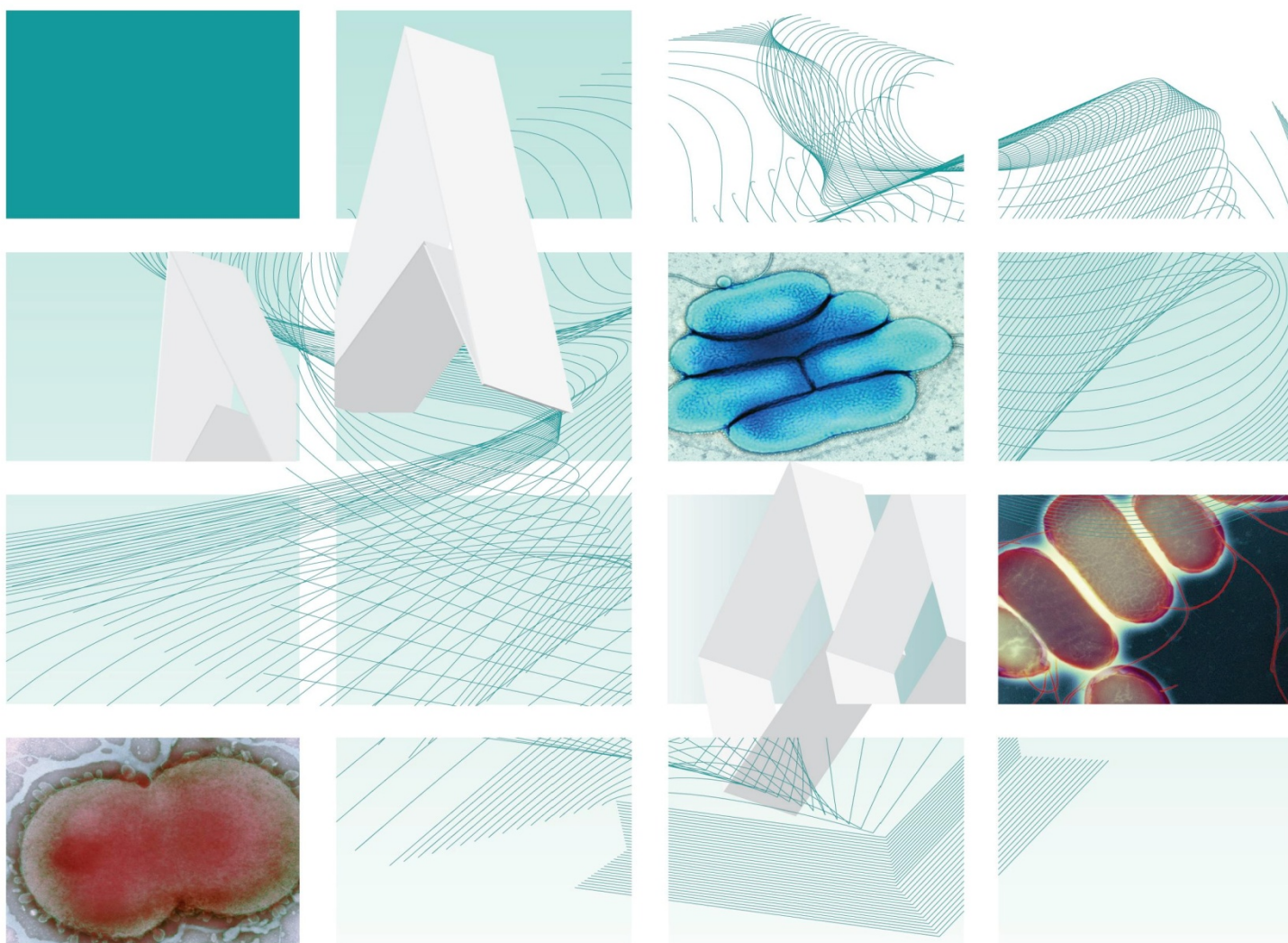




Ricerche Microbiologiche Standard del Regno Unito

Test della Catalasi



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

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

Batteriologia – Procedura Test | TP 8 | Emissione no: 3 | Data emissione: 12.11.14 | Pagina: 2 di 13

UK Standards for Microbiology Investigations | Emesso da Standards Unit, Public Health England

Contenuti

RINGRAZIAMENTI.....	2
CONTENUTI.....	3
TABELLA MODIFICHE.....	4
RICERCHE MICROBIOLOGICHE; PROCEDURE 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	9
APPENDICE: TEST DELLA CATASI .	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.	6/12.11.14
Emissione eliminata. no	2.3
Emissione inserita no.	3
Sezione(i) interessate.	Modifica.
Intero documento	Collegamenti ipertestuali aggiornati al gov.uk.
Pagina 2.	Aggiornati loghi aggiunti.
Introduzione.	Questa sezione è stata aggiornata per includere la reazione che evidenzia la decomposizione del perossido di idrogeno per rilasciare ossigeno e acqua.
Informazioni Tecnic /Limitazioni.	Questa sezione è stata aggiornata e aggiunta la bibliografia
Considerazioni sulla sicurezza.	Questa sezione è stato aggiornata e aggiunta la bibliografia.
Diagramma di flusso.	Questo diagramma di flusso è stato modificato per tener conto della quantità di perossido di idrogeno utilizzato nel metodo in provetta/bottiglia e nel metodo con agar becco di clarino.
Bibliografia	Bibliografia in parte aggiornata.

Ricerche Microbiologiche Standard del RU[#]: Scopo e Obiettivo

Utilizzatori delle SMI

- Nel Regno Unito sono principalmente destinate come risorsa generale ai professionisti che operano nel campo della medicina di laboratorio e specialisti in 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

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

Coinvolgimento delle Organizzazioni Professionali

Lo sviluppo delle SMI è condotto nell'ambito della PHE in collaborazione con il NHS, Royal College of Pathologist e con 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 un'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, anche se le opinioni dei partecipanti non sono necessariamente quelle espresse da tutta l'organizzazione che essi rappresentano. 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 e aggiornate con un ampio processo di consultazione

[#]Microbiology is used as a generic term to include the two GMC-recognised specialities of Medical Microbiology (which includes Bacteriology, Mycology and Parasitology) and Medical Virology.

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 assoggetto 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. (2014). Catalase Test. UK Standards for Microbiology Investigations. TP 8 Emissione 3. <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>

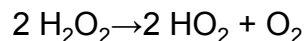
Scopo del Documento

Il test è utilizzato per rilevare la presenza della catalasi nella maggior parte dei batteri aerobi e anaerobi facoltativi contenenti citocromi¹. Fanno eccezione le specie *Streptococcus* ed *Enterococcus*.

Questa SMI deve essere usata congiuntamente alle altre SMI

Introduzione

Il test catalasi è utilizzato per rilevare la presenza di enzimi catalasi mediante la scissione del perossido d'idrogeno con rilascio di ossigeno e acqua come mostrato dalla reazione seguente



Il perossido d'idrogeno è prodotto da alcuni batteri come prodotto finale del metabolismo ossidativo aerobico degli zuccheri. Se si consente il suo accumulo, questo prodotto è particolarmente tossico per i batteri e può determinare la morte della cellula. La catalasi decompone il perossido d'idrogeno e ossida substrati secondari, ma non agisce su altri perossidi².

Informazioni Tecniche / Limitazioni

I terreni con globuli rossi integri contengono catalasi e potrebbero fornire un risultato falso positivo.

L'enzima catalasi è presente solo nelle colture vitali. Non eseguire l'accertamento su colture di oltre 24 ore. Le colture vecchie possono perdere l'attività della catalasi e dare reazioni false-negative².

Una debole reazione della catalasi o pseudocatalasi può essere prodotta da alcuni ceppi di specie *Aerococcus*. Anche alcuni ceppi di specie *Enterococcus* producono una pseudocatalasi.

Le colture di batteri anaerobi dovrebbero essere esposte all'aria per 30 min prima del test².

Il perossido d'idrogeno è instabile e deve essere sempre conservato in frigorifero. Evitare ogni indebita esposizione alla luce.

Alcune anse di semina o di filo metallico possono reagire con il perossido d'idrogeno e produrre false reazioni positive.

Risultati falsi positivi possono essere prodotti anche da provette di vetro sporche o da minibottiglie⁴

1 Considerazioni sulla Sicurezza⁵⁻²¹

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

Il test della catalasi dei batteri può essere pericoloso a causa dell'ossigeno liberato produce aerosol carichi di batteri²². Tutte le procedure che possono generare aerosol devono essere eseguite in cabina microbiologica di sicurezza.

Il perossido di idrogeno è un prodotto chimico altamente corrosivo (dipende dalla concentrazione); pertanto è opportuno indossare indumenti di protezione personale in ogni volta che lo si usa. Le persone che usano questo reagente devono prestare la massima attenzione .

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

E' essenziale il rispetto delle regolamentazioni postali e di trasporto.

2 Reagenti e Strumentazione²

Colonie isolate su terreno solido.

Nota: Il test della catalasi non deve essere eseguito su colonie prelevate da terreni contenenti globuli rossi interi perché possono contenere catalasi e pertanto, fornire risultati falsamente positivi. Possono essere saggiate colonie cresciute su agar cioccolato in quanto i globuli rossi sono stati distrutti².

Inoculare colture pure di agar a becco di clarino

Soluzione di perossido d'idrogeno 3 - 6% . Sono disponibili preparazioni commerciali.

Pulire le provette con tappo (plastica o vetro) o le minibottiglie.

Filo o ansa per batteriologia di platino o, in alternativa, monouso.

3 Microrganismi per Controllo di Qualità

Controllo positivo

Staphylococcus aureus NCTC 6571

Controllo negativo

Streptococcus mitis NTCT 10712

Nota: Il perossido di idrogeno è instabile e quindi deve essere controllato ogni giorno o immediatamente prima dell'uso. Il controllo positivo e negativo devono essere eseguiti contemporaneamente.

4 Procedura e Risultati

4.1 Metodo in Provetta o Bottiglia²³

- Distribuire circa 4 – 5 gocce di soluzione di perossido d'idrogeno in una provetta o minibottiglia.
- Scegliere con cura una colonia da saggiare con un filo metallico/ansa o alternativa monouso.

- Strofinare la colonia sulla parete interna della bottiglia sopra la superficie del perossido d'idrogeno.
- Chiudere la provetta o flacone e inclinarlo per consentire alla soluzione di perossido d'idrogeno di coprire la colonia.
- Osservare l'immediata formazione di bolle

4.2 Metodo su Agar a becco di clarino^{2,4}

- Aggiungere direttamente 1 mL di H₂O₂ alla crescita sviluppata durante la notte su un becco di clarino di agar nutriente e richiudere con tappo.
- Osservare l'immediata formazione di bolle

Per tutti i metodi

Risultato positivo

Intenso sviluppo di bollicine indica presenza di catalasi.

Risultato negativo

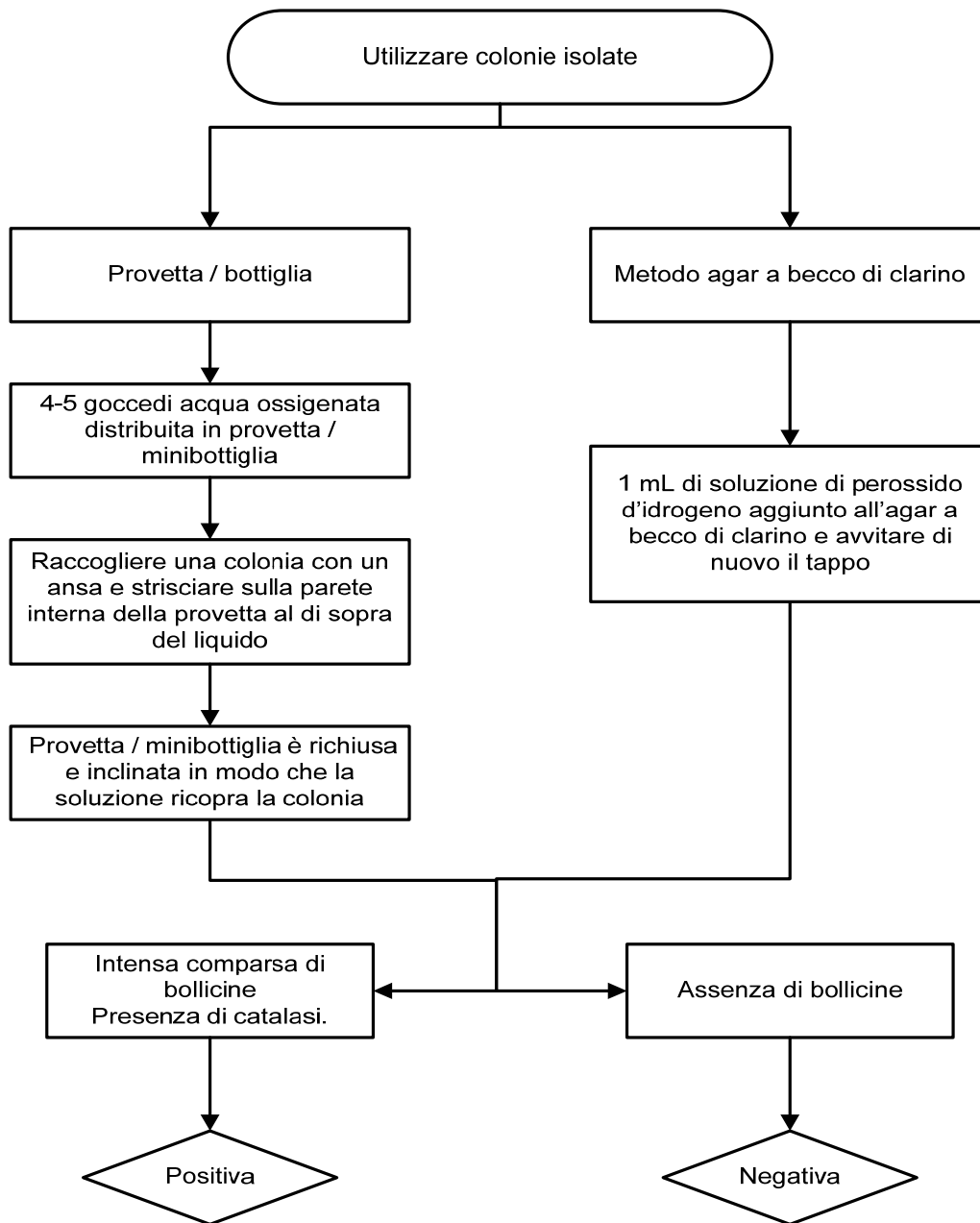
Assenza di comparsa di bollicine.

Nota: Entrambi i microrganismi di controllo positivo e negativo devono essere saggiati contemporaneamente a quelli in accertamento.

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 - Webmaster Sergio Malandrin, Dirigente di primo livello del Laboratorio di Microbiologia e Virologia A.O. San Gerardo dei Tintori di Monza

Appendice: Test della catalasi



Nota:

Controllo Positivo: *Staphylococcus aureus* NCTC 6571

Controllo Negativo: *Streptococcus mitis* NCTC 10712

Il Diagramma di Flusso è solo indicativo

Bibliografia

1. Doelle HW, editor. Bacterial Metabolism. London: Academic Press; 1969. p. 240-6.
2. MacFaddin JF. Catalase-Peroxidase Tests. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2000. p. 78-97.
3. Ochei J, Kolhatkar A. Identification Methods. Medical Laboratory Science Theory and Practice. 2000. p. 644-58.
4. Barrow GI, Feltham RKA, editors. Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical bacteria. 3rd ed. Cambridge University Press; 2003. p. 78-97.
5. 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".
6. 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.
7. Health and Safety Executive. Safe use of pneumatic air tube transport systems for pathology specimens. 9/99.
8. Department for transport. Transport of Infectious Substances, 2011 Revision 5. 2011.
9. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014. 2012.
10. Home Office. Anti-terrorism, Crime and Security Act. 2001 (as amended).
11. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. The Approved List of Biological Agents. Health and Safety Executive. 2013. p. 1-32
12. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Infections at work: Controlling the risks. Her Majesty's Stationery Office. 2003.
13. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological agents: Managing the risks in laboratories and healthcare premises. Health and Safety Executive. 2005.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. Health and Safety Executive. Five Steps to Risk Assessment: A Step by Step Guide to a Safer and Healthier Workplace. HSE Books. 2002.

18. Health and Safety Executive. A Guide to Risk Assessment Requirements: Common Provisions in Health and Safety Law. HSE Books. 2002.
19. Health Services Advisory Committee. Safe Working and the Prevention of Infection in Clinical Laboratories and Similar Facilities. HSE Books. 2003.
20. British Standards Institution (BSI). BS EN12469 - Biotechnology - performance criteria for microbiological safety cabinets. 2000.
21. 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
22. Duke PB, Jarvis JD. The catalase test--a cautionary tale. Med Lab Technol 1972;29:203-4.
23. Reiner,K. Catalase Test Protocol. ASM Conference for Undergraduate Educators 2010.