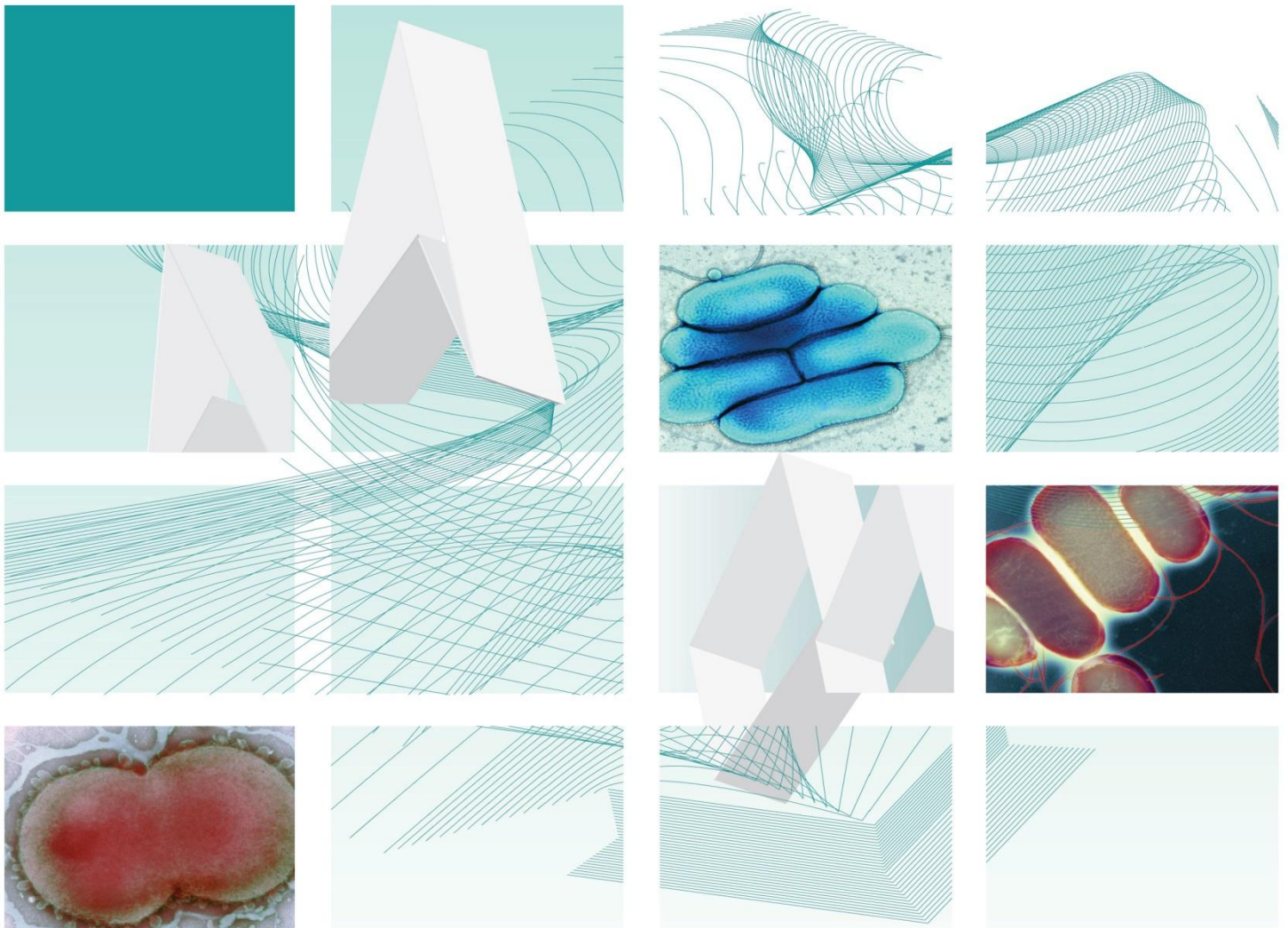




Ricerche Microbiologiche Standard del Regno Unito

Test della catalasi



"NICE has renewed accreditation of the process used by **Public Health England (PHE)** to produce **UK Standards for Microbiology Investigations**. The renewed accreditation is valid until **30 June 2021** and applies to guidance produced using the processes described in **UK standards for microbiology investigations (UKSMIs) Development process, S9365¹, 2016**. The original accreditation term began in **July 2011**."

Emesso da Standards Unit, National Infection Service, PHE

Batteriologia Procedure - Test | TP 8 | Emissione no: 4 | Data emissione: 02.04.19 | Pagina: 1 di 14

Contenuti

| | |
|--|----|
| Ringraziamenti | 2 |
| Contenuti | 3 |
| Tabella delle modifiche | 4 |
| SMI UK: scopo e obiettivo | 5 |
| Scopo del documento | 7 |
| Introduzione..... | 7 |
| Informazione tecnica/limitazioni | 7 |
| 1 Considerazioni sulla sicurezza | 9 |
| 2 Reagenti e strumentazione | 9 |
| 3 Microrganismi di controllo | 9 |
| 4 Procedura e risultati | 10 |
| Appendice:Test della catalasi | 11 |
| Bibliografia | 12 |



"NICE has renewed accreditation of the process used by **Public Health England (PHE)** to produce **UK Standards for Microbiology Investigations**. The renewed accreditation is valid until **30 June 2021** and applies to guidance produced using the processes described in **UK standards for microbiology investigations (UKSMIs) Development process, S9365', 2016**. The original accreditation term began in **July 2011**."

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 numero/data | 7/02.04.19 |
| Emissione eliminata numero | 3 |
| Emissione inserita numero | 4 |
| Data anticipata prossima revisione* | 02.04.22 |
| Sezione(i) interessate | Modifiche |
| Intero documento | <p>Documento e diagramma di flusso aggiornati.</p> <p>Limitazioni tecniche aggiornate con sottotitoli.</p> <p>Riferimenti aggiornati con valutazioni.</p> <p>Ceppo NCTC batterico positivo alternativo (NCTC 12973) testato e validato per questo test e test di sensibilità EUCAST.</p> <p>Aggiunti ceppi fungini NCPF.</p> |

*Le revisioni possono essere protratte fino a cinque anni in funzione delle risorse disponibili

UK SMI[#]: scope and purpose

Utilizzatori delle SMI del RU

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 test appropriati. I documenti 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 che è una condizione essenziale per interventi di sorveglianza della salute pubblica, e per le attività di ricerca e di sviluppo.

Coinvolgimento delle organizzazioni professionali

Lo sviluppo delle SMI è condotto in condizione paritaria da PHE, NHS, Royal College of Pathologists e 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. Le opinioni dei partecipanti non sono necessariamente quelle espresse da tutta l'organizzazione che essi rappresentano. I rappresentanti agiscono da tramite con funzione di collegamento bi-direzionale per informazione e dialogo. Le attività di rappresentanza sono ricercate tramite un processo di consultazione. Le SMI sono sviluppate, revisionate e aggiornate tramite un ampio processo di consultazione.

Assicurazione di qualità

La NHS Evidence ha accreditato la procedura usata dai SMI Working Groups per produrre le SMI. L'accREDITAMENTO è applicabile a tutte le linee guida emesse dall'Ottobre 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

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

accreditate dal NICE e rappresentano gli standard minimi di attività, e neppure il più alto livello di complesse indagini di laboratorio. Utilizzando le SMI, i laboratori dovranno tenere conto delle esigenze locali e intraprendere ricerche aggiuntive 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 da 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 che i risultati siano 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 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 <https://www.gov.uk/government/organisations/public-health-england/about/equality-and-diversity>.

I Gruppi di Lavoro SMI del RU 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, la 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 ad una SMI del RU da un utente finale per uso locale, deve essere chiaro dove nel documento queste sono state apportate e da chi e riconosciuto che la PHE e le organizzazioni partner non devono essere coinvolte da responsabilità per tali modifiche. Per maggiore chiarezza, dal momento che le SMI del Regno Unito sono state sviluppate per l'applicazione nel Regno Unito, qualsiasi applicazione al di fuori del Regno Unito è a rischio dell'utente.

Le conoscenze di base e la tassonomia microbica per la SMI del RU sono le più complete possibili, al momento della pubblicazione. Eventuali omissioni e nuove informazioni saranno considerate nel corso della revisione successiva. 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.

Le SMI sono assoggettate a diritti d'autore che dovrebbero essere riconosciuti ove appropriato

Citazione suggerita per questo documento

Public Health England. (2019). Example reference strains for UK SMI test procedures. UK Standards for Microbiology Investigations. TP 8 Emissione 4. <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>

Scopo del documento

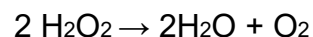
Il test è utilizzato per rilevare la presenza della catalasi nella maggior parte dei batteri aerobi e anaerobi facoltativi contenenti citocromo¹. Fanno eccezione le specie *Streptococcus* ed *Enterococcus*.

Il lievito come il *Cryptococcus neoformans* è catalasi positivo e può essere identificato presumibilmente usando il test della catalasi². In altri lavori di laboratorio in fase di allestimento e aree di lavoro⁴

Questa SMI del Regno Unito dovrebbe essere utilizzata in combinazione con altre SMI del Regno Unito

Introduzione

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



La reazione catalasi è evidente dalla rapida formazione di bolle.

Il perossido di idrogeno è formato da alcuni batteri come prodotto finale ossidativo della scomposizione aerobica degli zuccheri. Se viene accumulato, è altamente tossico per i batteri e può provocare la morte delle cellule. La catalasi decompone il perossido di idrogeno o ossida i substrati secondari, ma non ha alcun effetto su altri perossidi².

Esistono varianti al metodo del test della catalasi e queste includono il metodo su vetrino, in provetta o del flacone e quello su becco di clarino³. Tuttavia, i metodi comunemente usati nei laboratori di microbiologia sono quello in provetta o in flacone e su agar a becco di clarino, perché limita gli aerosol da catalasi, che sono in grado di trasportare cellule batteriche vitali, che, una volta inalate, potrebbero causare infezioni e contaminazione in altre aree di laboratorio in fase di allestimento e in aree circostanti⁴.

Informazioni Tecniche / Limitazioni

Interpretazione dei risultati

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

L'enzima è presente solo nelle colture vitali, pertanto la crescita della coltura deve essere di 18 a 24 ore. Le colture più datate possono perdere l'attività della catalasi e dare reazioni false negative².

Alcune anse o fili d'inoculo (nichelcromo) possono reagire con il perossido di idrogeno e produrre reazioni false positive⁵.

Risultati falsi positivi possono anche essere prodotti da provette di vetro o provettine sporche⁶.

False reazioni

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

Le colture di batteri anaerobi devono essere esposte all'aria per 30 minuti prima del test²

Controllo di qualità

Il perossido di idrogeno è instabile e deve essere sempre refrigerato. Evitare l'esposizione indebita alla luce

1 Condizioni di sicurezza⁷⁻²⁴

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 che produce aerosol carichi di batteri⁴. Tutte le procedure che possono generare aerosol devono essere eseguite in cabina microbiologica di sicurezza.

Il perossido di idrogeno è una sostanza chimica altamente corrosiva (in funzione della concentrazione); pertanto è necessario indossare sempre indumenti protettivi adeguati durante l'uso. E' richiesto di prestare estrema attenzione alle persone che usano questo reagente.

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

E' essenziale la conformità alle regolamentazioni postali e del trasporto

2 Reagenti e strumentazione²

Colonie batteriche/fungine isolate da terreno solido

Nota: Il test della catalasi non deve essere eseguito su colonie prelevate da terreni contenenti globuli rossi interi perché contengono catalasi e potrebbero dare un risultato falso positivo. Le colonie prelevate dalla piastra di agar cioccolato possono essere testate poiché i globuli rossi sono stati emolizzati².

Seminare agar puro a becco di clarino

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

Pulire provette con tappo (plastica o vetro) o bottiglie Bijoux

Filo diritto o ansa di platino batteriologici o alternativa monouso

3 Microrganismi per controllo di qualità

Batteri

Controllo positivo

Staphylococcus aureus NCTC 6571 o NCTC 12973

Controllo negativo

Streptococcus mitis NCTC 10712

Funghi

Controllo positivo

Cryptococcus neoformans NCPF 3168

Controllo negativo

Candida albicans NCPF 3281

Nota 1: Il perossido di idrogeno è instabile e quindi deve essere sottoposto a un controllo di qualità giornaliero o immediatamente prima dell'uso. I controlli positivi e negativi dovrebbero essere eseguiti contemporaneamente.

Nota 2: Questi ceppi batterici sono stati validati da NCTC per dare questo risultato.

Nota 3: I ceppi fungini non sono stati validati da NCTC per fornire questo risultato al momento della pubblicazione.

Procedura e risultati

4.1 Metodo in provetta o minibottiglia³

- Distribuire circa 0,2 mL 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.

Verificare l'intensa comparsa di bollicine entro 10 s

4.2 Metodo su agar d becco di clarino^{2,6}

- Aggiungere 1,0 ml di H₂O₂ direttamente su una coltura pura pesantemente inoculata di 18 a 24 ore, coltivata su agar nutriente a becco di clarino e richiudere con tappo.
- Rilevare l'immediato sviluppo di bollicine (effervescenza)
- Observe for immediate bubbling (effervescence)

Per entrambi I metodi ,

Risultato positivo

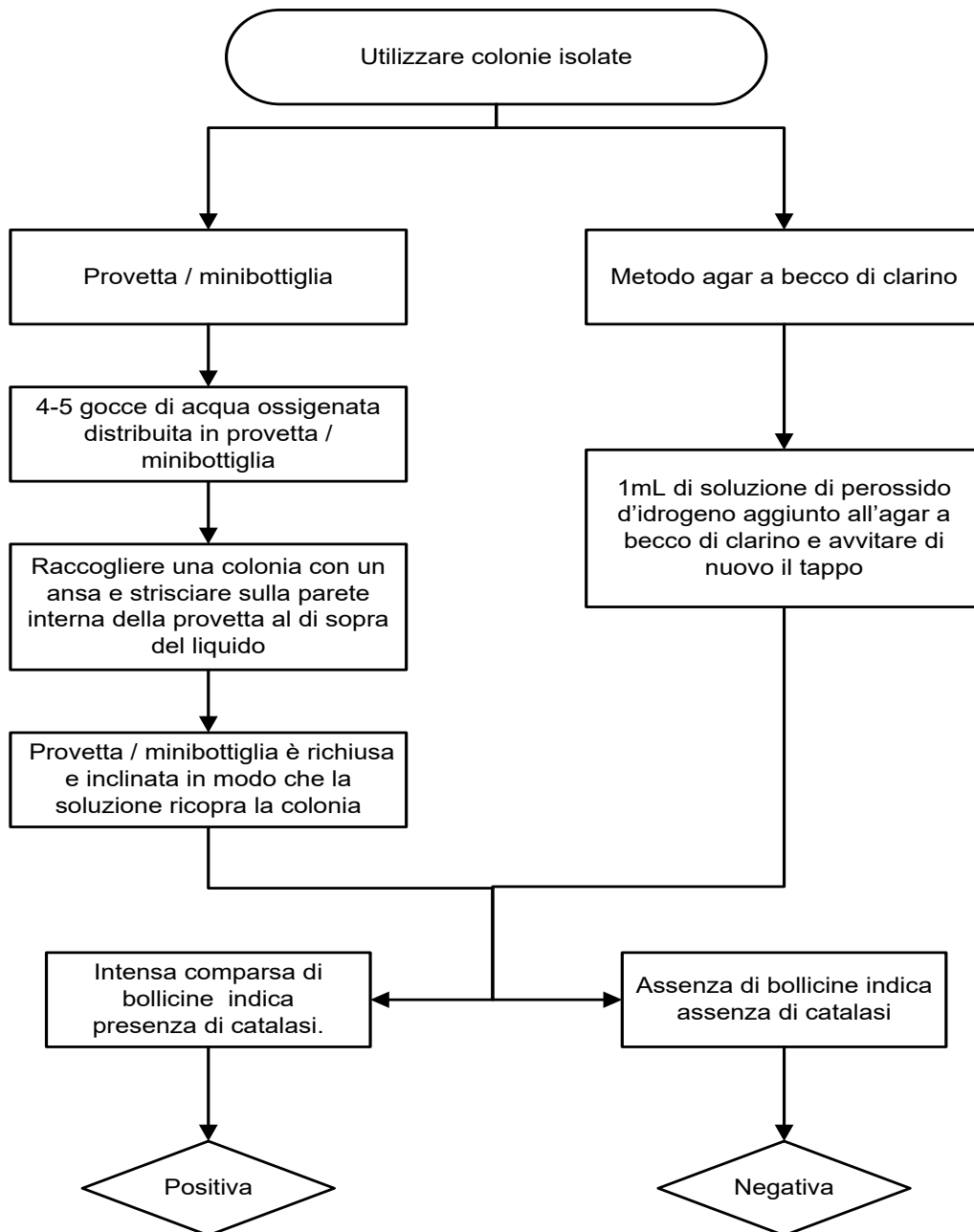
L'immediato sviluppo di bollicine indica presenza di catalasi

Risultato negativo

Assenza di bollicine indica assenza della catalase.

Note: : Entrambi I microrganismi di controllo positivo e negativo devono essere saggiati giornalmente perché il perossido d'idrogeno è instabil

Appendice: Test della catalasi



Nota:

Controllo Positivo: *Staphylococcus aureus* NCTC 6571 o NCTC 12973

Controllo Negativo: *Streptococcus mitis* NCTC 10712

Funghi

Controllo positivo *Cryptococcus neoformans* NCPF 3168

Controllo negativo *Candida albicans* NCPF 3281

Il Diagramma di Flusso è solo indicativo

Bibliografia

Tabella di GRADE (Grading of Recommendations, Assessment, Development, and Evaluation) modificata, utilizzata dalle SMI UK nella valutazione della bibliografia

Il GRADE (Grading of Recommendations, Assessment, Development, and Evaluation) è un approccio sistematico alla valutazione della bibliografia. Per le UK SMI si utilizza un metodo GRADE modificato per valutare l'inclusione dei riferimenti bibliografici. Ogni riferimento bibliografico è valutato e assegnato a un grado di consistenza delle raccomandazione (A-D) e alla qualità delle prove soggettive (I-VI). Di seguito è presentata una tabella riassuntiva che definisce il grade e deve essere utilizzata in congiunzione con l'elenco delle voci bibliografiche.

| Consistenza della raccomandazione | Evidenza della qualità |
|---|--|
| A Fortemente raccomandata | I Dimostrazione da studi controllati, randomizzati, meta-analisi, e revisioni sistematicamente |
| B* Raccomandata ma possono essere accettabili altre alternative | II Evidenza di documenti che descrivono tecniche, metodi o protocolli |
| | III Prove da documenti che descrivono tecniche, metodi o protocolli |
| C* Debolmente raccomandata: ricercare alternative | IV Studi non analitici, ad esempio case report, recensioni, serie di casi |
| D Mai consigliate | V Opinione di esperti e ampia accettazione come buona pratica ma senza prove di studio |
| | VI Richiesto dalla legislazione, dal codice di condotta o dalla norma / linea guida nazionale |
| | VII Lettera / comunicazione breve / editoriali / comunicazione di conferenza |
| | VIII Citazione elettronica |

1. Doelle HW. Chemosynthesis - aerobic respiration. In: Doelle HW, editor. Bacterial Metabolism. London: Academic Press; 1969. **B, IV**
2. MacFaddin JF. Catalase-Peroxidase Tests. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2000. p. 78-97. **B, III**
3. Reiner K. Catalase Test Protocol. ASM Conference for Undergraduate Educators 2010. 2012. **B, VIII**
4. Duke PB, Jarvis JD. The catalase test--a cautionary tale. Med Lab Technol 1972;29:203-4. **B, III**

5. Ochei J, Kolhatkar A. Identification Methods. Medical Laboratory Science Theory and Practice; 2000. p. 644-58. **B, III**
6. Barrow GI, Feltham RKA Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical bacteria. 3rd ed.: Cambridge University Press; 2003. 78-97. **B, III**
7. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Infections at work: Controlling the risks. Her Majesty's Stationery Office 2003. **A, VI**
8. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological agents: Managing the risks in laboratories and healthcare premises. Health and Safety Executive 2005. **A, VI**
9. 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. **A, VI**
10. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. The Approved List of Biological Agents. Health and Safety Executive 2013. 1-35. **A, VI**
11. British Standards Institution (BSI). BS EN12469 - Biotechnology - performance criteria for microbiological safety cabinets 2000. **A, VI**
12. 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. 2005. 1-14. **A, VI**
13. 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. **B, V**
14. Department for Transport. Transport of Infectious Substances, 2011 Revision 5. 2011. **A, VI**
15. Department of Health. Transport of Infectious Substances. Best Practice Guidance for Microbiology Laboratories. Department of Health. 1-13. 2007. **A, VI**
16. European Parliament. UK Standards for Microbiology Investigations (UK 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". 1998. **A, VI**
17. Health and Safety Executive. Five Steps to Risk Assessment: A Step by Step Guide to a Safer and Healthier Workplace. HSE Books,. 2002. **A, VI**
18. Health and Safety Executive. A Guide to Risk Assessment Requirements: Common Provisions in Health and Safety Law. HSE Books,. 2002. **A, VI**
19. Health and Safety Executive. Safe use of pneumatic air tube transport systems for pathology specimens. 2009. **A, VI**
20. Health and Safety Executive. Control of Substances Hazardous to Health Regulations. The Control of Substances Hazardous to Health Regulations 2002 (as amended). Approved Code of Practice and guidance L5 (sixth edition). HSE Books,. 2013. **A, VI**
21. Health Services Advisory Committee. Safe Working and the Prevention of Infection in Clinical Laboratories and Similar Facilities. HSE Books 2003. **A, VI**

22. Home Office. Anti-terrorism, Crime and Security Act. 2001. **A, VI**
23. 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 1998. 1-37. **A, VI**
24. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2017-2018. 2017. **A, VI**

