



BBL CTA Medium
CTA Medium with Dextrose
CTA Medium with Lactose
CTA Medium with Maltose

L007450 • Rev. 09 • Gennaio 2011

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

BBL CTA Medium (terreno Cystine **Trypticase** Agar) è un semplice terreno base per la conservazione e rilevazione di motilità di un'ampia gamma di microrganismi. Addizionato di carboidrati, il terreno è utile per la determinazione di reazioni di fermentazione.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
 - a. Allentare i tappi a vite, far bollire il terreno in un bagnomaria a ebollizione* per circa 2 min, poi serrare i tappi e raffreddare prima dell'uso.
***NOTA:** Si sconsiglia l'uso del forno a microonde.
 - b. Con l'ausilio di un ago da inoculo, inoculare le provette penetrando al centro della colonna di terreno in misura pari a circa la metà della profondità totale del terreno. Per colture di *Neisseria*, inoculare la superficie del terreno con un'ansa calibrata da 0,01 mL utilizzando tre o quattro colonie di una piastra di agar cioccolato II di 24 – 48 h. Per test di altre colture, usare diluizioni 10⁻¹ di colture di 18 – 24 h di **Trypticase** Soy Broth.
 - c. Incubare tutte le provette a 35 ± 2°C. Incubare le colture di *Neisseria* con i tappi completamente avvitati. Incubare le altre provette con i tappi non completamente avvitati in aerobiosi.
2. Esaminare le provette dopo 18 – 24 e 42 – 48 h per verificare la crescita e le reazioni.
3. Risultati attesi

Per controllare la performance di **BBL CTA Medium** contenente i vari carboidrati, si raccomandano le colture dei microrganismi riportati nella tabella seguente. Comparare le colorazioni finali alla colorazione del rispettivo terreno inoculato.

Organismo	Base*	Destrosio	Lattosio	Maltosio
<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 = Acido (giallo); K = nessuna reazione (da rosso ad arancio rossastro); M = motile

* La base non contiene carboidrati ed è inclusa allo scopo di indicare un errore del sistema, come per esempio un residuo di carboidrati da un terreno di isolamento primario.

III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

1. Esaminare le provette come descritto in "Deterioramento del prodotto".
2. Eseguire un esame visivo delle provette rappresentative per garantire che l'eventuale presenza di difetti fisici non interferisca con l'uso.
3. Determinare il pH mediante potenziometria a temperatura ambiente per verificare che rientri nel range specificato di 7,6 ± 0,2 (con lattosio 7,3 ± 0,2).
4. Incubare a 20 – 25 °C e a 30 – 35 °C le provette rappresentative non inoculate ed esaminarle dopo 7 giorni per verificare la contaminazione microbica.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

BBL CTA Medium è un terreno di coltura per la conservazione di microrganismi, che viene usato anche per rilevare la motilità batterica e – con l'aggiunta di carboidrati – le reazioni di fermentazione di microrganismi esigenti, es. *Neisseria*, pneumococchi, streptococchi e anaerobi non sporigeni.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

BBL CTA Medium è stato sviluppato da Vera come un semplice terreno per l'identificazione e la conservazione di gonococchi e altri batteri.¹

Il terreno **BBL CTA Medium** senza carboidrati può essere usato per la conservazione di colture, inclusi microrganismi esigenti, per periodi prolungati, purché conservate a temperature appropriate.

Il terreno **BBL CTA Medium** con il carboidrato appropriato è raccomandato per la differenziazione di microrganismi esigenti mediante reazioni di fermentazione. In agar semisolido, le reazioni acide sono facilmente rilevabili in quanto l'acido formato non si diffonde immediatamente in tutta la coltura. In assenza di carboidrati fermentabili, la maggior parte delle colture evidenzia un viraggio alcalino.

La motilità può essere facilmente rilevata nel terreno semisolido.² Le colture inoculate evidenziano una crescita oltre la linea di inoculo. I microrganismi non motili crescono nell'area inoculata, mentre la zona circostante resta limpida.

Allorché è necessario determinare reazioni di fermentazione, i dischi di carboidrati **BBL Taxo** possono essere agevolmente selezionati e aggiunti alle provette di terreno **BBL CTA Medium** in base alle necessità.

Per clostridia, bacilli, micrococchi comuni, bacilli enterici e altri microrganismi non considerati generalmente esigenti sul piano nutritivo, si raccomanda di usare **Trypticase Agar Base** anziché **BBL CTA Medium**.

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il terreno **BBL CTA Medium** contiene digerito di caseina e cistina allo scopo di fornire le sostanze nutritive necessarie a supportare la crescita di microrganismi esigenti.

La fermentazione dei carboidrati si rileva grazie al viraggio del terreno, reso possibile dall'incorporazione del colorante indicatore di pH, rosso fenolo. La metabolizzazione del carboidrato presente da parte del microrganismo, determina la produzione di acidi organici e l'acidificazione del terreno. Tuttavia, il peptone presente nel terreno viene anch'esso degradato dai batteri presenti e produce sostanze con pH alcalino.

Quando la quantità di acido prodotto dalla fermentazione del carboidrato è maggiore dei prodotti finali alcalini della degradazione del peptone, l'indicatore rosso fenolo vira dal rossiccio-arancio al giallo.³

Il viraggio del rosso fenolo avviene intorno a un pH di 6,8.

VII REAGENTI

BBL CTA Medium

Formula approssimata* per L di acqua purificata

L-cistina	0,5 g
Digerito pancreatico di caseina	20,0 g
Agar	2,5 g
Cloruro di sodio	5,0 g
Solfito di sodio	0,5 g
Rosso fenolo	0,017 g

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

Il terreno **BBL CTA Medium** con destrosio, lattosio o maltosio contiene i suddetti ingredienti con 5,0 g per litro del carboidrato specificato.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Aprire con estrema cautela le provette con i tappi serrati allo scopo di evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.

Durante tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e seguire le precauzioni standard contro i

rischi microbiologici. Dopo l'uso, le provette preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati devono essere sterilizzati in autoclave prima dello smaltimento.

Istruzioni per la conservazione

Al ricevimento, conservare le provette al buio a 2 – 8 °C. Evitare congelamento e surriscaldamento. Aprire soltanto al momento dell'uso. I terreni in provetta conservati come indicato sull'etichetta sino al momento dell'uso, possono essere inoculati fino alla data di scadenza e incubati per i tempi di incubazione raccomandati. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.

Deterioramento del prodotto

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

VIII RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

I campioni idonei per coltura possono essere manipolati con varie tecniche. Per informazioni dettagliate, consultare la documentazione appropriata.^{4,5} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

BBL CTA Medium e/o **BBL CTA Medium** con destrosio, lattosio o maltosio

Materiali necessari ma non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Procedura del test

Adottare tecniche asettiche.

1. Allentare i tappi a vite, far bollire il terreno in un bagnomaria a ebollizione* per circa 2 min, poi serrare i tappi e raffreddare prima dell'uso.
2. Rimuovere la crescita di colonia fresca dalla superficie di un terreno di coltura adatto, es. agar cioccolato, non da una piastra di isolamento primario selettivo.⁶
3. Per test di fermentazione con membri del genere *Neisseria*, si inocula soltanto la superficie del terreno in provetta. Per microrganismi facoltativi, come per esempio streptococchi e microrganismi strettamente anaerobi, servirsi di un ago da inoculo e inoculare penetrando al centro del terreno in misura pari a circa la metà della profondità del terreno.
4. Ripetere questa procedura per ogni provetta da inoculare.
5. Incubare a 35 ± 2 °C, con i tappi non completamente avvitati, in aerobiosi o anaerobiosi a seconda del microrganismo testato; incubare i ceppi di *Neisseria* con i tappi completamente avvitati,^{3,7} soprattutto se le provette devono essere incubate in un incubatore a CO₂,^{8,9} oppure con i tappi non completamente avvitati nel caso di un incubatore non a CO₂.^{10,11} Esaminare le provette a intervalli regolari per un massimo di 24 h per verificare crescita (torbidità), segni di motilità e produzione di acido (colore giallo nello strato superiore del terreno). Alcuni ceppi possono richiedere sino a 48 – 72 h di incubazione.¹²
6. Numerosi microrganismi esigenti, inclusi *Neisseria*, *Pasteurella*, streptococchi, *Brucella*, corinebatteri e vibroni possono essere agevolmente coltivati nel terreno **BBL CTA Medium**, senza aggiunta di anidride carbonica, siero o altri arricchimenti.
7. Per una rilevazione più veloce e per reazioni di fermentazione più rapide, incubare preferibilmente le colture anaerobiche in presenza di anidride carbonica e di idrogeno o azoto. Alcuni microrganismi strettamente anaerobi evidenziano una crescita mediocre o non crescono affatto in assenza di anidride carbonica.

*NOTA: Si sconsiglia l'uso del forno a microonde.

Controllo di qualità a cura dell'utente

Vedere "Procedure di controllo di qualità".

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI in merito.

X RISULTATI

Una colorazione gialla nel terzo superiore o in tutto il terreno indica la produzione di acido, ossia la fermentazione del carboidrato. Un colore da rosso (reazione alcalina) ad arancio (neutra) indica che il carboidrato non è stato degradato e che è stato utilizzato soltanto il peptone. Il terreno **BBL**

CTA Medium non addizionato (senza carboidrati) inoculato evidenzia anch'esso un colore da rosso ad arancio.

I microrganismi motili evidenziano la crescita oltre la linea dell'inoculo. I microrganismi non motili crescono soltanto lungo la linea di inoculo, mentre l'agar circostante resta limpido.

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Ai fini dell'identificazione, i microrganismi devono essere in coltura pura. Per l'identificazione finale, è necessario eseguire test morfologici, biochimici e/o sierologici. Per informazioni dettagliate e procedure raccomandate, consultare la documentazione appropriata.^{4,5,13}

XII PERFORMANCE

Pizzuto e Washington hanno comparato l'uso di tre procedure per l'identificazione di *Neisseria*: una metodica di fermentazione rapida modificata, il kit di differenziazione **BACTEC Neisseria** e la tecnica con terreno CTA. I 156 isolati clinici testati comprendevano: 101 ceppi di *N. gonorrhoeae*, 45 ceppi di *N. meningitidis*, 4 ceppi di *N. lactamica*, 2 ceppi di *N. subflava*, 1 ceppo di *N. sicca*, 2 ceppi di *Branhamella catarrhalis* e 1 ceppo di gruppo II F CDC. Pur richiedendo sino a 48 h di incubazione, la metodica CTA si è complessivamente dimostrata la più accurata, identificando il 96% dei gonococchi e il 100% delle altre *Neisseria* spp.¹⁴

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
221631	BBL CTA Medium , 8 mL, confezione da 10 provette di misura K
221632	BBL CTA Medium , 8 mL, cartone da 100 provette di misura K
221633	BBL CTA Medium con destrosio, confezione da 10 provette di misura K
221634	BBL CTA Medium con destrosio, cartone da 100 provette di misura K
221635	BBL CTA Medium con lattosio, confezione da 10 provette di misura K
221637	BBL CTA Medium con maltosio, confezione da 10 provette di misura K

XIV BIBLIOGRAFIA

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. Tenover, M.A. Tenover, 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.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds



Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection. BD, BD Logo, BACTEC, BBL, CTA Medium, Taxo and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD.