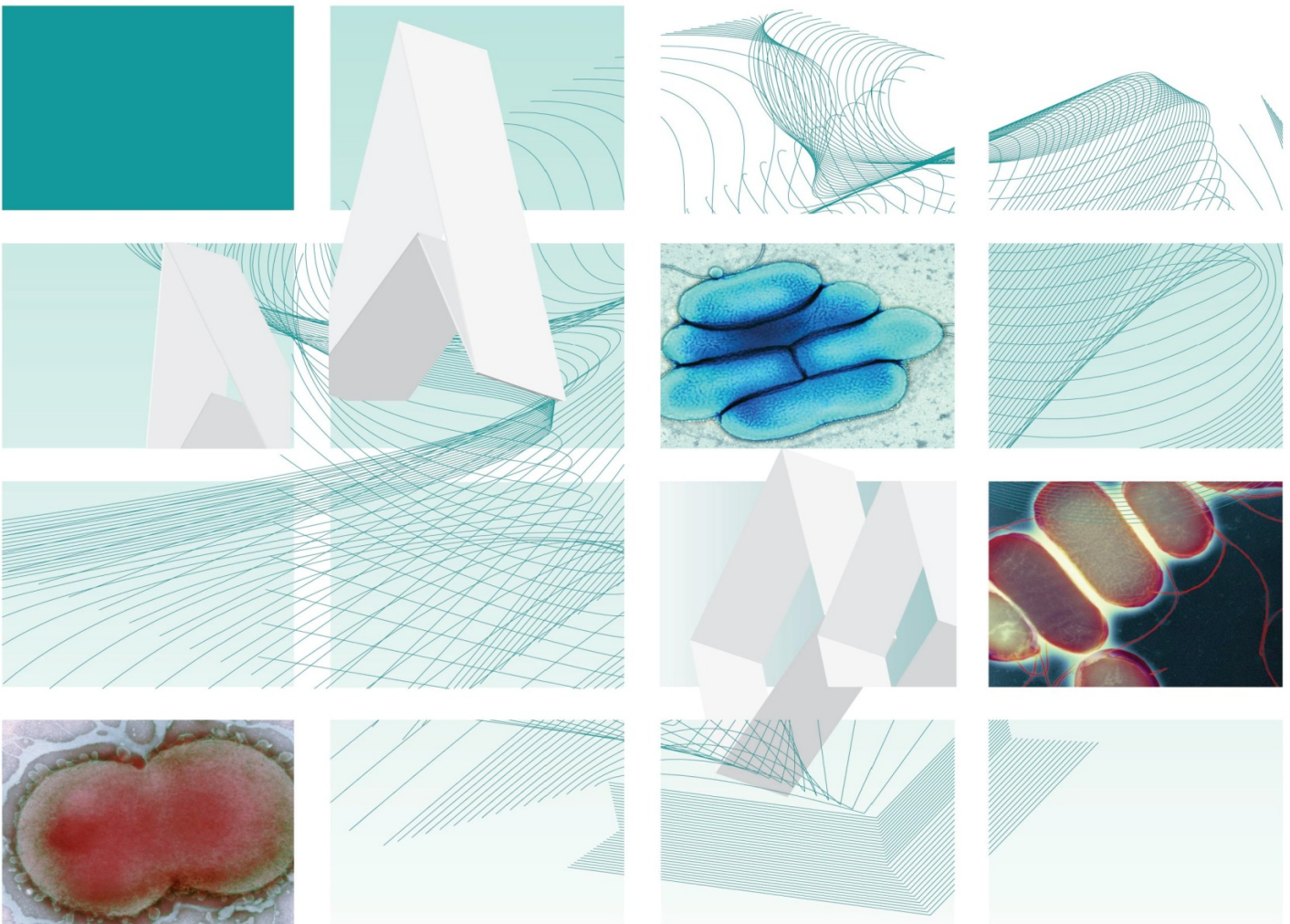




Ricerche Microbiologiche Standard del Regno Unito

Cambiamento di Fase di *Salmonella*

IN 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

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

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



The British Society for Antimicrobial Chemotherapy



society for general
Microbiology
www.sgm.ac.uk



SCOTTISH MICROBIOLOGY
ASSOCIATION

BIAMA
British Infection Association

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 CONSIDERAZIONI SULLA SICUREZZA	9
2 REAGENTI E STRUMENTAZIONE	9
3 MICRORGANISMI PER CONTROLLO DI QUALITA'	9
4 PROCEDURA E RISULTATI	10
APPENDICE: CAMBIAMENTO DI FASE DI SALMONELLA.....	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.

Per ulteriori informazioni sul nostro accreditamento consultare: : 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.

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

Modifica No/Data.	4/17.03.14
Emissione eliminata. no	2.1
Emissione inserita no.	2.2
Sezione(i) interessate/Pagina no.	Modifica.
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.	3/21.10.11
Emissione eliminata. no	2
Emissione inserita no.	2.1
Sezione(i) interessate.	Modifica.
Intero documento	Documento presentato in nuovo formato.
Bibliografia	Bibliografia In parte aggiornata.

Ricerche Microbiologiche Standard del Regno Unito[#]: 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/Partnershipshttp>. 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

[#] Gli Standard di Microbiologia del RU erano in precedenza conosciuti come Metodi Nazionali Standard.

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 assoggetto agli obiettivi PHE di Uguaglianza 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). Changing the Phase of *Salmonella*. UK Standards for Microbiology Investigations. TP 32 Emissione 2.2. <http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>.

IN REVISIONE

Scopo del Documento

La maggior parte dei sierotipi di *Salmonella* possiede due fasi di antigeni H (flagellare). Se l'agglutinazione è ottenuta con una fase, l'organismo può essere indotto a cambiare nell'altra fase.

Questa SMI deve essere usata congiuntamente con le altre SMI

Introduzione

La fase può essere modificata utilizzando due metodi: una provetta Craigie o con piastra con solco (piastra di Jamieson)^{1,2}. Entrambi i metodi implicano l'aggiunta di siero anti-H con cui il battere ha già agglutinato. I microrganismi agglutinati nella fase originale consentono a quelli della fase alternativa di muoversi liberamente nella coltura.

Informazioni Tecniche / Limitazioni

Alcuni batteri, ad esempio *Salmonella typhi* e *Salmonella Montevideo* hanno solo una fase.

Il cambiamento di fase non è sempre ottenuto al primo tentativo. Quando necessario, la procedura dovrebbe essere ripetuta prima di concludere che microrganismo non ha fase alternativa.

In alcuni casi utilizzando un brodo di coltura si possono accelerare i risultati.

IN REVISIONE

1 Considerazioni sulla Sicurezza³⁻¹³

Maggior parte delle specie *Salmonella* appartiene al gruppo di rischio 2, con importanti eccezioni tra cui *S. typhi* e *S. Paratyphi* A, B e C. I lavori che questi organismi devono essere eseguite in livello di contenimento 3 condizioni.

S. typhi, *S. Paratyphi* A, B e C causano malattie gravi e talvolta mortali. Sono state segnalate infezioni acquisite in laboratorio. E' disponibile la vaccinazione per *S. Typhi* e la guida è fornite dal Department of Health immunisation policy¹⁴.

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 che crescono su terreno solido.

Antisieri H *Salmonella*.

Ansa batteriologica con filo metallico diritto/ansa (preferibilmente nichelcromo) o, in alternativa, ansa monouso.

Metodo con provetta di Craigie (agar semi-solido)

Dispensare quantità di 12 mL di agar semi-solido e aggiungere una parte della provetta di vetro (la provetta deve essere più lunga della profondità del terreno).

Metodo Ditch in piastra

Piastra di agar nutriente.

Strisce sterili di carta da filtro.

3 Microrganismi per Controllo di Qualità

Controllo Positivo

N/D

Controllo Negativo

N/D

IN REVISIONE

4 Procedura e Risultati

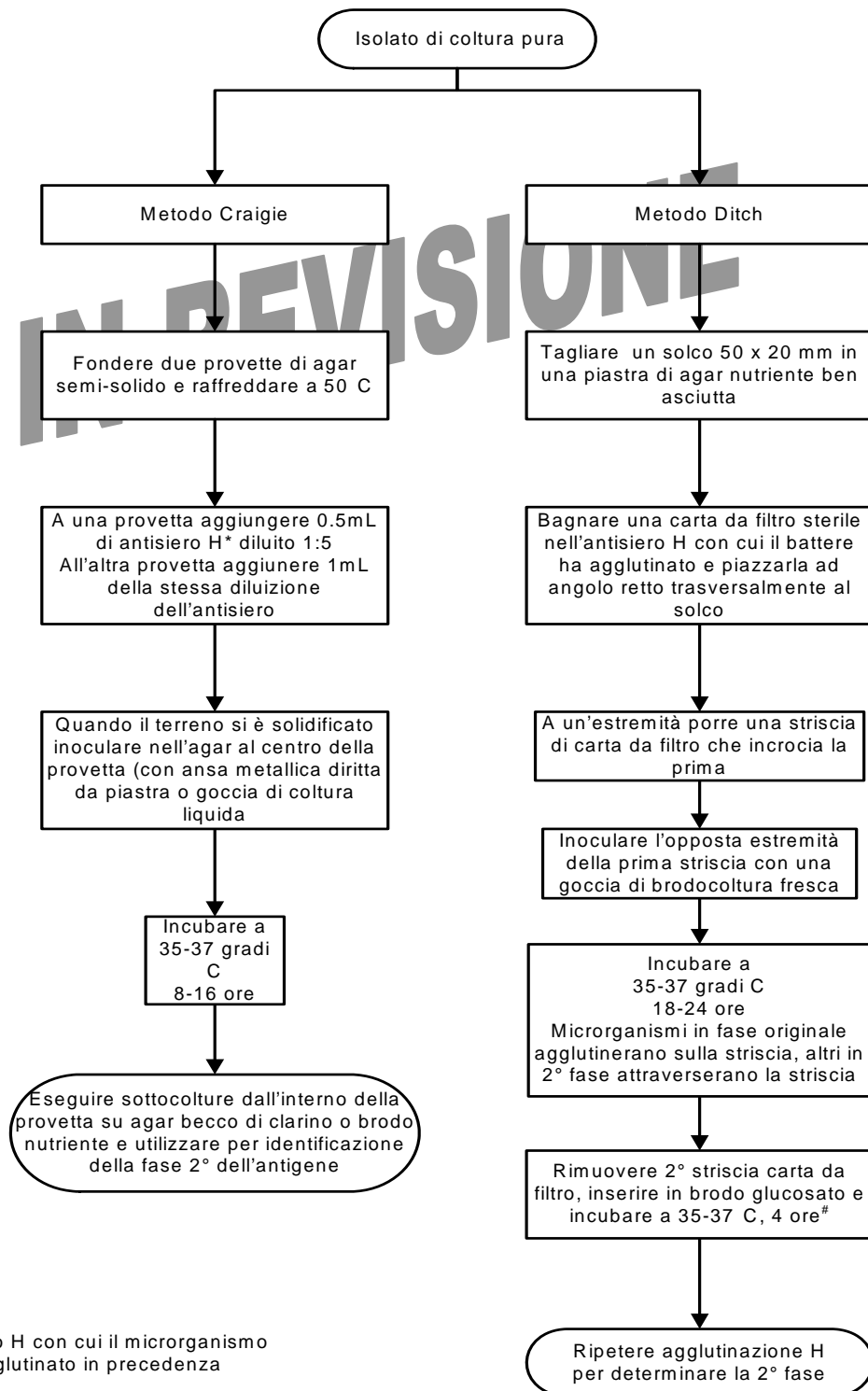
4.1 Metodo di Craige²

- Far sciogliere due provette di agar semi-solido e lasciarle raffreddare a 50°C.
- In una provetta aggiungere 0,5 ml di antisiero H diluito 1:5 (dal quale il germe era stato prima agglutinato) e in una seconda provetta aggiungere 1 ml della stessa diluizione d'antisiero.
- Quando il terreno si è solidificato, inoculare la coltura nell'agar all'interno del tubo centrale (prelevando con un ago dalla piastra o introducendo una goccia di una coltura liquida).
- Incubare a 35 – 37°C per il periodo più corto necessario alla diffusione (ad esempio, 8 – 16 ore).
- Trapiantare, partendo dalla superficie esterna al tubo centrale, su agar a becco di clarino o in brodo nutritivo e usare questa coltura per l'identificazione degli antigeni della seconda fase.

4.2 Metodo Ditch in piastra¹

- In una piastra di agar nutritivo ben asciutta, tagliare un solco di 50 x 20 mm.
- Bagnare una striscia di carta da filtro sterile nell'antisiero H col quale il germe ha agglutinato e piazzarla ad angolo retto trasversalmente al solco.
- A una estremità della striscia, collocare per traverso una seconda striscia di carta da filtro.
- Inoculare l'opposta estremità della prima striscia con una goccia di brodo coltura fresca e incubare a 35 – 37 °C per 18 – 24 ore. I microrganismi della fase originaria agglutineranno sulla striscia, mentre quelli nell'altra fase attraverseranno la striscia.
- Rimuovere la seconda striscia di carta da filtro e seminarla in brodo glucosato, da incubare a 35 – 37 °C per 4 ore.
- Ripetere l'agglutinazione H per determinare la seconda fase.
- La seconda striscia diventa facoltativa, qualora un'estremità della prima striscia sia inoculata con una colonia ben isolata e incubata. La crescita risultante sull'estremità non seminata della striscia potrà essere usata per l'agglutinazione con gli antisieri.

Appendice: Cambiamento di Fase di *Salmonella*: Diagramma di Flusso



* Siero H con cui il microorganismo ha agglutinato in precedenza

2nd striscia opzionale – se una estremità della 1° striscia è inoculata con colonia isolata e incubata sviluppa crescita da un'estremità non seminata può essere investigata con antisiero

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. 99.
2. Old DC. Salmonella. In: Collee JG, Fraser AG, Marmion BP, Simmons A, editors. Mackie & McCartney Practical Medical Microbiology. 14th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1996. p. 385-404.
3. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. The Approved List of Biological Agents. Her Majesty's Stationery Office. Norwich. 2004. p. 1-21
4. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Infections at work: Controlling the risks. Her Majesty's Stationery Office. 2003.
5. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological agents: Managing the risks in laboratories and healthcare premises. Health and Safety Executive. 2005.
6. 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.
7. Health and Safety Executive. Five Steps to Risk Assessment: A Step by Step Guide to a Safer and Healthier Workplace. HSE Books. 2002.
8. Health and Safety Executive. A Guide to Risk Assessment Requirements: Common Provisions in Health and Safety Law. HSE Books. 2002.
9. British Standards Institution (BSI). BS EN12469 - Biotechnology - performance criteria for microbiological safety cabinets. 2000.
10. British Standards Institution (BSI). Part 2: Recommendations for information to be exchanged between purchaser, vendor and installer and recommendations for installation. BS 5726 - Microbiological safety cabinets. 1992.
11. British Standards Institution (BSI). Part 4: Recommendations for the selection, use and maintenance. BS 5726 - Microbiological safety cabinets. 1992.
12. Health Services Advisory Committee. Safe Working and the Prevention of Infection in Clinical Laboratories and Similar Facilities. HSE Books. 2003.
13. Department for transport. Transport of Infectious Substances, 2011 Revision 5. 2011.
14. Immunisation against infectious disease 2006 - The Green Book. 2006 ed. 2006.

IN REVISIONE