



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

### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood** (agar de Wilkins-Chalgren com amicacina e sangue de ovelha a 7%) é um meio selectivo para o isolamento de bactérias estritamente anaeróbias de amostras clínicas. Devido a amicacina, a maioria dos organismos facultativos são inibidos.

### PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

O meio de Wilkins-Chalgren foi descrito para a realização de testes de sensibilidade de bactérias anaeróbias.<sup>1</sup> Visto se tratar de um meio semi-sintético que contém suplementos como, por exemplo, arginina, piruvato, hemina e vitamina K1, é considerado adequado para o crescimento de muitos anaeróbios estritos pertencentes a vários tipos metabólicos, incluindo *Bacteroides*, *Prevotella*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Veillonella* entre outros.<sup>2</sup> Foi referido que este meio, quando utilizado sem a adição de sangue, não irá suportar tão bem o desenvolvimento de *Porphyromonas* e *Peptostreptococcus*. Este meio, quando suplementado com sangue e vitamina K, constitui um meio de crescimento e isolamento universais para todas as bactérias anaeróbias envolvidas em infecções no homem. Demonstrou-se que os aminoglicosídeos inibem o desenvolvimento da maioria das bactérias facultativamente anaeróbias (por exemplo, *Enterobacteriaceae*), enquanto muitas bactérias estritamente anaeróbias como, por exemplo, a *Bacteroides*, são completamente resistentes a este grupo de antimicrobianos.<sup>3,4</sup> No início, adicionou-se neomicina ou gentamicina a diversos meios para torná-los selectivos em relação a anaeróbios estritos. A amicacina, um aminoglicosídeo mais recente, apresenta um melhor efeito inibidor e um espectro de actividade ligeiramente mais amplo em relação à gentamicina.

No **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**, as peptonas e outros compostos incluídos no meio de base em conjunto com o sangue de ovelha fornecem os nutrientes necessários. A concentração de amicacina foi ajustada para permitir uma inibição suficiente da maioria dos anaeróbios facultativos sem que ocorra uma inibição significativa dos anaeróbios estritos mais frequentes em termos clínicos.

### REAGENTES

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

Fórmula\* por Litro de Água Purificada

Hidrolisado pancreático de caseína	10,0 g
Hidrolisado pancreático de gelatina	10,0
Extracto de leveduras	5,0
Glucose	1,0
Cloreto de sódio	5,0
L-arginina	1,0
Piruvato de sódio	1,0
Hemina	5,0
Amicacina	0,05
Agar	15,0
Vitamina K1	0,5 mg
Sangue de ovino, desfibrinado	7%

pH 7,3 ± 0,2

\*Ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios do desempenho.

## PRECAUÇÕES

**IVD** . Apenas para uso profissional. ☒

Não utilizar as placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura, fissuras ou outros sinais de deterioração.

Consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO** para informação sobre os procedimentos de manuseamento asséptico, os riscos biológicos e os procedimentos de eliminação do produto usado.

## ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após recepção das placas, conservar no escuro a uma temperatura entre 2 e 8°C, dentro do invólucro original até ao momento da utilização. Evitar congelar e aquecer excessivamente. As placas podem ser inoculadas até ao prazo de validade (ver a etiqueta da embalagem) e incubadas durante o tempo de incubação recomendado.

As placas são fornecidas em pilhas de 10 placas e, quando uma destas pilhas é aberta, as respectivas placas terão de ser utilizadas no prazo máximo de uma semana, se forem conservadas em local limpo a uma temperatura entre 2 e 8°C.

## CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR

Inocular amostras representativas com as seguintes estirpes (para mais detalhes, consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO**). Incubar por um período de 48 a 72 h numa atmosfera anaeróbia (utilizando, por exemplo, o sistema anaeróbio **BD GasPak**) a uma temperatura entre 35 e 37°C.

Estirpes	Resultados de Crescimento
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Crescimento bom a excelente; colónias cinzentas-brancas
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Crescimento bom a excelente; colónias cinzentas-castanhas de pequena a média dimensão
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Crescimento bom a excelente; colónias lobuladas ou confluentes, brancas a cinzentas, com beta-hemólise (duas zonas)
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Crescimento bom a excelente
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inibição parcial a completa
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Inibição parcial a completa
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibição completa
Não inoculadas	Vermelho (cor de sangue)

## PROCEDIMENTO

### Materiais fornecidos

**BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood** (placas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlado.

### Materiais não fornecidos

Meios de cultura auxiliares, reagentes e equipamento laboratorial, conforme necessário.

### Tipos de amostra

Trata-se de um meio utilizado para o isolamento primário de anaeróbios estritos provenientes de todo o tipo de amostras clínicas (consultar também **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**). Cumprir as técnicas aprovadas para a colheita e transporte de amostras anaeróbias.<sup>5</sup> Têm de utilizar-se meios de transporte adequados como, por exemplo, **BD Port-A-Cul**.

### Procedimento do teste

Semear a amostra sobre o meio **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood** o mais rapidamente possível, após a recepção no laboratório. A placa para cultura é usada principalmente para isolar culturas puras das amostras que contêm flora mista.

Em alternativa, se o material estiver a ser cultivado directamente de uma zaragatoa, fazer rolar a zaragatoa sobre uma pequena área da superfície, na extremidade; em seguida, espalhar a partir desta área inoculada, para obter o isolamento.

De modo a obter a detecção de todos os agentes anaeróbios presentes nas amostras clínicas, tem de ser incluído um agar anaeróbio não selectivo como, por exemplo, o **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** (agar de Schaedler com vitamina K1 e sangue de ovelha a 5%). Incubar estas placas em atmosfera anaeróbia durante 48 a 72 h, a uma temperatura entre 35 e 37°C. Uma forma fácil e eficiente de obter condições anaeróbias adequadas é através da utilização dos sistemas anaeróbios **BD GasPak**. Independentemente do sistema anaeróbio utilizado, é importante incluir um indicador da anaerobiose como, por exemplo, o indicador anaeróbio descartável **BD GasPak**.

Além disso, poderão existir anaeróbios facultativos na amostra que sejam resistentes aos aminoglicosídeos e, por essa razão, não são inibidos no **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**. Assim, é recomendado que seja sempre incluído um meio aeróbico (por exemplo, **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) aquando a preparação das culturas primárias. Esta placa é incubada num atmosfera aeróbia enriquecida com dióxido de carbono em conjunto com as culturas anaeróbias,<sup>3</sup> permitindo a detecção de organismos facultativos na amostra.

### Resultados

Após a incubação, as placas são inspeccionadas para verificar se existem indícios de crescimento. As colónias que se desenvolvem neste meio são suspeitas de se tratarem de anaeróbios estritos. Por último, e caso não tenham sido incluídos meios incubados em condições aeróbias, esta suspeita deverá ser confirmada através da realização de uma repicagem das colónias típicas no agar **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** incubado em condições aeróbias. É necessário realizar outros exames microscópicos e bioquímicos para a identificação dos géneros e espécies dos anaeróbios estritos. Uma vez que existe um grande número e vários tipos de anaeróbios estritos envolvidos nas infecções no homem, deverá ser consultada a bibliografia respectiva.<sup>3</sup>

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Este meio é utilizado para o isolamento selectivo de um grande número de bactérias estritamente anaeróbias resistentes aos aminoglicosídeos como, por exemplo, o grupo *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, as espécies clinicamente frequentes do género *Prevotella*, por exemplo, a *P. bivia*, entre outros.

### Resultados de desempenho<sup>6</sup>

Este meio foi avaliado a nível interno com isolados clínicos e estirpes de colecção das espécies seguintes estritamente anaeróbias e foi comparado com o **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** como um meio de referência de crescimento não selectivo:

Estirpes de teste	Resultados no 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>	Crescimento bom a excelente
<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>	Nenhum indício de crescimento ou crescimento reduzido

### **Limitações do procedimento**

Devido aos vários tipos metabólicos dos anaeróbios estritos existem determinados organismos como, por exemplo, a *Mobiluncus* spp., *Campylobacter (Bacteroides) gracilis*, *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis*, *Eggerthella lenta*, *Veillonella* e outros que são sensíveis à amicacina ou a outros aminoglicosídeos e, por essa razão, não se desenvolvem ou desenvolvem-se apenas ligeiramente neste meio.<sup>3</sup> Assim, é necessário inocular um meio anaeróbio não selectivo com a amostra.

O número e tipo de espécies bacterianas que surgem como agentes infecciosos é muito grande. Assim, antes do meio ser usado rotineiramente para microrganismos raramente isolados ou recentemente descobertos, a sua adequação deve ser testada primeiro pelo utilizador, ao cultivar culturas puras do organismo em questão.

Existem estirpes de anaeróbios facultativos que são resistentes aos aminoglicosídeos e, por sua vez, não são inibidos neste meio.

### **BIBLIOGRAFIA**

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. 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. Pfaller, 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

### **EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO**

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

No. de cat. 254479                      Meios em placas prontos a usar, 20 placas

### **INFORMAÇÕES ADICIONAIS**

Para obter informações adicionais, contacte o representante local da 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