



BD Kirchner Medium with PACT

USO PREVISTO

BD Kirchner Medium with PACT (terreno di Kirchner con polimixina B, anfotericina, carbenicillina e trimethoprim [PACT]) è un terreno selettivo liquido per l'isolamento di micobatteri, in particolare *Mycobacterium tuberculosis*, da campioni clinici.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

BD Kirchner Medium with PACT è una variante del terreno liquido di arricchimento allestito da Kirchner. Mitchison e colleghi hanno modificato il terreno aggiungendo un piccolo quantitativo di caseina e siero di vitello.¹ Il supplemento di Mitchison, composto da polimixina B, anfotericina B, carbenicillina e trimethoprim (PACT), viene aggiunto per rendere il terreno selettivo.² Il terreno di Kirchner, con e senza agenti selettivi, è indicato dal DIN Standard 58943-3 e dal MiQ Quality Standard per l'isolamento primario di micobatteri dai campioni clinici.^{3,4}

BD Kirchner Medium with PACT contiene casitone e asparagina come fonti di azoto e il magnesio come fattore di crescita. Come fonte di energia, il glicerolo è preferito da gran parte dei micobatteri. I fosfati vengono aggiunti per mantenere stabile il pH. Il citrato, assieme agli antibiotici polimixina B, anfotericina B, carbenicillina e trimethoprim (PACT) e al rosso fenolo inibiscono i funghi e i batteri associati. Il siero di vitello fornisce sostanze nutritive complesse.

BD Kirchner Medium with PACT è utilizzato per l'isolamento di micobatteri dai campioni clinici. I campioni contenenti flora normale (ad es. l'espettorato) devono essere decontaminati prima di inoculare il terreno. I campioni prelevati da siti corporei sterili (ad es. liquido cerebrospinale) non devono essere pretrattati prima di inoculare il terreno.

REAGENTI

BD Kirchner Medium with PACT

Formula* per litro di acqua purificata

Casitone Bacto	0,5 g
L-asparagina	5,0
Solfato di magnesio	0,6
Glicerolo	20,0 mL
Di-idrogeno fosfato di potassio	2,0 g
Fosfato di sodio dibasico	7,5
Citrato di sodio	2,5
Rosso fenolo	0,1
Polimixina B	40 000 unità
Anfotericina B	0,01
Carbenicillina	0,02
Trimethoprim	0,002 g
Siero di vitello	100,0 mL

pH 7,4 ± 0,2

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

PRECAUZIONI

IVD. Solo per uso professionale.

Non usare le fiale se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione del colore, essiccamento, fessurazioni o altri segni di deterioramento.

Le tecniche di laboratorio che utilizzano micobatteri tubercolari richiedono attrezzature e tecniche speciali per ridurre al minimo i rischi biologici.⁵⁻⁷ Per il trattamento di campioni e colture è necessario un livello di sicurezza biologica 3.

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 fiale al buio a 2 – 8 °C fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le fiale possono essere inoculate fino alla data di scadenza (v. il contenitore o l'etichetta sulla confezione) e incubate per il tempo necessario. Le fiale prelevate dalle confezioni già aperte possono essere usate fino alla data di scadenza. Le fiale aperte devono essere utilizzate immediatamente.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi del terreno con 0,01 mL di sospensione McFarland 0,5 dei ceppi elencati in tabella. Per ulteriori informazioni, v. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**. Incubare *M. tuberculosis* per 2 – 3 settimane e gli altri ceppi per 2 settimane a 35 – 37 °C.

Ceppo	Risultato
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra ATCC 25177	Crescita
<i>Mycobacterium fortuitum</i> DSM 46621	Crescita
<i>Mycobacterium smegmatis</i> DSM 43061	Crescita
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inibizione (completa)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibizione (completa)

PROCEDURA

Materiali forniti

BD Kirchner Medium with PACT. Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

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

Tipi di campioni

BD Kirchner Medium with PACT può essere usato per l'isolamento di micobatteri (incluso *Mycobacterium tuberculosis*) da tutti i tipi di campioni clinici. Per scegliere le tecniche di prelievo più adatte, consultare la bibliografia.^{6,7}

Preparazione dei reagenti

Il terreno può essere utilizzato senza l'aggiunta di ulteriori supplementi. Tuttavia, se si sospetta la presenza di *Mycobacterium haemophilum* in un campione, integrare il terreno con citrato di ammonio ferrico o emina. La micobactina J è necessaria per la crescita di *M. genavense*. Consultare la bibliografia per le specifiche esigenze nutritive delle *Mycobacterium* spp.⁷

Procedura del test

Prima di inoculare il terreno, i campioni contenenti flora normale devono essere pretrattati (digeriti e decontaminati) secondo le procedure previste. Si consiglia di usare una soluzione di N-acetil-L-cisteina (NALC) o eventualmente ricorrere alla procedura SDS (laurilsolfato). I campioni prelevati da siti corporei normalmente sterili possono essere inoculati senza previa digestione e decontaminazione. Consultare le relative voci della bibliografia.^{3,4,7}

Inoculare ogni fiala di **BD Kirchner Medium with PACT** con 0,2 – 0,5 mL del campione concentrato mediante centrifugazione. Usare eventualmente volumi maggiori per i campioni liquidi con una densità di organismi presumibilmente bassa, come le urine.^{4,7}

Per isolare i *Mycobacterium* in condizioni ottimali, utilizzare una combinazione di terreni solidi e liquidi.

Incubare il terreno inoculato a 35 – 37 °C per non più di 8 settimane. Le provette vengono lette una volta alla settimana.

Mycobacterium haemophilum, *M. marinum*, *M. ulcerans* e *M. chelonae* richiedono l'incubazione a 28 – 30 °C.^{4,7}

Risultati

Nei terreni liquidi, numerosi micobatteri evidenziano una crescita granulare invece di una torbidità omogenea. La crescita deve essere sottoposta ad esame microscopico e a colorazione differenziale per i micobatteri.^{4,7} Eseguire le subcolture su terreni solidi adatti per analizzare la purezza della coltura e utilizzare la crescita per ulteriori test differenziali.

Per la differenziazione e l'identificazione degli organismi isolati sono necessari ulteriori test. Consultare la bibliografia.^{4,8,9}

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD Kirchner Medium with PACT è un terreno selettivo liquido per l'isolamento di micobatteri, incluso *Mycobacterium tuberculosis*, da campioni clinici.^{3,4}

I campioni contenenti flora normale devono essere digeriti e decontaminati prima di inoculare il terreno (v. **Procedura del test**).

Per una diagnosi ottimale della tubercolosi è necessario utilizzare contemporaneamente diversi tipi di terreni.^{3,4,8,9}

Alcuni micobatteri richiedono l'aggiunta di supplementi al terreno e l'incubazione a 28 – 30 °C. Consultare **Preparazione dei reagenti, Procedura del test** e la bibliografia.^{4,7}

BIBLIOGRAFIA

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. 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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Kirchner Medium with PACT - Terreno in flacone pronto all'uso

N. di cat. 257179 50 fiale 10 mL in fiala da 28 mL con tappo a vite

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



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