

BD Kirchner Medium with PACT

VERWENDUNGSZWECK

BD Kirchner Medium with PACT (BD Kirchner-Medium mit PACT) ist ein selektives Flüssigmedium zur Isolierung von Mykobakterien, insbesondere *Mycobacterium tuberculosis*, aus klinischen Proben.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

BD Kirchner Medium with PACT ist eine Modifikation des von Kirchner entwickelten flüssigen Anreicherungsmedium. Mitchison und Mitarbeiter haben das Medium durch Zugabe kleiner Mengen Casein und Kälberserum modifiziert.¹ Die Mitchison-Ergänzung besteht aus Polymyxin B, Amphotericin, Carbenicillin und Trimethoprim (=PACT) und wird beigefügt, um das Medium selektiv zu machen.² Das Kirchner-Medium, mit und ohne selektive Wirkstoffe, wird in DIN-58943-3 und im Mikrobiologisch-Infektiologischen Qualitätsstandard (MIQ) zur Erstisolierung von Mykobakterien aus klinischen Proben aufgeführt.^{3,4}

In **BD Kirchner Medium with PACT** sind Casiton und Asparagin Stickstoffquellen, während Magnesium als Wachstumsfaktor agiert. Glycerin ist eine bevorzugte Energiequelle der meisten Mykobakterien. Phosphate werden beigefügt, um den pH-Wert stabil zu halten. Zusammen mit den antimikrobiellen Mitteln Polymyxin B, Amphotericin B, Carbenicillin und Trimethoprim (=PACT) sind Citrat und Phenolrot Inhibitoren der begleitenden Pilz- und Bakterienflora. Das Kälberserum ist eine Quelle von komplexen Nährstoffen.

BD Kirchner Medium with PACT wird zur Isolierung von Mykobakterien aus klinischen Proben verwendet. Proben mit normaler Flora (z.B. Sputa) müssen vor der Inokulation auf das Medium dekontaminiert werden. Proben aus sterilen Körperbereichen (z.B. Zerebrospinalflüssigkeit) dürfen vor der Inokulation auf das Medium nicht vorbehandelt werden.

REAGENZIEN

BD Kirchner Medium with PACT

Zusammensetzung* pro Liter destilliertem Wasser

Bacto Casiton	0,5 g
L-Asparagin	5,0
Magnesiumsulfat	0,6
Glycerol	20,0 mL
Kaliumdihydrogenphosphat	2,0 g
Dinatriumhydrogenphosphat	7,5
Natriumcitrat	2,5
Phenolrot	0,1
Polymyxin B	40000 Einheiten
Amphotericin B	0,01
Carbenicillin	0,02
Trimethoprim	0,002 g
Kälberserum	100,0 mL

pH 7,4 ± 0,2

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch.

Fläschchen bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Laborverfahren im Zusammenhang mit tuberkulösen Mykobakterien benötigen spezielle Geräte und Methoden, um die Biogefährdung zu minimieren.⁵⁻⁷ Bei der Handhabung von Proben und Kulturen ist die biologische Sicherheitsstufe 3 einzuhalten.

Hinweise zu Verfahren aseptischer Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des gebrauchten Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Fläschchen bis kurz vor der Anwendung im Dunkeln bei 2 – 8 °C aufbewahren. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Fläschchen können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf dem Behälter oder der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Fläschchen aus geöffneten Packungen können bis zum Verfallsdatum verwendet werden. Geöffnete Fläschchen sofort verwenden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben dieses Mediums mit 0,01 mL McFarland-0,5-Suspensionen der nachstehend aufgeführten Stämme inokulieren. Für weitere Einzelheiten ist die **ALLGEMEINE BEDIENUNGSANLEITUNG** zu beachten. *M. tuberculosis* 2 – 3 Wochen, die übrigen Stämme 2 Wochen bei 35 – 37 °C inkubieren.

Stamm	Ergebnis
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra ATCC 25177	Wachstum
<i>Mycobacterium fortuitum</i> DSM 46621	Wachstum
<i>Mycobacterium smegmatis</i> DSM 43061	Wachstum
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Hemmung (vollständig)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Hemmung (vollständig)

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Kirchner Medium with PACT. Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

BD Kirchner Medium with PACT kann zur Isolierung von Mykobakterien (einschließlich *Mycobacterium tuberculosis*) aus allen klinischen Probenarten verwendet werden. Weitere Informationen über die geeigneten Verfahren zur Probenentnahme sind der entsprechenden Literatur zu entnehmen.^{6,7}

Vorbereitung der Reagenzien

Grundsätzlich kann dieses Medium ohne weitere Ergänzung verwendet werden. Falls jedoch *Mycobacterium haemophilum* in einer Probe vermutet wird, muss das Medium mit Ammonium Eisen(III)-Citrat oder Hämin ergänzt werden. Es hat sich gezeigt, dass *M. genavense* zum Wachstum Mycobactin J benötigt. Die speziellen Nährstoffanforderungen von *Mycobacterium*-Spezies sind den Literaturhinweisen zu entnehmen.⁷

Testverfahren

Vor der Inokulation des Mediums müssen Proben mit normaler Flora gemäss den Referenzverfahren vorbehandelt (aufgeschlossen und dekontaminiert) werden. Dazu wird das N-Acetyl-L-Cystein (NALC)-Verfahren empfohlen. Es kann auch ein SDS (Laurylsulfat)-Verfahren durchgeführt werden. Proben aus normalerweise sterilen Körperbereichen können ohne Aufschließung und Dekontaminierung inokuliert werden. Die entsprechenden Literaturhinweise sind zu beachten.^{3,4,7}

Jedes Fläschchen **BD Kirchner Medium with PACT** mit 0,2 – 0,5 mL der durch Zentrifugieren konzentrierten Probe inokulieren. Bei flüssigen Proben, für die eine niedrige Dichte an Organismen erwartet wird, wie z.B. Urin, können größere Mengen verwendet werden.^{4,7}

Zur optimalen Isolierung von Mykobakterien ist eine Kombination aus festen und flüssigen Medien zu verwenden.

Das inokulierte Medium bis zu 8 Wochen bei 35 – 37 °C inkubieren. Röhrchen einmal wöchentlich ablesen.

Es wird darauf hingewiesen, dass *Mycobacterium haemophilum*, *M. marinum*, *M. ulcerans* und *M. chelonae* eine Inkubationstemperatur von 28 – 30 °C benötigen.^{4,7}

Ergebnisse

In Flüssigmedien neigen viele Mykobakterien dazu, eher granulöses Wachstum als eine homogene Trübung zu produzieren. Das Wachstum sollte einer Differenzialfärbung für Mykobakterien sowie Mikroskopuntersuchungen unterzogen werden.^{4,7} Subkulturen müssen auf geeigneten festen Medien angelegt werden, um die Reinheit der Kultur zu untersuchen und Wachstum für weiteren Differenzierungstest zu erhalten.

Zur Differenzierung und Identifizierung der isolierten Organismen sind weitere Tests notwendig. Die Literaturhinweise sind zu beachten.^{4,8,9}

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD Kirchner Medium with PACT ist ein selektives Flüssigmedium zur Isolierung von Mykobakterien, einschließlich *Mycobacterium tuberculosis*, aus klinischen Proben.^{3,4}

Proben mit normaler Flora müssen vor der Inokulation dieses Mediums aufgeschlossen und dekontaminiert werden (s. **Testverfahren**).

Der gegenwärtige Standard der Tuberkulosediagnose verlangt, dass verschiedene Medien-Rezepturen gleichzeitig verwendet werden.^{3,4,8,9}

Gewisse Mykobakterien benötigen eine Ergänzung dieses Mediums und eine Inkubation bei 28 – 30 °C. Siehe **Vorbereitung der Reagenzien**, **Testverfahren** und die Literaturhinweise.⁴⁻⁷

LITERATUR

1. Mitchison, D.A. et al. 1983. Selective Kirchner medium in the culture of specimens other than sputum for mycobacteria. J. Clin. Pathol. 36: 1357-1361.
2. Mitchison, D.A. et al. 1973. Selective media in the isolation of tubercle bacilli from tissues. J. Clin. Pathol. 26: 250-252
3. DIN 58943-3. 1996. Diagnosis of tuberculosis – part 3: detection of mycobacteria by culture methods. Edited by DIN Deutsches Institut für Normung, Berlin. Beuth Verlag, Berlin, Germany.
4. Kuchler, R., et al. 1998. Tuberkulose – Mykobakteriose. In: Mauch, H., Lüttiken, R., and S. Gattermann (eds.): MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 5. G. Fischer, Munich, Germany.
5. Kent, P.T., and G.P. Kubica. 1985. Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. USDHHS. Centers for Disease Control, Atlanta.
6. Sommers, H.M., and J.K. McClatchy. 1983. Cumitech 16, Laboratory diagnosis of the mycobacterioses. Coordinating ed., J.A. Morello. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Pfyffer, G.E., B.A. Brown-Elliott, and R.J. Wallace jr. 2003. Mycobacterium: general characteristics, isolation, and staining procedures. In: Murray, P.R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Vincent, V., et al. 2003. Mycobacterium: phenotypic and genotypic identification. In: Murray, P.R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. DIN 58943-9. 1993. Diagnosis of tuberculosis – part 9: Minimum requirements for the identification of tubercle bacilli. Edited by DIN Deutsches Institut für Normung, Berlin. Beuth Verlag, Berlin, Germany.

Verpackung/Lieferbare Produkte

BD Kirchner Medium with PACT

Best.-Nr. 257179

Gebrauchsfertiges Flaschenmedium, 50
Fläschchen

10 mL in 28 mL Fläschchen mit
Schraubverschluss

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



BD Diagnostic Systems
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

BD Diagnostic Systems Europe
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD and BD logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
Bacto is a trademark of Difco Laboratories, division of Becton, Dickinson and Company.
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
© 2003 Becton, Dickinson and Company