

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

### **APPLICATION**

La **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood** (gélose Wilkins-Chalgren avec Amikacine et 7 % de sang de mouton) est un milieu sélectif servant à l'isolement de bactéries strictement anaérobies à partir d'échantillons cliniques. La plupart des microorganismes facultatifs sont inhibés en raison de la présence de l'amikacine.

### **PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE**

Méthode microbiologique.

Le milieu de Wilkins-Chalgren a été décrit pour tester la sensibilité des bactéries anaérobies.<sup>1</sup> Comme ce milieu semi-synthétique contient des suppléments comme l'arginine, le pyruvate, l'hémine et la vitamine K1, il est adapté au développement de nombreux anaérobies stricts appartenant à différents types métaboliques, dont *Bacteroides*, *Prevotella*, *Eubacterium*, *Clostridium* et *Veillonella*.<sup>2</sup> Il a été remarqué que lorsque ce milieu est utilisé en l'absence de sang, il n'est pas très favorable au développement des *Porphyromonas* et des *Peptostreptococcus*. Grâce à l'ajout de sang et de vitamine K, ce milieu devient un milieu de croissance et d'isolement universel adapté à l'ensemble des bactéries anaérobies impliquées dans les infections humaines. Il a été montré que les aminoglycosides inhibent le développement de la plupart des bactéries anaérobies facultatives (p. ex. les *Enterobacteriaceae*) alors que de nombreuses bactéries strictement anaérobies, comme les *Bacteroides*, sont complètement résistantes à ce groupe d'antimicrobiens.<sup>3,4</sup> Au début, les différents milieux étaient complémentés en néomycine ou en gentamicine afin de les rendre sélectifs aux anaérobies stricts. L'amikacine, un aminoglycoside plus récent, a un effet inhibiteur supérieur et son spectre d'activité est légèrement plus large que celui de la gentamicine. Dans la **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**, les peptones et les autres composés contenus dans le milieu de base avec le sang de mouton fournissent les éléments nutritifs nécessaires. La concentration en amikacine a été ajustée afin de permettre une inhibition suffisante de la plupart des anaérobies facultatifs sans inhibition significative de la plupart des anaérobies stricts les plus fréquents dans les échantillons cliniques.

### **REACTIFS**

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

Formule\* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	10,0 g
Digestion pancréatique de gélatine	10,0
Extrait de levure	5,0
Glucose	1,0
Chlorure de sodium	5,0
L-arginine	1,0
Pyruvate de sodium	1,0
Hémine	5,0
Amikacine	0,05
Gélose	15,0
Vitamine K1	0,5 mg
Sang de mouton, défibriné	7 %

pH de 7,3 ± 0,2

\*Ajustée et/ou complémentée 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 congeler ni surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à leur date de péremption (voir étiquette sur l'emballage) et incubées pendant le délai d'incubation recommandé.

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 pendant 48 à 72 h en atmosphère anaérobie (p. ex. avec le système anaérobie **BD GasPak**) entre 35 et 37 °C.

Souches	Croissance
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Croissance bonne à importante ; colonies de couleur gris-blanc
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Croissance bonne à importante ; colonies de couleur gris-marron de taille petite à moyenne
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Croissance bonne à importante ; colonies de couleur blanche à gris, d'aspect lobulé ou aggloméré avec bêta-hémolyse (double zone)
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Croissance bonne à importante
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibition partielle à complète
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Inhibition partielle à complète
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibition complète
Sans ensemencement	Rouge (couleur sang)

## METHODE

### Matériaux fournis

**D Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood** (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 primaire des anaérobies stricts issus de tous les types d'échantillons cliniques (voir également **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**). Respecter les techniques approuvées de prélèvement et de transport des échantillons anaérobies.<sup>5</sup> Il convient d'utiliser un milieu de transport adapté, p. ex. le **BD Port-A-Cul**.

### Mode opératoire du test

Strier l'échantillon sur une **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood** sans attendre, dès son arrivée au laboratoire. La méthode de la striation des milieux en boîte de

Pétri sert essentiellement à isoler des cultures pures à partir d'échantillons contenant une flore mixte.

Si la matière doit être cultivée directement à partir d'un écouvillon, rouler ce dernier sur une petite surface de la boîte de Pétri près du bord, puis strier l'échantillon depuis la zone inoculée pour isoler les cultures.

Pour détecter la totalité des agents anaérobies contenus dans les échantillons cliniques, il convient d'utiliser une gélose anaérobie non sélective, telle qu'une **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**. Incuber ces boîtes de Pétri en anaérobie pendant 48 à 72 h entre 35 et 37 °C. L'utilisation des systèmes anaérobies **BD GasPak** garantit l'obtention simple et efficace de conditions anaérobies appropriées. Indépendamment du système anaérobie utilisé, il est important d'inclure un indicateur d'anaérobiose tel que l'indicateur anaérobie jetable **BD GasPak**.

Il est possible que l'échantillon contienne des anaérobies facultatifs résistants aux aminoglycosides et dans ce cas, il ne sont pas inhibés dans la **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**. C'est la raison pour laquelle il est recommandé d'inclure systématiquement un milieu aérobie (comme la **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) lors de la mise en place des cultures primaires. La boîte de Pétri est incubée en atmosphère aérobie enrichie en dioxyde de carbone avec les cultures anaérobies.<sup>3</sup> Cela permet de déceler la présence éventuelle de microorganismes facultatifs dans l'échantillon.

### Résultats

Après l'incubation, examiner les boîtes de Pétri afin de contrôler la croissance. Les colonies qui se développent dans ce milieu sont présumées être des anaérobies stricts. Enfin, et dans la mesure où des milieux incubés en conditions aérobie n'ont pas été inclus, il convient de confirmer ce résultat en repiquant des colonies typiques sur une **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** incubée en conditions aérobie. Des examens biochimiques et microscopiques complémentaires sont nécessaires pour obtenir l'identification du genre et de l'espèce des anaérobies stricts. Comme le nombre et les types d'anaérobies stricts impliqués dans les infections humaines sont importants, il convient de se reporter aux références correspondantes.<sup>3</sup>

### CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

Ce milieu est utilisé pour l'isolement sélectif de nombreuses bactéries strictement anaérobies résistantes aux aminoglycosides, p. ex. le groupe des *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, les espèces fréquentes dans les échantillons cliniques du genre *Prevotella*, p. ex. *P. bivia*, et d'autres.

### Résultats des performances<sup>6</sup>

Ce milieu a fait l'objet d'une évaluation en interne, réalisée avec des isolats cliniques et des souches prélevées sur des espèces strictement anaérobies indiquées ci-dessous. Les résultats obtenus ont été comparés avec ceux produits avec la **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**, afin d'estimer dans quelle mesure il pouvait servir de référence en tant que milieu de croissance non sélectif :

Souches de test	Résultats sur BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood
<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>B. thetaiotaomicron</i> , <i>B. distasonis</i> , <i>B. ovatus</i> , <i>B. caccae</i> , <i>B. uniformis</i> , <i>B. vulgatus</i> ; <i>Prevotella bivia</i> , <i>P. disiens</i> , <i>P. denticola</i> ; <i>Fusobacterium varium</i> , <i>F. nucleatum</i> <i>Porphyromonas levii</i> , <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> , <i>Clostridium perfringens</i>	Croissance bonne à importante
<i>Prevotella buccae</i> , <i>P. intermedia</i> ; <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Mobiluncus mulieris</i> , <i>Campylobacter (Bacteroides) gracilis</i> , <i>Eggerthella lenta (Eubacterium lentum)</i>	Croissance nulle ou réduite

### Limites de la procédure

En raison de la variété des types métaboliques chez les anaérobies stricts, certains microorganismes, p. ex. les *Mobiluncus* spp., *Campylobacter (Bacteroides) gracilis*, *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis*, *Eggerthella lenta*, *Veillonella* et d'autres microorganismes sensibles à l'amikacine ou à d'autres aminoglycosides, ne se développent pas ou ne se développent que faiblement dans ce milieu.<sup>3</sup> Par conséquent, il convient d'ensemencer également un milieu anaérobie non sélectif avec l'échantillon.

La quantité et les types d'espèces bactériennes provenant d'agents infectieux sont très importants. Aussi, avant d'utiliser régulièrement ce milieu pour quantifier des microorganismes rarement isolés ou récemment identifiés, il convient de tester ses capacités en produisant des cultures pures du microorganisme concerné.

Certaines souches d'anaérobies facultatifs résistent aux aminoglycosides et ne sont donc pas inhibées dans ce milieu.

### REFERENCES

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. Tenover, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (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. Tenover, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Data on file. BD Diagnostic Systems Europe, Heidelberg, Germany

### CONDITIONNEMENT

#### BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 5% Sheep Blood

N° réf. 254479

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