

GELOSE DE WILKINS-CHALGREN

CULTURE DES BACTERIES ANAEROBIES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose de Wilkins-Chalgren est utilisée pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices d'antibiotiques pour les bactéries anaérobies, par la technique en dilution. Elle permet également la culture abondante et l'isolement des germes anaérobies.

2 HISTORIQUE

Wilkins et Chalgren ont établi la formule du milieu en 1976. Ils ont démontré que celui-ci présentait l'avantage de ne pas nécessiter de sang pour obtenir une croissance satisfaisante des bactéries anaérobies d'intérêt clinique. Les modalités d'utilisation sont décrites dans le protocole du "NCCLS Collaborative Study of the Proposed Reference Dilution Method of Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria".

3 PRINCIPES

La forte nutritivité du milieu est due à l'association entre les peptones de caséine et de gélatine, l'extrait autolytique de levure et le glucose.

L'hémine stimule la croissance des germes difficiles à cultiver.

La vitamine K1 favorise le développement des *Bacteroides*.

Le chlorure de sodium maintient la pression osmotique.

4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	10,0 g
- Peptone pancréatique de gélatine.....	10,0 g
- Extrait autolytique de levure	5,0 g
- L-arginine	1,0 g
- Glucose	1,0 g
- Hémine	5,0 mg
- Vitamine K1	0,5 mg
- Pyruvate de sodium.....	1,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Agar agar bactériologique	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,1 ± 0,2.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 48,0 g de milieu déshydraté (BK101) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.
- Si besoin, ajouter les antibiotiques à tester.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.

✓ **Reconstitution:**
48,0 g/L

✓ **Stérilisation:**
15 min à 121 °C

NOTE

Pour la culture de germes exigeants, le milieu peut être additionné de sang défibriné, à raison de 5 mL pour 100 mL de gélose maintenue à 44-47 °C.

6 MODE D'EMPLOI

- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Ensemencer l'inoculum.
- Incuber en anaérobiose à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

✓ **Ensemencement:**
En surface
✓ **Incubation:**
24 h à 48 h à 37 °C

7 LECTURE

Vérifier la croissance des microorganismes sur les boîtes.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre blanc-crème, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose ambrée.

Réponse culturale après 48 heures d'incubation en anaérobiose à 37 °C

Microorganismes		Croissance
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00007	Bonne, score 2
<i>Clostridium sporogenes</i>	WDCM 00008	Bonne, score 2

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C. La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C .

Milieu préparé en boîtes (*) : 30 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK101HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Wilkins, T.D., and Chalgren, S. 1976. Medium for use in antibiotic susceptibility testing of anaerobic bacteria. Antimicrob. Agents Chemother., 10 (6): 926.

N.C.C.L.S. 1982. Tentative Standard Reference Agar Dilution Procedure for Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria , 2, n°3.

Lenette, E.H., Balows, A., Hausler, Jr., W.J., and Shadomy, H.J. 1985. Manual of Clinical Microbiology. A.S.M. Washington. 4 th Ed., 988-990.

12 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : WILKINS CHALGREN_FR_V6.

Date création : 09-2000

Date de révision : 10-2015

Motif de révision : Révision générale.