

QUALITÄTSKONTROLLVERFAHREN

I EINFÜHRUNG

CTA Medium (Cystine **Trypticase** Agar Medium) ist ein einfaches basisches Medium für den Erhalt und den Nachweis der Motilität bei einer Vielzahl von Mikroorganismen. Unter Zugabe von Kohlenhydraten ist **CTA Medium** für den Nachweis von Fermentierungsreaktionen geeignet.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a. Verschlusskappen lösen und die Medien ca. 5 min im kochenden Wasserbad* abkochen. Verschlusskappen wieder festdrehen und vor der Verwendung abkühlen.
 ***HINWEIS:** Die Verwendung von Mikrowellengeräten wird nicht empfohlen.
 - b. Die Röhrrchen mit einer Inokulationskanüle inokulieren. Dabei die Kanüle in die Mitte der Mediumssäule bis ca. zur Hälfte der Gesamttiefe des Mediums einstechen. Für die *Neisseria*-Kulturen eine kalibrierte 0,01-mL-Öse verwenden und die Oberfläche des Mediums mit drei oder vier Kolonien von einer 24- bis 48-Stunden-Schokoladen-II-Agarplatte inokulieren. Für die anderen Testkulturen 10-1-Verdünnungen von 18- bis 24-Stunden-Kulturen auf **Trypticase** Soy Broth verwenden.
 - c. Die Röhrrchen bei 35 ± 2 °C inkubieren. Die *Neisseria*-Kultur mit geschlossener Verschlusskappe inkubieren. Den Rest mit gelösten Verschlusskappen in einer aeroben Atmosphäre inkubieren.
2. Röhrrchen nach 18 bis 24 und nach 42 bis 48 Stunden auf Wachstum und Reaktionen überprüfen.
3. Zu erwartende Ergebnisse

Die Kulturen der in der nachstehenden Tabelle aufgeführten Organismen werden für die Leistungskontrolle von CTA Medium, das verschiedene Kohlenhydrate enthält, empfohlen. Die Endfarben müssen mit der Farbe des jeweiligen nicht-inokulierten Mediums verglichen werden.

Organismus	ATCC	Basismedium*	Dextrose	Lactose	Maltose
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	ATCC 10700		K		
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 19115	MK			
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC 19424		A	K	K
<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC 13090				A
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923			A	
<i>Neisseria lactamica</i>	ATCC 23970			A	

A = Säure (gelb); K = keine Reaktion (von rot zu rötlichem Orangeton); M = motile

* Das Basismedium enthält kein Kohlenhydrat. Es wird mit einbezogen, um Systemfehler wie die Verschleppung von Kohlenhydraten aus einem primären Isolierungsmedium anzuzeigen.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Röhrrchen wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben begutachten.
2. Die repräsentativen Röhrrchen auf sichtbare Beschädigungen prüfen, durch die ihre Verwendung beeinträchtigt werden könnte.
3. Den pH-Wert photometrisch bei Raumtemperatur bestimmen. Er sollte bei $7,6 \pm 0,2$ liegen (bei Lactose $7,3 \pm 0,2$).
4. Nicht inokulierte repräsentative Röhrrchen bei 20 bis 25 °C und 30 bis 35 °C inkubieren und nach 7 Tagen auf mikrobielle Kontamination untersuchen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

CTA Medium ist ein Kulturmedium für den Erhalt von Mikroorganismen. Es wird zudem für den Nachweis von bakterieller Motilität und, bei Zugabe von Kohlenhydraten, für Fermentierungsreaktionen anspruchsvoller Mikroorganismen, wie beispielsweise *Neisseria*, Pneumokokken, Streptokokken und keine Sporen bildende Anaerobiker, verwendet.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

CTA Medium wurde von Vera als einfaches Medium für den Nachweis und den Erhalt von Gonokokkus und anderen Bakterien entwickelt.¹

CTA Medium ohne Kohlenhydrate kann für den Erhalt von Kulturen, einschließlich anspruchsvoller Organismen, über einen längeren Zeitraum hinweg verwendet werden, wenn diese bei entsprechender Temperatur aufbewahrt werden.

CTA Medium mit dem entsprechenden Kohlenhydrat wird für den Nachweis anspruchsvoller Organismen anhand von Fermentierungsreaktionen empfohlen. Auf halbfestem Agar lassen sich Säurereaktionen schnell nachweisen, da die gebildete Säure nicht sofort durch die ganze Kultur diffundiert. Wenn kein fermentierbares Kohlenhydrat vorhanden ist, zeigen die meisten Kulturen eine alkalische Schicht.

Die Motilität lässt sich leicht in dem halbfesten Medium nachweisen.² Die Einstichkulturen zeigen Wachstum außerhalb der Inokulationslinie. Nichtmotile Organismen wachsen nur im inokulierten Bereich, der umgebende Bereich bleibt frei.

Zur Bestimmung von Fermentierungsreaktionen können **BBL Taxo** Carbohydrate Discs auf einfache Weise nach Bedarf ausgewählt und den Röhrrchen mit einfachem **CTA Medium** hinzugefügt werden.

Bei Klostridien, Bazillen, häufig vorkommenden Mikrokokken, Enterobazillen und anderen, nicht allgemein als nutritiv anspruchsvoll angesehenen Organismen wird die Verwendung von **Trypticase** Agar Base statt CTA Medium empfohlen.

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

CTA Medium enthält Cystin und Caseinpepton zur Lieferung der zur Wachstumsförderung der anspruchsvollen Mikroorganismen erforderlichen Nährstoffe.

Eine Kohlenhydratfermentierung lässt sich durch eine sichtbare Farbveränderung des Mediums durch die Aufnahme der pH-Indikatorfarbe, Phenolrot, erkennen. Wenn das vorhandene Kohlenhydrat vom Organismus metabolisiert wird, werden organische Säuren gebildet und das Medium wird angesäuert. Das im Medium vorhandene Pepton hingegen wird durch die vorhandenen Bakterien ebenfalls abgebaut und bildet Substanzen, die einen alkalischen pH aufweisen.

Der Phenolrot-Indikator wechselt von einem rötlichen Orangeton zu gelb, wenn die bei der Kohlenhydratfermentierung gebildete Säuremenge größer ist als das alkalische Endprodukt des Peptonabbaus.³

Die Farbänderung mit Phenolrot erfolgt bei einem pH-Wert von ca. ^{6,8}.

VII REAGENZIEN

CTA Medium

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser

L-Cystin	0,5 g
Pankreatisch abgebautes Casein	20,0 g
Agar	2,5 g
Natriumchlorid	5,0 g
Natriumsulfit	0,5 g
Phenolrot	0,017 g

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

CTA Medium mit Dextrose, Lactose oder Maltose enthält die oben aufgeführten Bestandteile mit 5,0 g des angegebenen Kohlenhydrats pro Liter.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Röhren mit fest sitzenden Verschlusskappen sind vorsichtig zu öffnen, um Verletzungen aufgrund von Glasbruch zu vermeiden.

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen und Anwendung aseptischer Techniken erfolgen. Präparierte Röhren, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Röhren nach Erhalt bei 2 – 8 °C im Dunkeln aufbewahren. Nicht einfrieren oder überhitzen. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen.

Medien in Röhren, die vor Gebrauch gemäß der Anleitung auf dem Etikett gelagert werden, können bis zum Verfallsdatum inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden. Vor Lichteinwirkung schützen.

Haltbarkeit des Produkts

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

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Die Handhabung der für die Kultivierung geeigneten Proben kann auf verschiedene Arten geschehen. Nähere Informationen entnehmen Sie bitte der entsprechenden Literatur.^{4,5} Die Probenentnahme sollte vor der Verabreichung anderer antimikrobieller Mittel erfolgen. Es müssen Vorkehrungen für eine umgehende Einlieferung ins Labor getroffen werden.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

CTA Medium und/oder **CTA Medium** mit Dextrose, Lactose oder Maltose

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Nach Bedarf zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte.

Testverfahren

Aseptische Kautelen beachten.

1. Verschlusskappen lösen und die Medien ca. 5 min im kochenden Wasserbad* abkochen. Verschlusskappen wieder festdrehen und vor der Verwendung abkühlen.
2. Frisches Koloniewachstum von der Oberfläche eines geeigneten Kulturmediums, beispielsweise Schokoladenagar, und nicht von einer selektiven primären Isolationsplatte extrahieren.⁶
3. Bei Fermentierungstests mit Spezies des Genus *Neisseria* wird nur die Oberfläche des Mediums im Röhren inokuliert. Für fakultative Organismen, wie beispielsweise Streptokokken und streng anaerobe Organismen, erfolgt die Inokulation durch einen Einstich mit einer Inokulationskanüle in der Mitte des Mediums bis zu einer Tiefe, die ca. der Hälfte des Mediums entspricht.
4. Für jedes Röhren, das inokuliert werden soll, wiederholen.
5. Bei 35 ± 2 °C mit gelösten Verschlusskappen aerob oder anaerob, je nach zu testendem Organismus, inkubieren. *Neisseria* sollten mit verschlossenen Kappen inokuliert werden,^{3,7} besonders, wenn die Röhren in einem CO₂-Incubator inkubiert werden müssen,^{8,9} bzw. mit gelösten Kappen, wenn sie in einem Inkubator ohne CO₂-Inkubation inkubiert werden müssen.^{10,11} In regelmäßigen Abständen bis zu 24 Stunden lang auf Wachstum (Trübung), Anzeichen von Motilität und Säurebildung (gelbe Farbe in der oberen Mediumsschicht) untersuchen. Bei einigen wenigen Stämmen ist ggf. eine Inkubation von bis zu 48 bis 72 Stunden erforderlich.¹²
6. Viele anspruchsvolle Organismen, einschließlich *Neisseria*, *Pasteurella*, Streptokokken, *Brucella*, Corynebakterien und *Vibrios* lassen sich einfach in **CTA Medium** kultivieren, ohne dass eine Zugabe von Kohlendioxid, Serum oder anderen Anreicherungen erforderlich ist.

7. Um ein schnelleres Wachstum und auch schnellere Fermentierungsreaktionen zu erhalten, sollten anaerobe Kulturen vorzugsweise in Gegenwart von Kohlendioxid und Wasserstoff oder Stickstoff inkubiert werden. Einige obligate Anaerobier wachsen nicht oder nur schlecht ohne Kohlendioxid.

***HINWEIS:** Die Verwendung von Mikrowellengeräten wird nicht empfohlen.

Qualitätssicherung durch den Anwender: Siehe „Qualitätskontrollverfahren“.

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder der Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie den Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Es wird empfohlen, die korrekten Qualitätskontrollverfahren den geltenden CLSI-Richtlinien und CLIA-Bestimmungen zu entnehmen.

X ERGEBNISSE

Eine gelbe Farbe entweder im oberen Drittel oder im gesamten Medium zeigt eine Säurebildung, d.h. die Fermentierung des Kohlenhydrats, an. Eine rote (alkalische) bis orange (neutrale) Farbe zeigt an, dass das Kohlenhydrat nicht abgebaut wurde und dass nur das Pepton verwertet wurde. Inokuliertes einfaches CTA Medium (ohne Kohlenhydrate) zeigt zudem eine rote bis orangefarbene Farbe. Motile Organismen zeigen Wachstum außerhalb der Einstich-/Inokulationslinie. Nichtmotile Organismen wachsen nur entlang der Einstichlinie, das umgebende Agar bleibt frei.

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Zur Identifizierung müssen die Organismen in Reinkultur vorhanden sein. Morphologische, biochemische und/oder serologische Tests sollten für die endgültige Identifizierung durchgeführt werden. Für umfassende Informationen und die empfohlenen Verfahren in der entsprechenden Literatur nachschlagen.^{4,5,13}

XII LEISTUNGSMERKMALE

Pizzuto und Washington verglichen drei Verfahren zur Identifizierung von *Neisseria*: Einen modifizierten schnellen Fermentierungstest; das **BACTEC Neisseria Differentiation Kit** und die CT Medium-Methode. Die 156 getesteten klinischen Isolate bestanden aus 101 Stämmen *N. gonorrhoeae*, 45 Stämmen *N. meningitidis*, 4 Stämmen *N. lactamica*, 2 Stämmen *N. subflava*, 1 Stamm *N. sicca*, 2 Stämmen *Branhamella catarrhalis* und 1 Stamm CDC, Gruppe II F. Obgleich die CTA-Methode eine Inkubation von bis zu 48 Stunden erfordert, lieferte sie mit einem Nachweis von 96 % der Gonokokken und 100 % der anderen *Neisseria*-Spezies den genauesten Nachweis.¹⁴

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

221631	BD BBL CTA Medium , 8 mL, Packung mit 10 Röhrchen der Größe K
221632	BD BBL CTA Medium , 8 mL, Karton mit 100 Röhrchen der Größe K
221633	BD BBL CTA Medium with Dextrose, Packung mit 10 Röhrchen der Größe K
221634	BD BBL CTA Medium with Dextrose, Karton mit 100 Röhrchen der Größe K
221635	BD BBL CTA Medium with Lactose, Packung mit 10 Röhrchen der Größe K
221637	BD BBL CTA Medium with Maltose, Packung mit 10 Röhrchen der Größe K

XIV LITERATUR

1. Vera, H.D. 1948. A simple medium for identification and maintenance of the gonococcus and other bacteria. *J. Bacteriol.* 55:531-536.
2. Vera, H.D., and E.I. Petran. 1954. Basic procedures in diagnostic bacteriology with particular reference to the small laboratory. *Bull. Nat. Assoc. Clin. Labs.* 5:90-95.
3. MacFaddin, J.F. 2000. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
6. Morello, J.A., W.M. Janda, and G.V. Doern. 1991. *Neisseria and Branhamella*, p. 258-276. In A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Kellogg, D.S., Jr. 1974. *Neisseria gonorrhoeae (gonococcus)*, p. 124-129. In E.H. Lennette, E.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Yu, P.K.W., and J.A. Washington II. 1985. Identification of aerobic and facultatively anaerobic bacteria. II. Gram-negative cocci, p.157-164. In J.A. Washington (ed.), *Laboratory procedures in clinical microbiology*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
9. Morse, S.A., and J.S. Knapp. 1987. *Neisserial infections*, p. 407-432. In B.B. Wentworth (ed.), *Diagnostic procedures for bacterial infections*, 7th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
10. Center for Disease Control. 1978. *Laboratory methods in clinical bacteriology*. Center for Disease Control, Atlanta.
11. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
12. Finegold, S.M., and W.J. Martin. 1982. *Bailey and Scott's diagnostic microbiology*, 6th ed. The C.V. Mosby Company, St. Louis.
13. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. *Bergey's Manual of determinative bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
14. Pizzuto, D.J. and J. A. Washington. 1980. Evaluation of rapid carbohydrate degradation tests for identification of pathogenic *Neisseria*. *J. Clin. Microbiol.* 11:394-397.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder www.bd.com/ds.

 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA

 Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD