



VERA CTSA MEDIUM

Terreno di coltura in polvere

1-DESTINAZIONE D'USO

Terreno di base di uso generale per le reazioni di fermentazione dei microrganismi, per i test di motilità e per il mantenimento di ceppi microbici.

2- COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglimento IN ACQUA)*

Triptone	20,000 g
L-Cistina	0,500 g
Sodio Cloruro	5,000 g
Sodio solfito	0,500 g
Rosso Fenolo	0,017 g
Agar	2,500 g

* Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

3-DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Vera Cystine Tryptic Semisolid Agar (CTSA) è un terreno semisolido utilizzato per la crescita e il mantenimento di microrganismi patogeni^{1,2} e per i test di motilità³. Quando integrato con carboidrati, viene utilizzato per studiare il metabolismo fermentativo dei batteri^{3,4}. Il triptone fornisce azoto e oligoelementi per la crescita batterica, il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico. Vera⁴ che ha sviluppato il terreno ha riferito che il solfito di sodio e la L-cisteina migliorano la crescita di *N.gonorrhoeae*. Il rosso fenolo è un indicatore di pH: quando il terreno viene preparato con una concentrazione finale di 0,5-1% di carboidrati, la maggior parte dei prodotti finali della sua fermentazione sono acidi organici, che determinano il viraggio di colore dell'indicatore di pH dal rosso al giallo; se il test è negativo si verificherà un attacco catabolico dei peptoni con formazione di ammoniaca, alcalinizzazione del terreno e viraggio del colore del rosso fenolo da rosso-arancio a rosa rossastro. La concentrazione di agar dello 0,25% riduce la diffusione di O₂ nel mezzo e la diffusione della CO₂ prodotta. Pertanto, è consentita la crescita di microrganismi anaerobici. Inoltre, questa bassa concentrazione di agar rende il terreno particolarmente adatto all'uso nei test di motilità.

4-METODO DI PREPARAZIONE

Sospendere 28,5 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione agitando frequentemente e sterilizzare in autoclave a 118°C per 15 minuti. Per preparare il terreno per i test di fermentazione, aggiungere 5-10 g di carboidrati prima dell'autoclave o sciogliere il terreno in 900 mL di acqua, sterilizzare in autoclave e aggiungere in modo asettico 100 mL di soluzione sterile di carboidrati al 5-10%.

5-CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, rosato
Aspetto del terreno in soluzione e in provetta	rosso-arancio, limpido
pH (20-25°C)	7,3 ± 0,2

6-MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Vera CTSA Medium	Terreno di coltura in polvere	4021832	500 g (17,5 L)

7-MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e tamponi sterili, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, beute Erlenmeyer, flaconi, carboidrati, terreni di coltura ausiliari e reagenti per l'identificazione delle colonie.

8-CAMPIONI

Culture pure da terreni solidi generici (ad es. Agar cioccolato).

9-PROCEDURA DELL'ANALISI

Con una colonia fresca preparare un inoculo pesante emulsionato in 0,5 mL di soluzione fisiologica sterile.

Con una pipetta sterile aggiungere 2-3 gocce di sospensione dell'organismo sulla superficie del terreno.

Con la pipetta capillare sterile, bucare più volte il terreno per 1/3 dello spessore.

Incubare in aerobiosi o anaerobiosi a seconda degli organismi da testare a 35-37°C per 48-78 ore

Controllare quotidianamente la crescita (torbidità), la presenza di motilità e la produzione di acido.

10-LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Test positivo, produzione di acido: colore giallo che appare inizialmente in superficie e progredisce solitamente solo nell'area della infissione.

Test negativo: colore da rosso (alcalino) ad arancio (neutro).

Confrontare con la provetta non inoculata.

Gli organismi mobili mostrano una crescita fuori dalla linea di infissione. Gli organismi immobili crescono solo lungo la linea di infissione.

11-CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità

CTSA con glucosio: *N.gonorrhoeae* ATCC 9013: crescita, il terreno vira al giallo dopo incubazione a 35-37°C per 24 ore.





CTSA con glucosio: *B.catharralis* ATCC 8176: crescita, il terreno non vira al giallo dopo incubazione a 35-37°C per 24 ore.

ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

12 -LIMITI DEL METODO

- Per la massima efficienza, il terreno deve essere utilizzato appena preparato o bollito, con i tappi allentati e raffreddato appena prima dell'inoculo.³
- L'aggiunta di più dello 0,5% di carboidrati può richiedere un aggiustamento del pH.³
- CTSA richiede un inoculo pesante.³
- N.gonorrhoeae* può crescere male e con aspetto atipico a causa delle sue esigenze nutritive.³
- L'incubazione prolungata può portare a variazioni dell'indicatore di pH o reazioni anormali di lattosio/saccarosio con alcuni ceppi di *Neisseria*.³
- Neisseria spp.* di solito produce acido solo nella zona dell'inoculo (terzo superiore); se è presente un colore giallo intenso in tutto il mezzo, è un possibile contaminante. In caso di dubbio su una provetta contenente una *Neisseria spp.* Eseguire una colorazione di Gram e un test dell'ossidasi sulla coltura: *Neisseria spp.* È un diplococco, Gram-negativo, a forma di rene, ossidasi positivo.³
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche e morfologiche, devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa.

13 -PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è per controlli microbiologici, è per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- I terreni in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare la scheda di sicurezza.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materiali di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni di sicurezza specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

14-CONSERVAZIONE E VALIDITA'

Conservare a +10°C / +30°C al riparo della luce e dall'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento).

L'utilizzatore è responsabile dei processi di produzione e controllo qualità dei terreni preparati e della validazione della durata di conservazione dei prodotti finiti, in base al tipo (provette/bottiglie) e al metodo di conservazione (temperatura e confezionamento).

15 – BIBLIOGRAFIA

- Alford JA, Wiese EE, Gunter JJ. Heat resistance in *Corynebacterium* and the relationship of the genus to *Microbacterium*. J Bacteriol 1955; 69:516
- Myers RM, Koshy G. Beta-haemolytic streptococci in survey throat cultures in an Indian population. Am J Public Health 1961.; 52:1872
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985
- Vera HD. A simple medium for identification and maintenance of the gonococcus and other bacteria. J. Bacteriol 1948; 55:531-536

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF o REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 Utilizzare entro	 Fabbricante	
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Proteggere dalla luce	 Proteggere dall'umidità

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 1	Aggiornamento del contenuto e del layout	12/2019
Revisione 2	Aggiornamento del contenuto e del layout	05/2022

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

