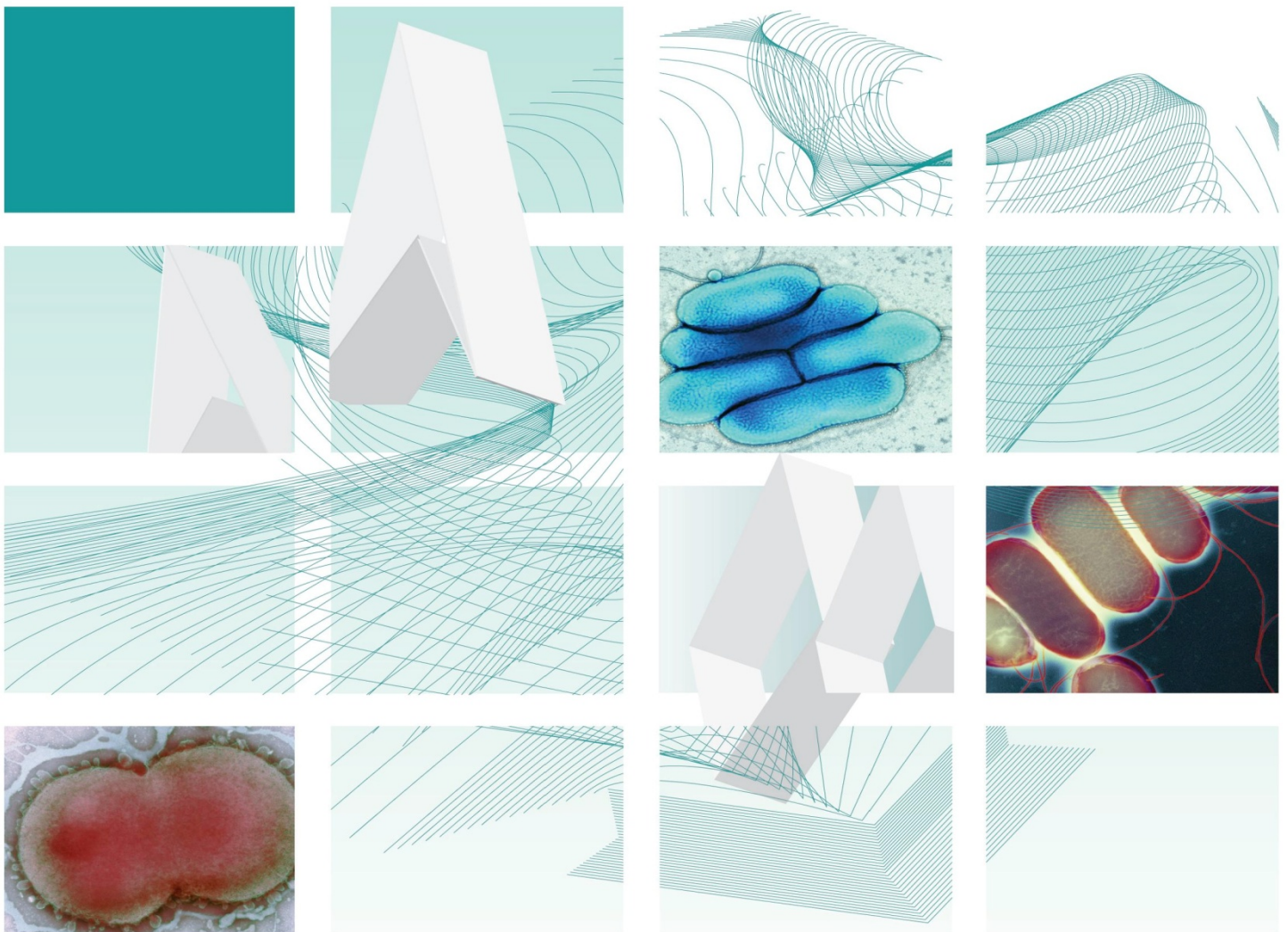




# Ricerche Microbiologiche Standard del Regno Unito

Test dell'Ossidasi

# REVISIONE



## Ringraziamenti

Le Procedure Standard del Regno Unito per le Ricerche Microbiologiche (SMI - Standards for Microbiology Investigations) sono sviluppate sotto l'egida della Public Health England (PHE) in collaborazione con il Servizio Sanitario Nazionale (NHS - National Health Service), la Sanità Pubblica del Galles e con le organizzazioni professionali i cui loghi sono di seguito elencati sul sito web <http://www.hpa.org.uk/SMI/Partnerships>. Le SMI sono sviluppate, revisionate e controllate da diversi gruppi di lavoro che sono supervisionati da un comitato direttivo (consultare <http://www.hpa.org.uk/SMI/WorkingGroups>).

Si ringraziano per contributi forniti i numerosi operatori dei laboratori clinici, gli specialisti e i laboratori di riferimento che hanno fornito informazioni e commenti durante lo sviluppo di questo documento. Si ringraziano i Revisori Medici per le modifiche apportate ai contenuti clinici.

Per ulteriori informazioni contattare:

Standards Unit  
Microbiology Services  
Public Health England  
61 Colindale Avenue  
London NW9 5EQ

E-mail: [standards@phe.gov.uk](mailto:standards@phe.gov.uk)

Website: <http://www.hpa.org.uk/SMI>

Le Procedure Standard del Regno Unito per le Ricerche Microbiologiche sono sviluppate con la collaborazione di:



## Contenuti

---

RINGRAZIAMENTI.....	2
CONTENUTI .....	3
TABELLA MODIFICHE .....	4
RICERCHE MICROBIOLOGICHE STANDARD DEL REGNO UNITO: SCOPO E OBIETTIVO.....	5
SCOPO DEL DOCUMENTO .....	8
INTRODUZIONE.....	8
INFORMAZIONE TECNICA/LIMITAZIONI.....	8
1 <b>CONSIDERAZIONI SULLA SICUREZZA</b> .....	9
2 <b>REAGENTI E STRUMENTAZIONE</b> .....	9
3 <b>MICRORGANISMI PER CONTROLLO DI QUALITA'</b> .....	9
4 <b>PROCEDURA E RISULTATI</b> .....	9
APPENDICE: TEST DELL'OSSIDASI .....	11
BIBLIOGRAFIA .....	12



NICE ha accreditato la procedura usata dalla Public Health England per elaborare gli Standards for Microbiology Investigations. L'accreditamento è valido per 5 anni dal Luglio 2011. Informazioni più dettagliate sull'accreditamento possono essere consultate: [www.nice.org.uk/accreditation](http://www.nice.org.uk/accreditation).

Per ulteriori informazioni sul nostro accreditamento consultare: : [www.nice.org.uk/accreditation](http://www.nice.org.uk/accreditation)

## Tabella delle Modifiche

Ciascun metodo SMI possiede una registrazione separata delle correzioni. Quelle attuali sono specificate in questa pagina. Le precedenti modifiche sono disponibili presso la [standards@phe.gov.uk](mailto:standards@phe.gov.uk).

I documenti nuovi o revisionati devono essere controllati in ciascun laboratorio in accordo con il sistema locale di gestione della qualità.

Modifica No/Data.	5/14.03,14
Emissione eliminata. no	2.2
Emissione inserita no.	2.3
<b>Sezione(i) interessate/Pagina no.</b>	<b>Modifica.</b>
Documento intero .	<p>Il documento è stato inserito in un nuovo formato che evidenzia il passaggio della Health Protection Agency alla Public Health England.</p> <p>Prima pagina ridisegnata.</p> <p>Rinominata la pagina di "Stato come Scopo" e Obiettivo ed aggiornata in modo appropriato.</p> <p>I loghi delle organizzazioni professionali sono stati revisionati ed aggiornati.</p> <p>Revisionati e aggiornati Standard di sicurezza e referenti delle denunce</p> <p>Il contenuto scientifico rimane invariato.</p>

Modifica No/Data.	4/21.10.11
Emissione eliminata. no	2.1
Emissione inserita no.	2.2
<b>Sezione(i) interessate.</b>	<b>Modifica.</b>
Intero documento	Documento presentato in nuovo formato.
Bibliografia	Bibliografia In parte aggiornata.

# Ricerche Microbiologiche Standard del Regno Unito<sup>#</sup>: Scopo e Obiettivo

## Utilizzatori delle SMI

- Nel Regno Unito le SMI sono principalmente destinate come risorsa generale ai professionisti che operano nel campo della medicina di laboratorio e delle malattie infettive.
- Le SMI forniscono ai clinici informazioni in merito allo standard dei servizi di laboratorio riferibili alle ricerche per la diagnosi delle infezioni nei loro pazienti e le documentazioni forniscono indicazioni che facilitano la prenotazione elettronica di tests appropriati da parte dei reparti ospedalieri.
- Le SMI forniscono gli standard per le ricerche microbiologiche anche ai responsabili della sanità pubblica che devono considerarle come parte delle procedure da adottare per la salute (sia clinica che pubblica) per la propria popolazione.

## Informazioni di Base per le SMI

Le SMI comprendono algoritmi e procedure raccomandate che riguardano tutte le componenti del processo diagnostico dalla fase pre-analitica (sindrome clinica) alle diverse fasi analitiche (prove di laboratorio) e post-analitiche (interpretazione e comunicazione dei risultati).

Gli algoritmi delle sindromi sono corredati da informazioni più dettagliate contenenti consigli sulle indagini per specifiche malattie e infezioni. Note orientative riguardano il contesto clinico, la diagnosi differenziale e indagini appropriate per particolari condizioni cliniche. Le note orientative descrivono metodologie di laboratorio essenziali che sono alla base della qualità, ad esempio la validazione della prova, la garanzia della qualità, la definizione dell'incertezza della determinazione.

La Standardizzazione del processo diagnostico conseguente all'adozione delle SMI consente di garantire in tutto il Regno Unito strategie d'indagine equivalenti nei diversi laboratori ed è una condizione essenziale per interventi nel campo della sanità pubblica, della sorveglianza, e per le attività di ricerca e di sviluppo. Nel Regno Unito le SMI rappresentano strategie omogenee per le prove diagnostiche e la programmazione degli interventi di sanità pubblica

## Collaborazione Paritaria

La preparazione e stesura delle SMI è effettuata mediante collaborazione paritaria fra PHE, NHS, Royal College of Pathologists e le organizzazioni professionali.

L'elenco delle organizzazioni partecipanti può essere trovato su sito

<http://www.hpa.org.uk/SMI/Partnerships>

L'inclusione del logo di una organizzazione in una SMI implica il sostegno degli obiettivi e del processo di preparazione del documento. I rappresentanti delle organizzazioni professionali fanno parte del comitato direttivo e dei Gruppi di Lavoro che sviluppano le SMI. Le opinioni dei rappresentanti possono non essere rigorosamente conformi a quelle dei membri delle organizzazioni a cui appartengono né a quelle delle loro organizzazioni. I rappresentanti prescelti rappresentano uno strumento bidirezionale per la consultazione e dialogo. Le opinioni espresse sono ricercate con un processo di consultazione.

Le SMI sono sviluppate, revisionate ed aggiornate con un ampio processo di consultazione

---

<sup>#</sup> Microbiologia è usato come termine generico per includere le due specialità di Microbiologia Medica riconosciute dal GMC (General Medical Council), (che comprende Batteriologia, Micologia e Parassitologia) e la Virologia Medica.

## Assicurazione di Qualità

Il NICE (National Institute for Health and Care Excellence) ha accreditato la procedura utilizzata dai Gruppi di Lavoro per produrre le SMI. L'accREDITAMENTO è applicabile a tutte le linee guida prodotte dall'Ottobre del 2009. La procedura per lo sviluppo delle SMI è certificata dalla ISO 9001:2008.

Le SMI rappresentano una procedura standard di buona qualità pratica alla quale si devono attenere per la propria attività tutti i laboratori di microbiologia clinica e di sanità pubblica del Regno Unito. Le SMI sono accreditate dal NICE e non rappresentano gli standard minimi di attività, e neppure il più alto livello di complesse indagini di laboratorio disponibili nel Regno Unito. Utilizzando le SMI, i laboratori dovranno tenere conto delle esigenze locali e intraprendere ricerche addizionali qualora opportune. Le SMI aiutano i laboratori a soddisfare i requisiti dell'accREDITAMENTO con la promozione di procedure d'elevata qualità che possono essere verificate. Le SMI forniscono inoltre un punto di riferimento per lo sviluppo del metodo. Queste stesse devono essere utilizzate in associazioni con altre SMI.

Le prestazioni della SMI dipendono dal personale ben addestrato e dalla qualità dei reagenti e delle attrezzature utilizzate. I laboratori dovrebbero assicurare che tutti i reagenti di tipo commerciale e quelli messi a punto in laboratorio siano stati validati e risultati idonei allo scopo. I laboratori devono partecipare a programmi di valutazione di qualità esterni ed eseguire le relative procedure del controllo di qualità interno.

## Coinvolgimento del Paziente e della Comunità

Nello sviluppo delle SMI i rispettivi Gruppi di Lavoro sono impegnati per favorire il coinvolgimento dei pazienti e dell'opinione pubblica. Grazie al coinvolgimento pubblico, di operatori sanitari, ricercatori e organizzazioni di volontariato la SMI risultante sarà strutturalmente valida e atta a soddisfare le esigenze dell'utente. L'opportunità di partecipazione per contribuire alla consultazione è estesa al pubblico con l'accesso libero al nostro sito web

## Informazione della Gestione e dei Dati Sensibili

La PHE è un'organizzazione che condivide le direttive Caldicott. Ciò significa prendere ogni possibile precauzione per prevenire la diffusione non autorizzata di informazioni sui pazienti e di garantire che le informazioni relative agli stessi siano mantenute in condizioni di sicurezza.

Lo sviluppo di metodi SMI è assoggettato agli obiettivi PHE di Uguaglianza [http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb\\_C/1317133470313](http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1317133470313). I Gruppi di Lavoro SMI sono impegnati a raggiungere gli obiettivi di parità di consultazione efficace con gli appartenenti al pubblico, i partner, le parti interessate ed i gruppi specialistici coinvolti.

## Dichiarazione Legale

Mentre ogni cura è stata intrapresa per la preparazione delle SMI, PHE e ogni altra organizzazione di sostegno, deve, per quanto possibile in base a qualunque legge vigente, escludere la responsabilità per tutte le perdite, costi, reclami, danni o spese derivanti da o connessi all'uso di una SMI o con qualsiasi informazione ivi contenuta. Se si apportano modifiche a una SMI, si deve porre in evidenza dove e da chi sono state effettuate tali modifiche.

Le conoscenze di base e la tassonomia microbica per la SMI sono le più complete possibili, al momento della pubblicazione. Eventuali omissioni e nuove informazioni saranno considerate nel corso della prossima revisione. Queste procedure standard (SMI) possono essere sostituite solo da revisioni dello standard, azione legislativa, o in seguito ad indicazioni da parte dell'ente accreditato NICE.

I diritti d'autore delle SMI sono della "Crown" e questi dovrebbero essere riconosciuti quando appropriato.

## Citazione Suggestita per questo Documento

Public Health England. (2014). Oxidase Test. UK Standards for Microbiology Investigations. TP 26  
Emissione 2.3. <http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>.

**IN REVISIONE**

## Scopo del Documento

---

Il test ossidasi è utilizzato per determinare se un microrganismo possiede l'enzima citocromo ossidasi. Il test usato come aiuto per la differenziazione di *Neisseria*, *Moraxella*, specie *Campylobacter* e *Pasteurella* (ossidasi-positiva). E' pure utilizzato per differenziare pseudomonadi da specie affini.

Questa SMI deve essere usata congiuntamente con le altre SMI

## Introduzione<sup>1-4</sup>

---

I batteri ossidasi positivi possiedono citocromo ossidasi o indofenolo ossidasi (un emoproteina contenente ferro)<sup>3</sup>. Entrambe le molecole catalizzano il trasporto di elettroni da composti donatori (NADH) ad accettori di elettroni (di solito ossigeno).

Il reagente, *N, N, N', N'-tetra-metil-p-fenilendiammina dicloridrato* funge da accettore artificiale di elettroni per l'enzima ossidasi. Il reagente ossidato forma un colore composto blu indofenolo.

Il sistema citocromo è solitamente presente solo nei microrganismi aerobi capaci di utilizzare l'ossigeno come recettore finale dell'idrogeno. Il prodotto finale di questo metabolismo è o acqua o perossido di idrogeno (scissa dalla catalasi)<sup>5</sup>.

## Informazioni Tecniche / Limitazioni

---

Il test non deve essere eseguito su colture da terreni contenenti tellurito e carboidrati fermentabili perché questi composti potrebbero impedire che si realizzi la reazione<sup>4</sup>.

I risultati di vecchie colture non sono affidabili<sup>1</sup>.

Non utilizzare anse o fili di nichelcromo. Si possono manifestare reazioni falsamente positive causate da prodotti di ossidazione di superficie formati durante la sterilizzazione alla fiamma<sup>3</sup>.

Alcune specie *Pseudomonas* sono ossidasi-negativi.



## 1 Considerazioni sulla Sicurezza<sup>6-22</sup>

---

Fare riferimento alle attuali linee guida sulla manipolazione sicura di tutti i microrganismi descritti in questa SMI.

Tutte le procedure che possono generare aerosol devono essere eseguite in cabina microbiologica di sicurezza.

Le linee guida precedentemente esplicitate devono essere supplementate con la COSHH locale e con la valutazione del rischio.

E' essenziale la conformità alle normative postali e dei trasporti.

## Reagenti e Strumentazione<sup>1,23</sup>

---

Colonie batteriche isolate cresciute su terreno solido.

1% di *N, N, N', N'-tetra-metil-p-fenilendiammina dicloridrato* in acqua distillata o strisce impregnate per l'esecuzione del test dell'ossidasi<sup>5</sup>.

La soluzione di test si auto-ossida rapidamente – utilizzarne una nuova soluzione o aggiungere acido ascorbico 1% per ritardare il decadimento. Non utilizzare se la soluzione è di colore blu. Controllare ogni soluzione del test.

Ansa batteriologica con filo metallico dritto/ansa o, in alternativa, ansa monouso.

Sono disponibili preparazioni commerciali.

Filtro di carta.

## 3 Microrganismi per Controllo di Qualità

---

### Controllo positivo

*Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10662

### Controllo Negativo

*Escherichia coli* NCTC 10418.

## 4 Procedura e Risultati

---

### 4.1 Metodo Carta da Filtro

- Immergere un pezzo di carta da filtro nella soluzione reagente.
- Raccogliere parte di crescita microbica recente dalla piastra di coltura con un ansa o bastoncino monouso e strofinare sulla carta da filtro o toccare una colonia con il bordo della carta da filtro.
- Esaminare per comparsa di colore blu entro 10 s.

### 4.2 Metodo Diretto in Piastra (da non usare su colonie per sottocoltura)

- Aggiungere 2 gocce di reagente a colonie sospette della piastra di agar. Non sommergere la piastra.
- Esaminare per comparsa di colore blu entro 10 s.

**Nota:** Il metodo diretto piastra deve essere eseguito su piastra di agar non selettiva.

### 4.3 Metodo Tampone

- Immergere il tampone nel reagente e poi toccare la colonia.
- Esaminare per comparsa di colore blu entro 10 s.

### 4.4 Metodo Striscia Imbevuta di Ossidasi

- Raschiare dalla piastra di coltura con ansa o bastoncino monouso, parte di una crescita recente e strofinare sulla carta da filtro.
- Esaminare per comparsa di colore blu entro 10 s.

#### Per tutti i metodi

#### Risultato positivo

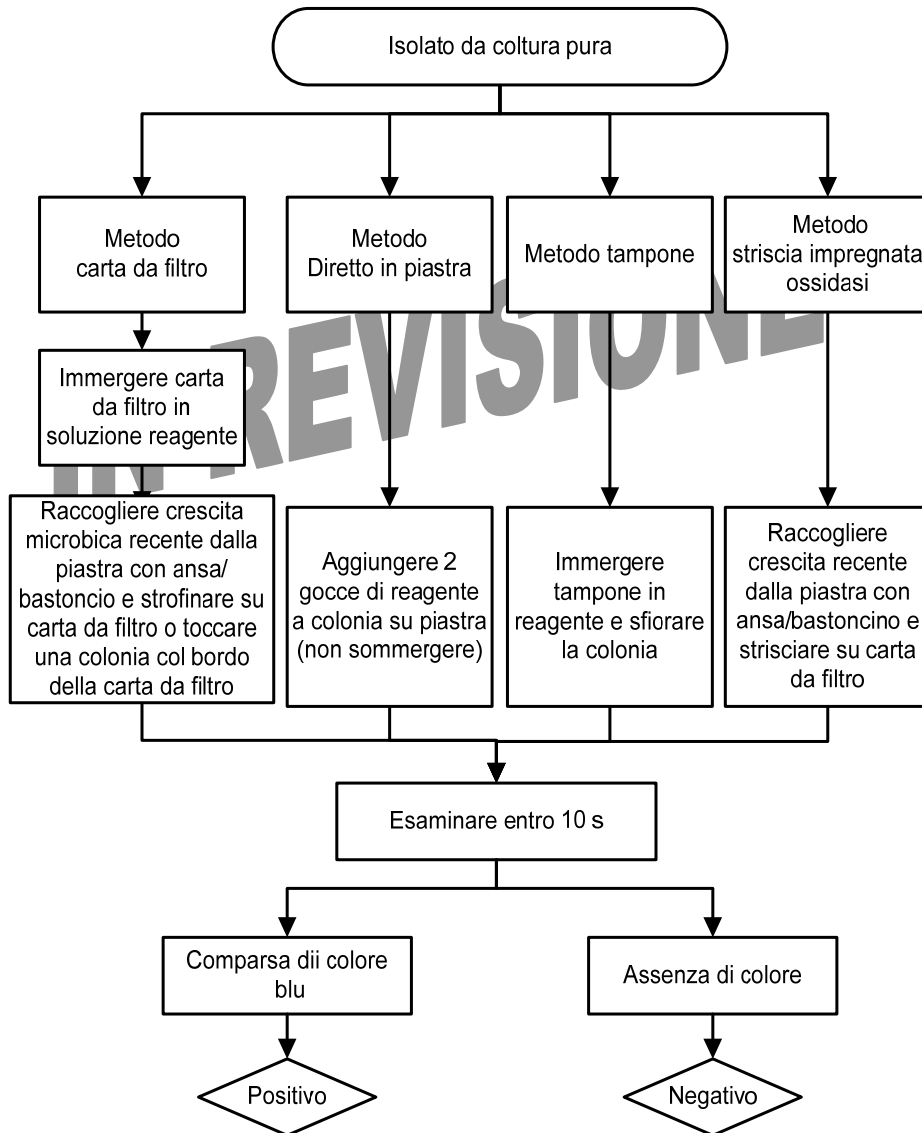
Sviluppo di un colore blu indica la produzione di ossidasi.

#### Risultato negativo

Non sviluppo di colore blu

IN REVISIONE

## Appendice: Test dell'Ossidasi – Diagramma di Flusso



**Nota**

Controllo positivo : *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 10662  
 Controllo negativo : *Escherichia coli* NCTC 10418

Il Diagramma di Flusso è solo indicativo

## Bibliografia

---

1. Barrow GI, Feltham RKA, editors. Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1993. p. 214-8.
2. MacFaddin JF, editor. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2000. p. 451-3.
3. Isenberg HD, editor. Clinical Microbiology Procedures Handbook. American Society for Microbiology; 2004. p. 3.3.2-3.3.2.13.
4. Collins CH, Lyne PM, Grange JM, Falkinham JO. Identification methods. In: Collins CH, Lyne PM, Grange JM, Falkinham JO, editors. Collins and Lyne's Microbiological Methods. 8th ed. Arnold; 2004. p. 99.
5. MacFaddin JF. Optochin Disk Test. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2000. p. 363-7.
6. European Parliament. UK Standards for Microbiology Investigations (SMIs) use the term "CE marked leak proof container" to describe containers bearing the CE marking used for the collection and transport of clinical specimens. The requirements for specimen containers are given in the EU *in vitro* Diagnostic Medical Devices Directive (98/79/EC Annex 1 B 2.1) which states: "The design must allow easy handling and, where necessary, reduce as far as possible contamination of, and leakage from, the device during use and, in the case of specimen receptacles, the risk of contamination of the specimen. The manufacturing processes must be appropriate for these purposes".
7. Official Journal of the European Communities. Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on *in vitro* diagnostic medical devices. 7-12-1998. p. 1-37.
8. Health and Safety Executive. Safe use of pneumatic air tube transport systems for pathology specimens. 9/99.
9. Department for transport. Transport of Infectious Substances, 2011 Revision 5. 2011.
10. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014. 2012.
11. Home Office. Anti-terrorism, Crime and Security Act. 2001 (as amended).
12. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. The Approved List of Biological Agents. Health and Safety Executive. 2013. p. 1-32.
13. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Infections at work: Controlling the risks. Her Majesty's Stationery Office. 2003.
14. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological agents: Managing the risks in laboratories and healthcare premises. Health and Safety Executive. 2005.
15. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological Agents: Managing the Risks in Laboratories and Healthcare Premises. Appendix 1.2 Transport of Infectious Substances - Revision. Health and Safety Executive. 2008.
16. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. MMWR Surveill Summ 2012;61:1-102.
17. Health and Safety Executive. Control of Substances Hazardous to Health Regulations. The Control of Substances Hazardous to Health Regulations 2002. 5th ed. HSE Books; 2002.

18. Health and Safety Executive. Five Steps to Risk Assessment: A Step by Step Guide to a Safer and Healthier Workplace. HSE Books. 2002.
19. Health and Safety Executive. A Guide to Risk Assessment Requirements: Common Provisions in Health and Safety Law. HSE Books. 2002.
20. Health Services Advisory Committee. Safe Working and the Prevention of Infection in Clinical Laboratories and Similar Facilities. HSE Books. 2003.
21. British Standards Institution (BSI). BS EN12469 - Biotechnology - performance criteria for microbiological safety cabinets. 2000.
22. British Standards Institution (BSI). BS 5726:2005 - Microbiological safety cabinets. Information to be supplied by the purchaser and to the vendor and to the installer, and siting and use of cabinets. Recommendations and guidance. 24-3-2005. p. 1-14.
23. Snell JJS, Brown DFJ, Roberts C, editors. Quality Assurance Principles and Practice in the Microbiology Laboratory. London: Public Health Laboratory Service; 1999. p. 147-8.