

BD Kirchner Medium with PACT

APPLICATION

Le **BD Kirchner Medium with PACT** (milieu Kirchner avec PACT) est un milieu liquide sélectif pour l'isolement de mycobactéries, en particulier *Mycobacterium tuberculosis*, à partir d'échantillons cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Le **BD Kirchner Medium with PACT** est une modification du milieu d'enrichissement liquide élaboré par Kirchner. Mitchison *et al* ont modifié le milieu en y incorporant une petite quantité de caséine et de sérum de veau.¹ Le complément de Mitchison, constitué de polymyxine B, amphotéricine, carbénicilline et triméthoprime (PACT), est ajouté au milieu afin de le rendre sélectif.² Le milieu Kirchner, avec et sans agents sélectifs, est cité dans la norme DIN 58943-3 et dans les normes du MiQ pour l'isolement primaire des mycobactéries à partir d'échantillons cliniques.^{3,4}

Dans le **BD Kirchner Medium with PACT**, la casitone et l'asparagine sont les sources d'azote et le magnésium est un facteur de croissance. Le glycérol constitue la source d'énergie privilégiée de la plupart des mycobactéries. L'ajout de phosphates permet de maintenir un pH stable. Le citrate, les antimicrobiens (polymyxine B, amphotéricine B, carbénicilline et triméthoprime [PACT]) et le rouge de phénol sont des inhibiteurs des flores fongique et bactérienne associées. Le sérum de veau est source de nutriments complexes.

Le **BD Kirchner Medium with PACT** est utilisé pour l'isolement de mycobactéries à partir d'échantillons cliniques. Les échantillons contenant une flore normale (p. ex. expectorations) doivent être décontaminés avant d'être ensemencés dans le milieu. Les échantillons prélevés à partir de sites anatomiques stériles (p. ex. liquide céphalorachidien) ne doivent subir aucun prétraitement avant d'être ensemencés dans le milieu.

REACTIFS

BD Kirchner Medium with PACT

Formule* par litre d'eau purifiée

Bacto Casitone	0,5 g
L-Asparagine	5,0
Sulfate de magnésium	0,6
Glycérol	20,0 mL
Dihydrophosphate de potassium	2,0 g
Phosphate d'hydrogène disodique	7,5
Citrate de sodium	2,5
Rouge de phénol	0,1
Polymyxine B	40 000 unités
Amphotéricine B	0,01
Carbénicilline	0,02
Triméthoprime	0,002 g
Sérum de veau	100,0 mL

pH 7,4 ± 0,2

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement.

Ne pas utiliser de fioles présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.

Les méthodes de laboratoire impliquant des mycobactéries tuberculeuses nécessitent un équipement et des techniques particulières afin de minimiser les risques microbiologiques.⁵⁻⁷ Appliquer impérativement les pratiques de sécurité biologique de niveau 3 lors de la manipulation des échantillons et des cultures.

Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations sur les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les fioles dans l'obscurité entre 2 et 8 °C jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Les fioles peuvent êtreensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette du récipient ou de l'emballage), et incubées pendant les durées recommandées.

Les fioles provenant de boîtes déjà entamées peuvent être utilisées jusqu'à la date de péremption indiquée. Les fioles ouvertes doivent être utilisées immédiatement.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer des échantillons représentatifs du milieu avec 0,01 ml de suspensions des souches citées ci-dessous, ajustées à un standard McFarland 0,5. Pour plus d'informations, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**. Ensemencer *M. tuberculosis* pendant 2 à 3 semaines, et les souches restantes pendant 2 semaines, entre 35 et 37 °C.

Souche	Résultat
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra ATCC 25177	Croissance
<i>Mycobacterium fortuitum</i> DSM 46621	Croissance
<i>Mycobacterium smegmatis</i> DSM 43061	Croissance
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibition (complète)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibition (complète)

METHODE

Matériaux fournis

BD Kirchner Medium with PACT. Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons

Le **BD Kirchner Medium with PACT** est utilisé pour l'isolement de mycobactéries (notamment *Mycobacterium tuberculosis*) à partir d'échantillons cliniques. Consultez les publications citées en référence pour connaître les techniques de prélèvement approuvées.^{6,7}

Préparation des réactifs

En principe, ce milieu peut être utilisé sans supplément. Toutefois, si la présence de *Mycobacterium haemophilum* est présumée dans l'échantillon, le milieu doit être complété avec du citrate d'ammonium ferrique ou de l'hémine. Il a été montré que la croissance de *M. genavense* nécessite la présence de mycobactine J. Pour obtenir plus d'informations sur les exigences nutritives particulières des *Mycobacterium* spp., consulter les publications citées en référence.⁷

Mode opératoire du test

Avant d'être ensemencés dans le milieu, les échantillons contenant une flore normale doivent subir un prétraitement (digestion et décontamination), conformément aux spécifications déterminées par les méthodes de référence. La méthode N-acétyl-L-cystéine (NALC) est recommandée. La méthode SDS (sulfate laurique) peut également être utilisée. Les échantillons provenant de sites anatomiques normalement stériles peuvent être ensemencés

sans subir de digestion ni de décontamination au préalable. Consulter les publications citées en référence.^{3,4,7}

Ensemencer chaque fiole de **BD Kirchner Medium with PACT** avec 0,2 à 0,5 mL d'échantillon concentré par centrifugation. Des volumes plus importants peuvent être utilisés avec les échantillons liquides dont la densité présumée en microorganismes est faible, tels que les urines.^{4,7}

Pour une mise en évidence optimale des mycobactéries, il convient d'utiliser une association de milieux solide et liquide.

Incuber le milieu ensemencé entre 35 et 37 °C jusqu'à 8 semaines. Les tubes sont lus une fois par semaine.

Noter que *Mycobacterium haemophilum*, *M. marinum*, *M. ulcerans* et *M. chelonae* nécessitent une incubation entre 28 et 30 °C.^{4,7}

Résultats

Dans un milieu liquide, de nombreuses mycobactéries ont tendance à produire une croissance granulaire plutôt qu'une turbidité homogène. La croissance doit être soumise à un test de coloration différentielle pour les mycobactéries et à un examen microscopique.^{4,7} Des repiquages doivent être effectués sur des milieux solides appropriés, afin d'examiner la pureté de la culture et d'obtenir la croissance nécessaire pour réaliser des tests différentiels supplémentaires.

Des tests supplémentaires sont nécessaires pour la différenciation et l'identification complète des microorganismes isolés. Consulter les publications citées en référence.^{4,8,9}

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

Le **BD Kirchner Medium with PACT** est un milieu liquide sélectif pour l'isolement des mycobactéries, notamment *Mycobacterium tuberculosis*, à partir d'échantillons cliniques.^{3,4}

Les échantillons contenant une flore normale doivent être digérés et décontaminés avant d'être ensemencés dans ce milieu (voir **Mode opératoire du test**).

Les évolutions les plus récentes en matière de diagnostic de la tuberculose nécessitent l'utilisation simultanée de plusieurs formulations de milieux.^{3,4,8,9}

Certaines mycobactéries nécessitent un enrichissement du milieu et une incubation entre 28 et 30 °C. Consulter les rubriques **Préparation des réactifs**, **Mode opératoire du test**, ainsi que les publications citées en référence.^{4,7}

REFERENCES

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. Kùchler, R., et al. 1998. Tuberculose – Mykobakteriose. In: Mauch, H., Lüttiken, R., and S. Gatermann (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.

CONDITIONNEMENT

BD Kirchner Medium with PACT : Milieu en flacons prêt à l'emploi
No réf. 257179 50 unités par carton 10 mL, en fiole de 28 mL à bouchon à vis

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.



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