



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

USO PREVISTO

BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood (agar Wilkins-Chalgren con amicacina e 7% di sangue di montone) è un terreno selettivo per l'isolamento di batteri anaerobi stretti da campioni clinici. L'amicacina inibisce gran parte dei microrganismi facoltativi.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

Il terreno di Wilkins-Chalgren è stato allestito per i test di sensibilità su batteri anaerobi.¹ Essendo un terreno semi-sintetico arricchito con arginina, piruvato, emina e vitamina K1, è adatto alla crescita di numerosi anaerobi stretti caratterizzati da diversi sistemi metabolici, ad es. *Bacteroides*, *Prevotella*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Veillonella* e altri ancora.² Se viene utilizzato senza sangue, il terreno non è in grado di alimentare adeguatamente la crescita di *Porphyromonas* e *Peptostreptococcus*. Con l'aggiunta di sangue e vitamina K, diventa un terreno universale per la crescita e l'isolamento di tutti i batteri anaerobi che determinano le infezioni umane. Gli aminoglicosidi inibiscono la crescita di gran parte dei batteri anaerobi facoltativi (ad es. *Enterobacteriaceae*), mentre numerosi batteri anaerobi stretti, ad es. *Bacteroides*, sono perfettamente resistenti a questo gruppo di antibiotici.^{3,4} In passato, diversi terreni sono stati arricchiti con neomicina o gentamicina per renderli selettivi nei confronti degli anaerobi stretti. L'amicacina, un aminoglicoside di recente sintesi, ha un effetto inibente più pronunciato e uno spettro d'azione lievemente più ampio rispetto alla gentamicina.

Nel **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**, i nutrienti sono forniti dai peptoni e da altri composti aggiunti al terreno di coltura con il sangue di montone. La concentrazione di amicacina è stata regolata in modo da inibire gran parte degli anaerobi facoltativi, senza peraltro inibire in modo significativo la maggior parte degli anaerobi stretti di interesse medico.

REAGENTI

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

Formula* per litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	10,0 g
Digerito pancreatico di gelatina	10,0
Estratto di lievito	5,0
Glucosio	1,0
Cloruro di sodio	5,0
L-arginina	1,0
Piruvato di sodio	1,0
Emina	5,0
Amicacina	0,05
Agar	15,0
Vitamina K1	0,5 mg
Sangue defibrinato di montone	7%

pH 7,3 ± 0,2

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

PRECAUZIONI

IVD . Solo per uso professionale.

Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazioni di colore, essiccamento, incrinature o altri segni di deterioramento.

Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C nella confezione originaria fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per informazioni più dettagliate, v. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare a 35 – 37 °C per 48 – 72 h in atmosfera anaerobica (ad es. usando il sistema anaerobico **BD GasPak**).

Ceppi	Risultati della crescita
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Crescita da buona a eccellente, colonie grigio-bianche
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Crescita da buona a eccellente, colonie grigio-marroni da piccole a medie
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Crescita da buona a eccellente, colonie da bianche a grigie, lobate o confluenti, con beta-emolisi (doppia zona)
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Crescita da buona a eccellente
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inibizione da parziale a completa
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Inibizione da parziale a completa
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibizione completa
Non inoculate	Rosse (color sangue)

PROCEDURA

Materiali forniti

BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood (piastre impilate **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Tipi di campioni

Il terreno viene usato per l'isolamento primario degli anaerobi stretti da tutti i tipi di campioni clinici (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**). Attenersi alle procedure approvate per il prelievo e il trasporto di campioni anaerobi.⁵ Utilizzare terreni di trasporto adatti, ad es. **BD Port-A-Cul**.

Procedura del test

Strisciare il campione non appena viene consegnato in laboratorio su **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**. La piastra strisciata viene usata in prevalenza per isolare le colture pure dai campioni contenenti flora mista.

In alternativa, se il materiale viene messo in coltura direttamente da un tampone, passare il tampone stesso su una piccola area del bordo e strisciare da questa zona inoculata per isolare le colonie.

Per individuare tutti i batteri anaerobi presenti nei campioni clinici, aggiungere una base agar anaerobica non selettiva, come **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood**. Incubare le piastre in ambiente anaerobico a 35 – 37 °C per 48 – 72 h. Un modo funzionale e semplice per creare le condizioni anaerobiche desiderate è il sistema anaerobico **BD GasPak**.

Indipendentemente dal sistema anaerobico utilizzato, è importante inserire un indicatore di anaerobiosi, come l'indicatore anaerobico monouso **BD GasPak**.

Nel campione, inoltre, possono essere presenti anaerobi facoltativi che resistono agli aminoglicosidi e quindi non vengono inibiti su **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**. Pertanto, quando si allestiscono le colture primarie è opportuno aggiungere sempre un terreno aerobico (come **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**). La piastra viene incubata aerobicamente e arricchita con anidride carbonica assieme alle colture anaerobiche,³ e permette di individuare i microrganismi facoltativi nel campione.

Risultati

Dopo l'incubazione, ricercare sulle piastre i segni di crescita. Le colonie cresciute su questo terreno sono formate presumibilmente da anaerobi stretti. Se non sono stati aggiunti terreni incubati aerobicamente, la conferma definitiva dovrebbe venire dalle subcolture di colonie tipiche su **BD Columbia Agar with 5% sheep blood** incubato in ambiente aerobico. Sono necessari ulteriori esami microscopici e biochimici per identificare i generi e le specie degli anaerobi stretti. Consultare le voci della bibliografia per valutare il numero e i tipi di anaerobi stretti che determinano le infezioni umane.³

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Questo terreno è usato per l'isolamento selettivo di numerosi batteri anaerobi stretti resistenti agli aminoglicosidi, ad es. *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, le specie *Prevotella* di interesse medico, ad es. *P. bivia*, e altri ancora.

Risultati delle prestazioni⁶

Il terreno è stato valutato internamente con isolati clinici e ceppi ATCC dei seguenti anaerobi stretti e messo a confronto con **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** come terreno non selettivo di riferimento per la crescita:

Ceppi per test	Risultati su 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>	Crescita da buona a eccellente
<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>	Crescita assente o ridotta

Limitazioni della procedura

La varietà metabolica degli anaerobi stretti è tale che alcuni microrganismi, ad es. *Mobiluncus* spp., *Campylobacter (Bacteroides) gracilis*, *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis*, *Eggerthella lenta*, *Veillonella* e altri ancora sono sensibili alla amicacina o ad altri aminoglicosidi e quindi non crescono o crescono debolmente su questo terreno.³ Pertanto, è necessario inoculare con il campione anche un terreno anaerobio non selettivo.

Le specie batteriche che agiscono come agenti infettivi sono estremamente numerose. Pertanto, prima di usare abitualmente il terreno con microrganismi isolati di rado o descritti di recente, l'utilizzatore deve verificarne l'idoneità coltivando colture pure dell'organismo in questione.

Esistono, inoltre, ceppi di anaerobi facoltativi che resistono agli aminoglicosidi e quindi non sono inibiti su questo terreno.

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

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

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

N. di cat. 254479 Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



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