



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

### USO PREVISTO

**BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood** es un medio selectivo para el aislamiento de bacterias anaerobias estrictas a partir de muestras clínicas. Debido a la amicacina, se inhibe la mayoría de los organismos facultativos.

### PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

El medio Wilkins Chalgren se ha descrito para las pruebas de sensibilidad de bacterias anaerobias<sup>1</sup>. Dado que es un medio semisintético con suplementos tales como arginina, piruvato, hemina y vitamina K<sub>1</sub>, es adecuado para el crecimiento de numerosos anaerobios estrictos pertenecientes a diversos tipos metabólicos, incluidos *Bacteroides*, *Prevotella*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Veillonella* y otros<sup>2</sup>. Se ha observado que este medio, cuando se lo utiliza sin sangre, no favorece tan bien el crecimiento de *Porphyromonas* y *Peptostreptococcus*. Suplementado con sangre y vitamina K, este medio es un medio universal de crecimiento y aislamiento para todas las bacterias anaerobias involucradas en infecciones humanas. Se ha demostrado que los aminoglucósidos inhiben el crecimiento de la mayoría de las bacterias anaerobias facultativas (por ejemplo, *Enterobacteriaceae*) mientras que numerosas bacterias anaerobias estrictas, tales como *Bacteroides*, son completamente resistentes a este grupo de antimicrobianos<sup>3,4</sup>. En los primeros años, se han añadido neomicina y gentamicina a diversos medios para hacerlos selectivos para organismos anaerobios estrictos. La amicacina, un aminoglucósido más reciente, presenta un efecto inhibidor mejor y un espectro de actividad un poco más amplio, en comparación con la gentamicina.

En **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**, las peptonas y otros compuestos incluidos en el medio base, junto con la sangre de carnero, proporcionan los nutrientes necesarios. La concentración de amicacina se ha ajustado para permitir una inhibición suficiente de la mayoría de los anaerobios facultativos sin inhibición significativa de los organismos anaerobios estrictos clínicamente más frecuentes.

### REACTIVOS

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

Fórmula\* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína	10,0 g
Digerido pancreático de gelatina	10,0
Extracto de levadura	5,0
Glucosa	1,0
Cloruro sódico	5,0
L-Arginina	1,0
Piruvato sódico	1,0
Hemina	5,0
Amicacina	0,05
Agar	15,0
Vitamina K1	0,5 mg
Sangre de carnero, desfibrinada	7%

pH 7,3 ± 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 entre 2 y 8 °C, envueltas en su envase original, hasta justo antes de usarlas. Evitar la congelación y el calentamiento excesivo. Las placas pueden inocularse hasta su fecha de caducidad (ver la etiqueta en el paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados. Las placas de grupos de 10 placas ya abiertos pueden usarse durante una semana siempre que se almacenen en un lugar limpio a una temperatura entre 2 y 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 durante 48 – 72 h en una atmósfera anaerobia (por ejemplo, sistema anaerobio **BD GasPak**) a 35 – 37 °C.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Crecimiento de bueno a excelente, colonias de color blanco grisáceo
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de color marrón grisáceo de pequeñas a medianas
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Crecimiento de bueno a excelente; colonias blancas grisáceas, lobuladas o confluentes, con beta-hemólisis (zona doble)
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Crecimiento de bueno a excelente
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibición de parcial a completa
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Inhibición de parcial a completa
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibición completa
Sin inocular	Rojo (de color sangre)

## PROCEDIMIENTO

### Materiales suministrados

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

### Material no suministrado

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

### Tipos de muestras

Se trata de un medio no selectivo para el aislamiento primario de anaerobios estrictos para todo tipo de muestras clínicas (véase también **CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**). Emplear las técnicas aprobadas para la recogida y el transporte de muestras anaerobias<sup>5</sup>. Se deben utilizar medios de transporte adecuados, por ejemplo, **BD Port-A-Cul**.

## PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

Tan pronto como se reciba la muestra en el laboratorio, extenderla en **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**. La placa de extensión se utiliza principalmente para aislar los cultivos puros de las muestras con flora mixta.

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

Para proporcionar la detección de todos los agentes anaerobios presentes en muestras clínicas, se debe incluir un agar anaerobio no selectivo tal como **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**. Incubar estas placas en atmósfera anaerobia durante 48 – 72 h a 35 – 37 °C. Una manera eficaz y fácil de obtener condiciones anaerobias adecuadas es mediante el uso de los sistemas anaerobios **BD GasPak**. Independientemente del sistema anaerobio utilizado, es importante incluir un indicador de anaerobiosis tal como el indicador anaerobio desechable **BD GasPak**.

Asimismo, en la muestra podría haber anaerobios facultativos resistentes a los aminoglucósidos y, por tanto, no son inhibidos en **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**. Por consiguiente, se recomienda incluir siempre un medio aerobio (tal como **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) cuando se realizan cultivos primarios. Esta placa se incuba en atmósfera aerobia enriquecida con dióxido de carbono junto con los cultivos anaerobios<sup>3</sup>. Permite la detección de los organismos facultativos en la muestra.

### Resultados

Después de la incubación, se examinan las placas para determinar el crecimiento. Las colonias que crecen en este medio son presuntivamente organismos anaerobios estrictos. Finalmente, y en el caso en que no se hayan incluido medios incubados en atmósfera aerobia, se debe confirmar los resultados mediante el subcultivo de colonias características en **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** incubado en atmósfera aerobia. Se requiere un examen adicional bioquímico o al microscopio para lograr la identificación de los géneros y las especies de los anaerobios estrictos. Dado que el elevado número y la variedad de tipos de anaerobios estrictos involucrados en infecciones humanas, es necesario consultar las referencias correspondientes<sup>3</sup>.

### CARACTERISTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Este medio se utiliza para el aislamiento selectivo de numerosas bacterias anaerobias estrictas resistentes a los aminoglucósidos (por ejemplo, grupo *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*), especies clínicamente frecuentes del género *Prevotella* (por ejemplo, *P. bivia*) y otros.

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

El medio se evaluó internamente con aislados clínicos y cepas recogidas de las siguientes especies anaerobias estrictas, que se compararon con **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** como medio de referencia de crecimiento no selectivo:

Cepas de prueba	Resultados de 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>	Crecimiento de bueno 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>	Crecimiento nulo o reducido

#### Limitaciones del procedimiento

Debido a los diversos tipos de metabolismo entre los anaerobios estrictos, existen determinados organismos, por ejemplo, las especies *Mobiluncus*, *Campylobacter (Bacteroides) gracilis*, *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis*, *Eggerthella lenta*, *Veillonella*, y otros que son sensibles a la amicacina u otros aminoglucósidos y, por tanto, no crecen o crecen sólo débilmente en este

medio<sup>3</sup>. Por consiguiente, también se debe inocular con la muestra un medio anaerobio no selectivo.

Son altos el número y la variedad de especies bacterianas que se dan como agentes infecciosos. Por tanto, antes de utilizar sistemáticamente el medio para microorganismos de reciente descripción o raramente aislados, el usuario debe analizar su conveniencia mediante cultivos puros del microorganismo en cuestión.

Existen cepas de anaerobios facultativos resistentes a los aminoglucósidos y, por tanto, no resistentes en este medio.

## REFERENCIAS

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.

## ENVASE/DISPONIBILIDAD

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

Nº de cat. 254479                      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 and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2014 BD