, dass eine ausreichende Hemmung der meisten fakultativen Anaerobier gegeben ist, ohne die meisten klinisch häufig auftretenden obligaten Anaerobier signifikant zu hemmen.

REAGENZIEN

BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood

Zusammensetzung* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein	10,0 g
Pankreatisch abgebaute Gelatine	10,0
Hefeextrakt	5,0
Glucose	1,0
Natriumchlorid	5,0
L-Arginin	1,0
Natriumpyruvat	1,0
Hämin	5,0
Amikacin	0,05
Agar	15,0
Vitamin K1	0,5 mg
Schafblut, defibriniert	7 %

pH 7,3± 0,2

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch.
Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.
Hinweise zur aseptischen Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.
Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). Platten 48 – 72 h bei 35 – 37 °C anaerob inkubieren (z.B. **BD GasPak** Anaerobic System).

Stämme	**Wachstum**
Bacteroides fragilis ATCC 25285	Gutes bis sehr gutes Wachstum; grauweiße Kolonien
Porphyromonas levii ATCC 29147	Gutes bis sehr gutes Wachstum; graubraune kleine bis mittelgroße Kolonien
Clostridium perfringens ATCC 13124	Gutes bis sehr gutes Wachstum; weiße bis graue, lappenförmige oder konfluierende Kolonien, mit Beta-(Doppelzonen)-Hämolyse
Peptostreptococcus anaerobius ATCC 27337	Gutes bis sehr gutes Wachstum
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
Proteus mirabilis ATCC 12453	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
Escherichia coli ATCC 25922	Vollständig gehemmtes Wachstum
Nicht inokuliert	Rot (blutfarben)

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood (90 mm **Stacker-Platten**) Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Dieses Medium wird zur Erstisolierung von obligaten Anaerobiern aus allen klinischen Probenarten verwendet (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**). Anerkannte Verfahren zur Probenentnahme und zum Transport von anaeroben Proben sind zu befolgen.[5] Geeignete Transportmedien, z.B. **BD Port-A-Cul**, müssen verwendet werden.

Testverfahren

Die Proben möglichst bald nach Eingang im Labor auf **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood** ausstreichen. Diese Platte wird hauptsächlich zur Isolierung von Reinkulturen aus Proben mit einer gemischten Flora verwendet.

Falls das Material direkt von einem Tupfer kultiviert wird, Tupfer über einen kleinen Bereich am Rand der Oberfläche rollen; anschließend zur Isolierung aus dieser inokulierten Fläche ausstreichen.
Um den Nachweis aller in der klinischen Probe vorhandenen anaeroben Agenzien sicherzustellen, sollte ein nicht selektiver Agar, wie z.B. **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood,** miteinbezogen werden. Platten 48 – 72 h bei 35 – 37 °C anaerob inkubieren. Eine effiziente und einfache Art, geeignete anaerobe Bedingungen zu erreichen, ist die Verwendung des **BD GasPak** anaeroben Systems. Ungeachtet des verwendeten anaeroben Systems ist es wichtig, einen Indikator der Anaerobiose einzuschließen, wie z.B. den anaeroben **BD GasPak** Einmalindikator.
Außerdem können in der Probe fakultative Anaerobier vorhanden sein, welche gegen Aminoglycoside resistent sind und deshalb **auf BD Wilkins-Chalgren Agar with Amkikacin and 7% Sheep Blood** nicht gehemmt werden. Es wird deshalb empfohlen, grundsätzlich ein aerobes Medium mit einzubeziehen (z.B. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**), wenn die Erstkulturen angelegt worden sind. Diese Platte wird zusammen mit den anaeroben Kulturen aerob in einer mit Kohlendioxid angereicherten Atmosphäre inkubiert.[3] Dies erlaubt den Nachweis von in der Probe vorhandenen fakultativen Organismen.

Ergebnisse
Platten nach der Inkubation auf Wachstum überprüfen. Kolonien, die auf diesem Medium wachsen, sind vermutlich obligate Anaerobier. Letztendlich, und falls keine aerob inkubierten Medien mit einbezogen wurden, sollte dies mit Hilfe von Subkultivierung typischer Kolonien auf aerob inkubiertem **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** bestätigt werden. Weitere mikroskopische und biochemische Untersuchungen sind zur Identifizierung der Genera und Spezies der obligaten Anaerobier notwendig. Auf Grund der hohen Anzahl und der zahlreichen Arten der an menschlichen Infektionen beteiligten obligaten Anaerobier, sind die entsprechenden Literaturhinweise zu beachten.[3]

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN
Dieses Medium wird für die selektive Isolierung von vielen obligat anaeroben Bakterien verwendet, welche gegen Aminoglycoside resistent sind, z.B. *Bateroides fragilis*-Gruppe, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, klinisch häufig auftretende Spezies des *Prevotella*-Genus, z.B. *P. bivia*, und andere.

Funktionsergebnisse[6]
Dieses Medium wurde internen Untersuchungen mit klinischen Isolaten und Sammelstämmen der folgenden obligat anaeroben Spezies unterzogen und mit **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** als nicht selektives Wachstums-Referenzmedium verglichen.

Teststämme	**Ergebnis auf BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**
Bacteroides fragilis, B. thetaiotaomicron, B. distasonis, B. ovatus, B. caccae, B. uniformis, B. vulgatus; Prevotella bivia, P. disiens, P. denticola; Fusobacterium varium, F. nucleatum Porphyromonas levii, Peptostreptococcus anaerobius, Clostridium perfringens	Gutes bis ausgezeichnetes Wachstum
Prevotella buccae, P. intermedia; Porphyromonas gingivalis, Mobiluncus mulieris, Campylobacter (Bacteroides) gracilis, Eggerthella lenta (Eubacterium lentum)	Kein Wachstum oder reduziertes Wachstum

Verfahrensbeschränkungen
Auf Grund der verschiedenen Stoffwechselarten unter den obligaten Anaerobiern, sind gewisse Organismen, z.B. *Mobiluncus* spp., *Campylobacter (Bacteroides) gracilis, Prophyromonas (Bacteroides) gingvalis, Eggerthella lenta, Veillonella* und andere, empfindlich gegenüber Amikacin und anderen Aminoglycosiden und zeigen deshalb auf diesem Medium kein oder nur

schwaches Wachstum.[3] Deshalb muss ein nicht selektives anaerobes Medium ebenfalls mit der Probe inokuliert werden.
Es gibt eine hohe Anzahl und zahlreiche Arten bakterieller Spezies, die Infektionskrankheiten hervorrufen. Bevor das Medium routinemäßig für selten isolierte oder neu beschriebene Organismen verwendet wird, muss seine Eignung daher zunächst durch den Anwender anhand der Kultivierung von Reinkulturen des betreffenden Organismus getestet werden.
Es gibt Stämme von fakultativen Anaerobiern, welche gegenüber Aminoglycosiden resistent sind und deshalb auf diesem Medium nicht gehemmt werden.

LITERATUR:

1. Wilkins, T.D., and S. Chalgren. 1976. Medium for use in antibiotic susceptibility testing of anaerobic bacteria. Antimicrob. Agents Chemother. 10: 926-928.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Engelkirk, P.G. et al.: Principles and Practice of Clinical Anaerobic Bacteriology; Star Publishing Comp., Belmont, 1992
4. Yao, J.D.C., and C. Moellering, Jr.1995. Antibacterial agents. *In:* Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Miller, J.M., Holmes, H.T. 1995. Specimen Collection, transport, and storage. *In:* Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Data on file. BD Diagnostic Systems Europe, Heidelberg, Germany

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 5% Sheep Blood
Best.-Nr. 254479 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.

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 and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2014 BD