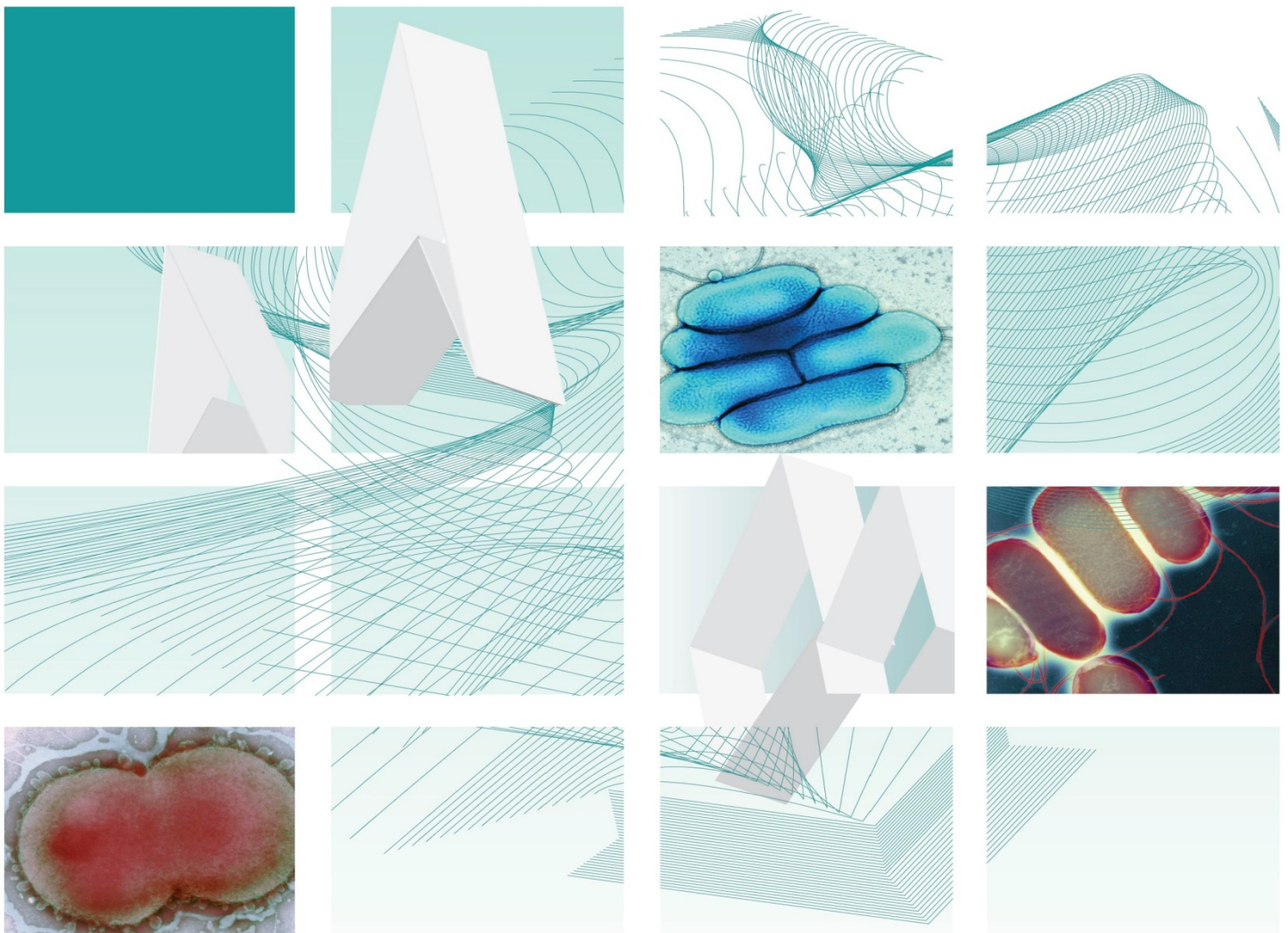




# Ricerche Microbiologiche Standard del Regno Unito

## Test di Ossidazione/Fermentazione del Glucosio



## 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 <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>. Le SMI sono sviluppate, revisionate e controllate da diversi gruppi di lavoro che sono supervisionati da un comitato direttivo (consultare <https://www.gov.uk/government/groups/standards-for-microbiology-investigations-steering-committee>).

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: <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>

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



I loghi sono aggiornati al momento della pubblicazione

## Contenuti

---

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



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.	5/06.01.15
Emissione eliminata. no	2.3
Emissione inserita no.	3
<b>Sezione(i) interessate</b>	<b>Modifica</b>
Documento intero .	Collegamenti ipertestuali aggiornati a gov uk.
Pagina 2	Loghi aggiornati e aggiunti.
Scopo del documento	Lo scopo è stato aggiornato con informazioni e bibliografia.
Introduzione	Questa sezione è stata aggiornata e aggiunta bibliografia.
Informazione Tecnica/Limitazioni	Questa sezione è stata aggiornata e aggiunta bibliografia.
Considerazioni sulla Sicurezza	Bibliografia aggiornate.
Reagenti/Strumentazione	Bibliografia aggiornate.
Microrganismi Controllo di Qualità	I controlli positivi per il cocchi Gram positivi sono stati modificati; <i>Micrococcus luteus</i> NCTC 4351 a <i>Micrococcus luteus</i> NCTC 2665, <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 8532 a <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 6571. Tutti i ceppi NCTC per questo test è stati validati dalla NCTC.
Procedure e risultati	Informazioni e bibliografia aggiornate
Diagramma di flusso	Questo diagramma di flusso è stato aggiornato, aggiunte bibliografia.
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.
- 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 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

## 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 <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>. 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.

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 soggetto agli obiettivi PHE di Uguaglianza

<https://www.gov.uk/government/organisations/public-health-england/about/equality-and-diversity>. 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. (2015). Oxidation/Fermentation of Glucose Test. UK Standards for Microbiology Investigations. TP 27 Emissione 3. <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>

Traduzione a cura di Roberto Rescaldani, già primario del Laboratorio di Microbiologia e Virologia A.O. San Gerardo dei Tintori - Monza.

I testi originali e le traduzioni sono disponibili sul Web APSI - [www.apsi.it](http://www.apsi.it) - Webmaster Sergio Malandrin, Dirigente di primo livello del Laboratorio di Microbiologia e Virologia A.O. San Gerardo dei Tintori di Monza

## Scopo del Documento

---

I batteri utilizzano glucosio e altri carboidrati con diverse vie metaboliche. Alcune sono ossidative, ma altre coinvolgono reazioni fermentative. Il test di ossidazione-fermentazione, noto anche come "oxferm/OG test", è usato per determinare quale via metabolica è utilizzata<sup>1</sup>. La prova è anche utilizzata per distinguere tra le specie, in particolare per i bastoncini Gram negativi, come pure per i generi *Staphylococcus* e *Micrococcus*.

Questa SMI deve essere usata congiuntamente con le altre SMI

## Introduzione

---

Il test di ossidazione-fermentazione è utilizzato per determinare se i batteri metabolizzano i carboidrati mediante ossidazione, fermentazione, o non sono saccarolitici e quindi non hanno la capacità di utilizzare i carboidrati nei terreni.

I microrganismi ossidativi possono metabolizzare solo il glucosio o altri carboidrati in condizioni aerobiche, cioè l'ossigeno è l'accettore finale dell'idrogeno. Altri organismi fermentano il glucosio e l'accettore di idrogeno è un altro, ad esempio una sostanza contenente zolfo. Il processo fermentativo è indipendente dall'ossigeno e l'atmosfera di coltura dei microrganismi può essere aerobica o anaerobica. Il prodotto terminale dei carboidrati è un acido.

Il metodo descritto, a volte indicato come test di Hugh e Leifson, utilizza un terreno semisolido in provette contenenti il carboidrato in prova (solitamente glucosio) e un indicatore di pH<sup>2</sup>. Si inoculano due provette e una è immediatamente sigillata per produrre la condizione anaerobica. Le *Enterobacteriaceae*, producono una reazione acida in tutto il terreno in entrambe le provette. I batteri che non metabolizzano i carboidrati in condizione aerobica o anaerobica, ad esempio *Alcaligenes faecalis*, producono una reazione alcalina nella provetta aperta e nessun cambiamento in quella chiusa. Il terreno di Hugh e Leifson può essere anche utilizzato per verificare la produzione di gas e la motilità<sup>3</sup>. Stafilococchi e micrococchi sono saggiati con terreno di Baird-Parker modificato<sup>1</sup>.

## Informazioni Tecniche / Limitazioni

---

Tutti i test di identificazione dovrebbero essere eseguiti, ove possibile, da un terreno non selettivo. Se il test è eseguito da agar selettivo, deve essere inclusa una piastra per verificare la purezza del microrganismo.

Se si utilizzano provette con tappo a vite, queste non dovrebbero essere richiuse in modo troppo serrato per consentire scambi aerei<sup>4</sup>.

Alcuni microrganismi non sono in grado di crescere nel terreno di Hugh e Leifson. In questo caso ripetere il test dopo arricchimento di ciascuna provetta con 2% di siero o con 0,1% di estratto di lievito.

Per alcuni microrganismi può essere richiesta un'incubazione prolungata, prima che la produzione di acido sia visibile<sup>3</sup>. La reazione ritardata è attribuita alla incapacità di un carboidrato di penetrare nella cellula batterica<sup>5</sup>.

Il cambiamento di colore prodotto dai microrganismi ossidativi inizia alla superficie del terreno. Questo può non essere evidente per diversi giorni. Bisogna porre attenzione a non scambiare questo risultato per una reazione negativa<sup>6</sup>.

L'olio minerale non è raccomandato perché è un petrolio liquido pesante e quindi aumenta la diffusione dell'aria<sup>6</sup>.



## 1 Considerazioni sulla Sicurezza<sup>7-23</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.

## 2 Reagenti e Strumentazione

Colonie batteriche isolate cresciute su terreno solido.

Si utilizzano due diversi terreni in funzione del microrganismo in esame.

- Stafilococchi e micrococchi richiedono il terreno di Baird Parker modificato per terreno OF<sup>1</sup>
- I bastoncini Gram negativi richiedono il terreno di Hugh e Leifson.

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

Olio di paraffina

## 3 Microrganismi per Controllo di Qualità<sup>6</sup>

Bastoncini Gram negativi			
<b>Controllo positivo</b>	Ossidazione	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCTC 10662
	Fermentazione	<i>Escherichia coli</i>	NCTC 10418
<b>Controllo negativo</b>	Nessuna modificazione	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	NCTC 5866
Cocchi Gram positivi			
<b>Controllo positivo</b>	Ossidazione	<i>Micrococcus luteus</i>	NCTC 2665
	Fermentazione	<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 6571
<b>Controllo negativo</b>	Nessuna modificazione	Terreno di base OF senza carboidrati	

**Nota:** Il controllo di qualità interno deve essere eseguito su ogni lotto di terreno

## 4 Procedura e Risultati<sup>1-3</sup>

### 4.1 Metodo di Prova per Ossidazione Fermentazione

- Riscaldare per 10 minuti in acqua bollente 2 provette di terreno per eliminare l'ossigeno, raffreddare prima dell'uso
- Seminare per infissione dritta verticale entrambe le provette con un filo dritto fino a circa 6 mm. dal fondo

- Incubare in aerobiosi una provetta e l'altra in anaerobiosi, oppure sigillare la superficie con uno strato di olio di paraffina liquida sterile per una profondità di circa 3 cm sopra il terreno per creare condizioni anaerobiche. Impostare i controlli in contemporanea con il microorganismo in accertamento prova
- Incubare a 35-C per non più di 48 ore. Può essere richiesto un periodo più lungo d'incubazione per le specie a lenta crescita.
- Esaminare giornalmente le provette per cambiamento di colore.

### Interpretazione

#### Reazioni bastoncini Gram-negativi

##### Risultato positivo

Ossidazione

Acido solo nella provetta aerobica (colore giallo nella provetta aerobica, verde nella provetta anaerobica)

Fermentazione

Acido in entrambe le provette (colore giallo)

##### Risultato negativo (Assenza di fermentazione e di ossidazione)

Nessuna produzione di acido (colore blu o verde nella provetta aerobica, verde nella provetta anaerobica)

#### Reazioni Cocchi Gram positivi

##### Risultato positivo

Ossidazione

Acido solo nella provetta aerobica (colore giallo nella provetta aerobica, porpora in quella anaerobica)

Fermentazione

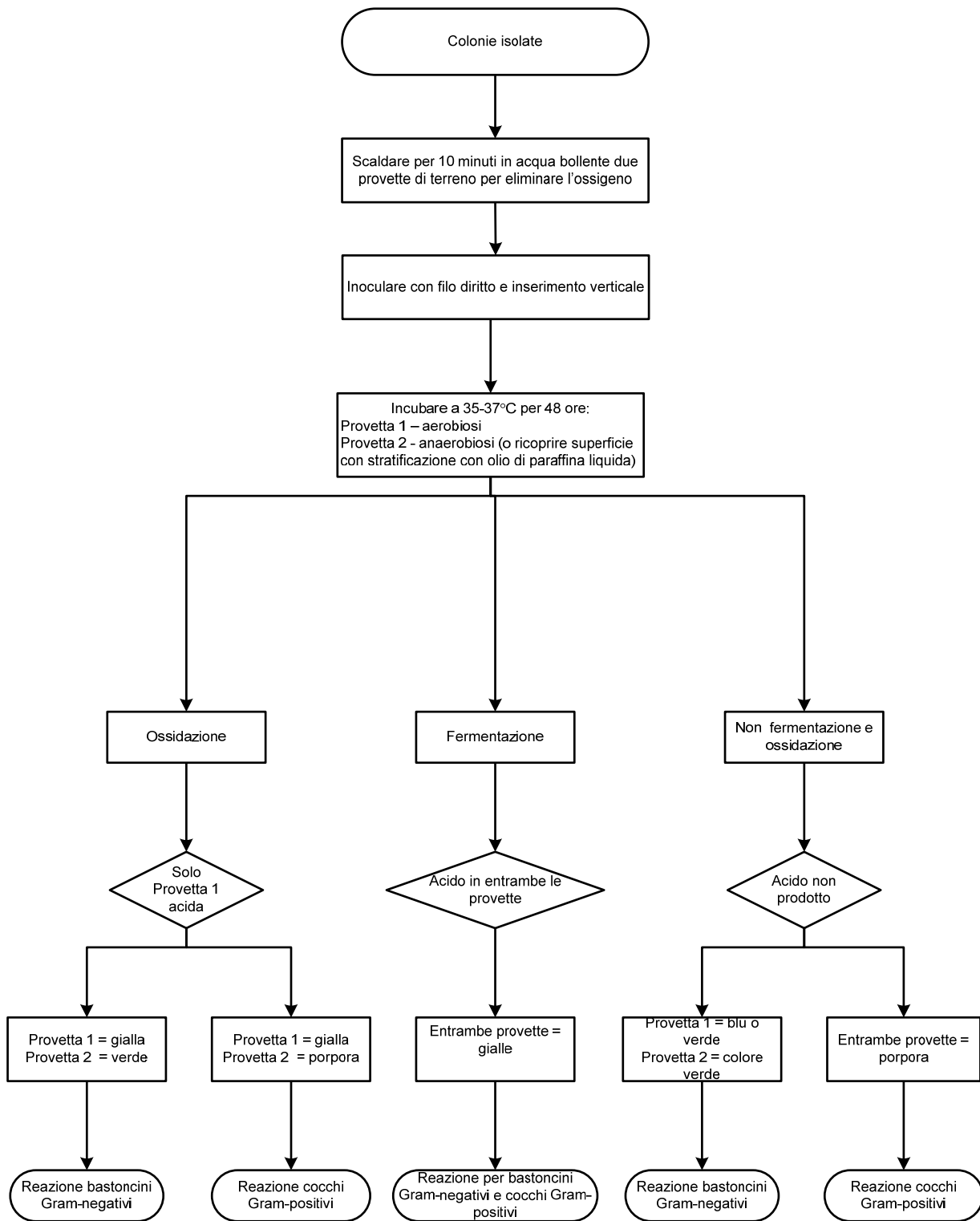
Acido in entrambe le provette (colore giallo)

##### Risultato negativo (assenza di fermentazione e di ossidazione)

Nessuna produzione di acido / Nessun cambiamento di colore (colore porpora in entrambe le provette)

**Nota:** La consistenza semisolida del terreno consente anche per la rilevazione della motilità. Può anche essere rilevata una crescita di aspetto nebuloso lungo la linea di infissione

## Appendice: Test di Ossidazione/Fermentazione del Glucosio



Il Diagramma di Flusso è solo indicativo

## Bibliografia

---

1. 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. 89-109.
2. Hugh R, LEIFSON E. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. J Bacteriol 1953;66:24-6.
3. Barrow GI, Feltham RKA. Bacterial characters and characterization. Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1999. p. 21-45, 224-5.
4. Hanson,A. Oxidative-Fermentative test protocol. American Society for Microbiology.
5. LEDERBERG J. The beta-d-galactosidase of Escherichia coli, strain K-12. J Bacteriol 1950;60:381-92.
6. MacFaddin JF. Oxidation- Fermentation Test. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Wilkins and Williams; 2000. p. 379-87.
7. 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".
8. 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.
9. Health and Safety Executive. Safe use of pneumatic air tube transport systems for pathology specimens. 9/99.
10. Department for transport. Transport of Infectious Substances, 2011 Revision 5. 2011.
11. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014. 2012.
12. Home Office. Anti-terrorism, Crime and Security Act. 2001 (as amended).
13. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. The Approved List of Biological Agents. Health and Safety Executive. 2013. p. 1-32
14. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Infections at work: Controlling the risks. Her Majesty's Stationery Office. 2003.
15. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological agents: Managing the risks in laboratories and healthcare premises. Health and Safety Executive. 2005.
16. 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.

17. 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.
18. 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.
19. Health and Safety Executive. Five Steps to Risk Assessment: A Step by Step Guide to a Safer and Healthier Workplace. HSE Books. 2002.
20. Health and Safety Executive. A Guide to Risk Assessment Requirements: Common Provisions in Health and Safety Law. HSE Books. 2002.
21. Health Services Advisory Committee. Safe Working and the Prevention of Infection in Clinical Laboratories and Similar Facilities. HSE Books. 2003.
22. British Standards Institution (BSI). BS EN12469 - Biotechnology - performance criteria for microbiological safety cabinets. 2000.
23. 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