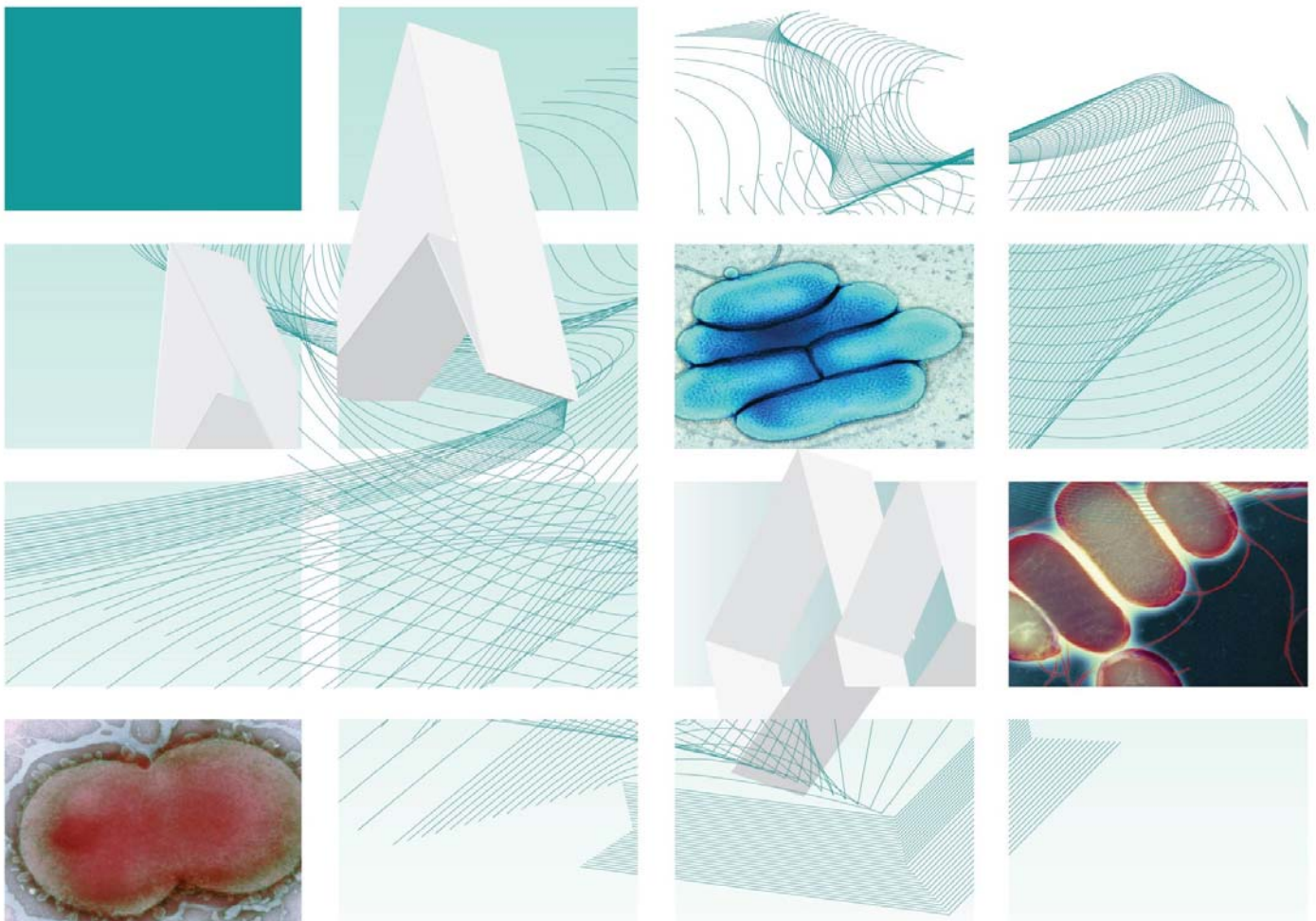




Protezione e miglioramento della salute pubblica nazionale

# Ricerche Microbiologiche: Procedure Standard del Regno Unito

## Ricerca su Liquidi da Sedi Normalmente Sterili



## 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>

Numero di accesso alle pubblicazioni PHE: 2015013

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



I loghi sono coretti al momento della pubblicazione

Batteriologia | B 26 | Emissione no: 6 | Data emissione: 15.06.15 | Pagina: 2 di 23

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

## Contenuti

---

RINGRAZIAMENTI.....	2
TABELLA MODIFICHE .....	4
SMI RU: SCOPO E OBIETTIVO .....	5
SCOPO DEL DOCUMENTO .....	7
SCOPO .....	7
INTRODUZIONE.....	7
INFORMAZIONE TECNICA/LIMITAZIONI.....	10
1 CONSIDERAZIONI SULLA SICUREZZA .....	11
2 PRELIEVO DEL CAMPIONE .....	11
3 TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE .....	12
4 PROCESSAZIONE CAMPIONE/PROCEDURA .....	12
5 PROCEDURA DI REFERTAZIONE .....	17
6 NOTIFICA ALLA PHE O EQUIVALENTE.....	18
APPENDICE: RICERCA SU LIQUIDI DA SEDI NORMALMENTE STERILI.....	20
BIBLIOGRAFIA.....	21



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.	9/15.06.15
Emissione eliminata. no	5.2
Emissione inserita no.	6
<b>Sezione(i) interessate/Pagina no.</b>	<b>Modifica.</b>
Intero documento	Collegamenti ipertestuali aggiornati al gov.uk.
Pagina 2	Aggiunti loghi aggiornati.
Titolo	Titolo modificato.
Introduzione	Recensita e snellita.
3.1 Condizioni ottimali di trasporto e conservazione	Parametri definiti per ciascuna fase.
4.4 Microscopia	Modifica della sezione conta totale globuli bianchi per l'aggiunta dell'utilizzo di contacellule automatici
4.5 Coltura e ricerca	L'uso dei flaconi per emocoltura è ora un metodo riconosciuto.
Bibliografia	Bibliografia revisionata e aggiornata.

## SMI del RU<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 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

---

<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.

di microbiologia clinica e di sanità pubblica del Regno Unito. Le SMI sono accreditate dal NICE 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 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 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 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. (2015). Investigation of Fluids from Normally Sterile Sites. UK Standards for Microbiology Investigations. B 26 Emissione 6. <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>

## Scopo del Documento

---

### Tipo di campione

#### Tipo di campione:

Liquido amniotico, liquido pericardio, liquido peritoneale (ascite), liquido pleurico, liquido sinoviale (articolare), liquido da borsa

Sangue, liquido cerebrospinale, CAPD fluid (liquido di dialisi peritoneale continua ambulatoriale), liquido del cavo del Douglas, bile ed urine sono trattati nelle seguenti:

- [B 37 – Investigation of blood cultures \(for organisms other than Mycobacterium species\).](#)
- [B 27 – Investigation of cerebrospinal fluid.](#)
- [B 25 – Investigation of continuous ambulatory peritoneal dialysis fluid.](#)
- [B 28 – Investigation of genital tract and associated specimens.](#)
- [B 15 – Investigation of bile](#) e
- [B 41 – Investigation of urine](#))

## Scopo

---

Questa SMI descrive le procedure e l'indagine batteriologica dei liquidi per la ricerca e l'identificazione di microrganismi che causano infezione in sedi normalmente sterili (diversi da quelli sopra elencati).

Questa SMI deve essere usata con le altre SMI.

## Introduzione

---

Il riscontro di microrganismi in liquidi che sono normalmente sterili pone in evidenza, in modo significativo, un'infezione che potenzialmente può rappresentare un rischio per la vita

Le emocolture sono spesso positive per lo stesso microrganismo infettante, ed occasionalmente possono essere positive quando l'esame colturale dei liquidi non è in grado di rilevare il microrganismo. E' anche possibile usare flaconi per emocolture per la coltura di liquidi prelevati da sedi sterili<sup>1</sup>.

### Amniosite<sup>2</sup>

L'amniosite rappresenta la condizione infiammatoria dell'amnios, la più profonda delle due membrane che costituiscono il sacco fetale che contiene il feto ed il liquido amniotico. In caso di rottura prolungata delle membrane, il liquido amniotico può essere contaminato dalla flora vaginale. Se si conferma un'amniosite durante la fase del parto, i neonati sono fatti nascere immediatamente per il rischio infettivo cui sono esposti la madre ed il feto stesso. L'amniosite può inoltre essere la conseguenza di manovre strumentali durante le procedure mediche prenatali.

Le colture del liquido prelevato prima della nascita sono spesso di tipo misto contenendo streptococchi, anaerobi, Enterobatteriaceae, batteri del gruppo "*Streptococcus anginosus*", *Listeria monocytogenes* e *Mycoplasma hominis*. Altri microrganismi sono stati implicati nelle infezioni dell'amnios, e questi includono enterococchi, specie *Haemophilus*, specie *Candida*, bacilli aerobi

Gram positivi, pseudomonadi e stafilococchi. In futuro, la proteomica potrebbe rappresentare la miglior possibilità diagnostica per questa condizione<sup>3</sup>.

## Pericardite<sup>4</sup>

L'infiammazione del pericardio, membrana che avvolge il cuore, è definita pericardite. Questa condizione induce un aumento del volume del liquido del sacco pericardio. In ogni modo, la maggior parte delle effusioni pericardiche sono sterili e di volume ridotto.

Le infezioni pericardiche possono essere suddivise in tre gruppi:

1. purulenta, causata da batteri, e a esito infausto se non trattata. Ha una mortalità del 40% nei pazienti trattati. Dai casi di pericardite purulenta è stata isolata una vasta gamma di batteri
2. sindrome benigna, a eziologia virale o post pericardiotomia
3. . ipersensibilità o post-infettiva

Nei pazienti con pericardite affetti da AIDS, l'incidenza dell'infezione batterica è molto più elevata rispetto alla popolazione generale, con un più alto tasso d'infezioni di specie *Mycobacterium*<sup>5</sup>.

## Peritonite

La peritonite è infiammazione del peritoneo, membrana sierosa che limita la cavità addominale e ricopre i visceri addominali. La peritonite batterica primitiva è causata da < 1% delle peritoniti batteriche e compare spontaneamente senza evidenza di perforazione di organi intra-addominali. E' più frequentemente riscontrata nei neonati e nei bambini, e in particolare in quelli con sindrome nefrosica.

La peritonite batterica spontanea (PBS) è un'infezione che si manifesta in corso di ascite preesistente in assenza di infezione intra-addominale nota e rappresenta una complicazione grave e frequente della cirrosi o di altre malattie epatiche. L'infezione è quasi sempre monomicrobica, di solito conseguente ad una diffusione ematogena. Le concentrazioni di lattoferrina possono fornire un'utile accertamento per l'identificazione di questa infezione<sup>6-8</sup>.

La peritonite batterica secondaria di solito insorge come conseguenza di una perdita gastrointestinale all'interno della cavità peritoneale. Questa può originare dalla perforazione di visceri affetti da patologie o esposti a trauma addominale. La causa più frequente nei paesi orientali è rappresentata dall'appendicite acuta. Altre cause includono l'ulcera peptica perforata, la malattia da diverticoli del colon, pancreatite, colecistite e complicazioni in corso di CAPD. (consultare [B 25 – Investigation of continuous ambulatory peritoneal dialysis fluid](#)).

La peritonite localizzata si sviluppa al di sopra di qualsiasi area sede di infiammazione del tratto gastrointestinale. Rappresenta una condizione patologica mite che può risolversi, ma può condurre a formazione di aderenze.

La peritonite acuta generalizzata è particolarmente grave e rappresenta una condizione spesso fatale. Di solito insorge come conseguenza di perdita del contenuto gastrointestinale da un'ulcera perforata o dalla rottura di una appendice gangrenosa. La grande quantità di tossine batteriche assorbite induce spesso la comparsa di ileo paralitico, tossiemia e shock settico.

Le peritoniti croniche possono essere conseguenti ad una formazione ascessuale e persistere per settimane o mesi se non drenate. Ascessi persistenti possono determinare una condizione patologica generalizzata o essere circondati da tessuto fibroso compatto che interferisce con la funzione delle anse intestinali. Le infiammazioni croniche possono essere causate da *M tuberculosis*.



## Pleurite

La pleurite è un'inflammatione della pleura, membrana sierosa che avvolge i polmoni e la parte inferiore della cavità toracica.

### Versamento pleurico

Il versamento pleurico rappresenta l'accumulo di liquidi fra lo strato profondo e superficiale (viscerale e parietale) delle membrane pleuriche. Può insorgere come conseguenza di una polmonite o di una insufficienza cardiaca cronica o in corso di uremia (le colture risultano negative nelle ultime due patologie), o per diffusione diretta di una infezione, quale un focolaio primario tubercolare che si rompe all'interno della cavità pleurica. L'interessamento carcinomatoso della pleura viscerale rappresenta una delle più comuni cause di sterilità del versamento pleurico.

Il versamento si manifesta precocemente in corso di polmonite rappresentando la risposta della pleura ad una reazione infiammatoria dell'area polmonare adiacente<sup>9</sup>. I batteri raggiungono lo spazio pleurico in vario modo: diffondendo da un'area limitrofa di polmonite, intervento chirurgico toracico o drenaggio, batteriemia, trauma toracico, diffusione trans-diaframmatica di un'infezione intra-addominale.

Il versamento pleurico tubercolare insorge come estensione dell'infezione da un focolaio sottopleurico. Nel versamento si riscontra solo un numero esiguo di bacilli, e di conseguenza l'esame microscopico è raramente positivo. Si preferiscono pertanto altre prove di conferma quali l'esame dell'espettorato, la prova cutanea o la radiografia del polmone<sup>10</sup>.

### Empiema

Si definisce empiema toracico la raccolta di pus nella cavità pleurica. Si manifesta frequentemente come complicanza di una infezione batterica del parenchima polmonare, conseguente a polmonite o ad ascesso polmonare.

Lo *S. pneumoniae* è l'agente causale più frequente, ma qualsiasi microrganismo può essere isolato dal liquido pleurico, in modo particolare quelli associati alle infezioni delle basse vie respiratorie e quelli acquisiti per aspirazione dalla flora dell'orofaringe, includenti streptococchi orali ed anaerobi.

I microrganismi associati frequentemente all'empiema nei pazienti con sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS) includono: *Cryptococcus neoformans*, *Mycobacterium avium-intracellulare*, *M. tuberculosis* e *Nocardia asteroides*<sup>11,12</sup>.

Altri microrganismi che possono causare infezione in questo gruppo di pazienti includono *Pneumocystis carinii* e *Rhodococcus equi*<sup>13</sup>.

## Artrite settica<sup>14,15</sup>

Si definisce artrite settica l'infezione piogena di un'articolazione. L'infezione avviene attraverso la diffusione ematogena o direttamente da lesioni contigue. Le manifestazioni dell'infezione possono essere difficili da rilevare clinicamente nei pazienti in cui le articolazioni sono già infiammate a causa di condizioni reumatologiche. I pazienti con artrite reumatoide e osteoartrite di vecchia data sono predisposti all'artrite settica. Altri fattori predisponenti includono un precedente traumatico o iniezione intra-articolare, immunosoppressione, diabete mellito, patologie maligne. L'eziologia della sepsi delle articolazioni protesiche differisce da quella delle articolazioni prive di protesi.

Il liquido sinoviale infetto di solito si presenta torbido o purulento, con >75% di cellule leucocitarie polimorfonucleate, sebbene questo riscontro non sia specifico per l'artrite settica.

Qualsiasi microrganismo può essere isolato dal liquido articolare, quelli di più frequente riscontro sono: *Staphylococcus aureus*, streptococchi, Enterobacteriaceae, *M. tuberculosis*, *Neisseria*

*gonorrhoeae*, *S. pneumoniae*, e *Kingella kingae* sono di più frequente isolamento nei bambini<sup>16</sup>. L'infezione da *Haemophilus influenzae* di tipo b è ora meno frequente per via della vaccinazione. Artrite purulenta e sinovite possono anche essere causate da cristalli di urato di sodio (gota) e cristalli di pirofosfato di calcio (pseudo-gotta). Se si richiede l'esame microscopico, l'osservazione del liquido sinoviale può essere eseguita utilizzando luce polarizzata.

## Borsite<sup>17</sup>

La borsite è un'inflammatione di una borsa, piccola sacca di tessuto fibroso ricoperta dalla membrana sinoviale che si forma attorno alle articolazioni dove i legamenti ed i tendini passano sopra le ossa. E' spesso associata ad una cospicua cellulite sovrastante. L'olecranon e la borsa prepatellare sono le sedi più frequentemente interessate. Queste sono spesso esposte a traumi ripetuti. Le ferite cutanee sono le porte di ingresso più frequenti dell'infezione e lo *S. aureus* è l'isolato più frequente.

## Informazione tecnica/limitazioni

---

### Limitazioni delle SMI del RU

Le raccomandazioni formulate nelle SMI del RU sono basate su prove (ad esempio sensibilità e specificità), se disponibili, opinioni degli esperti e pragmatismo, tenendo in considerazione anche le risorse disponibili. I laboratori dovranno tenere in considerazione le esigenze locali e intraprendere ricerche addizionali, se appropriato. Prima del loro uso, i laboratori devono assicurare che tutti i saggi commerciali e in-house siano stati validati e idonei allo scopo

### Terreni selettivi per procedure di screening

I terreni selettivi che non consentono la crescita di tutti i ceppi dei microrganismi circolanti possono essere raccomandati sulla base delle evidenze disponibili. Un equilibrio deve pertanto essere ricercato tra evidenze disponibili e risorse necessarie quando si usa più di una piastra di terreno.

### Contenitore per campioni<sup>18,19</sup>

Le SMI usano il termine " contenitore a chiusura ermetica con marchiatura CE " per descrivere quelli contrassegnati con la marchiatura CE per la raccolta e il trasporto dei campioni clinici. I requisiti per i contenitori dei campioni sono riportati nella Direttiva UE per i Dispositivi Sanitari Diagnostici in vitro (98/79/CE allegato 1 B 2.1) in cui si stabilisce: " La progettazione deve consentire un'agevole manipolazione e, se necessario, ridurre per quanto possibile la contaminazione dei, e perdite dal dispositivo durante l'uso e, nel caso di recipienti per campioni, il rischio di contaminazione degli stessi. Le procedure di fabbricazione devono essere adatte a questi scopi".

# 1 Considerazioni sulla Sicurezza<sup>18-34</sup>

---

## 1.1 Prelievo del campione, trasporto e conservazione<sup>18-23</sup>

Usare tecnica asettica

Raccogliere in appropriati contenitori con marchiatura CE a tenuta ermetica i campioni e trasportarli in sacchetti di plastica sigillati.

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

## 1,2 Procedura sul Campione<sup>18-34</sup>

Livello di Contenimento 2.

Le procedure di laboratorio che generano aerosol infettivi devono essere eseguite in cabina microbiologica di sicurezza<sup>26</sup>.

Se si sospetta un'infezione da microrganismo del Gruppo di Rischio 3 come *Mycobacterium tuberculosis*, tutti i campioni devono essere processati in cabina microbiologica di sicurezza in condizioni complete di contenimento di livello 3.

Tutti i campioni del cavo pleurico devono essere centrifugati in contenitori chiusi e processati in cabina microbiologica di sicurezza in condizioni di completo livello di contenimento 3 con o senza richiesta di accertamento per specie *Mycobacterium*.

La centrifugazione deve essere eseguita con contenitori chiusi che successivamente sono aperti in una cabina microbiologica di sicurezza.

Se sono utilizzati flaconi per emocoltura per fornire un brodo di arricchimento, qualsiasi loro uso successivo e il conseguente smaltimento delle siringhe e degli aghi devono essere conformi ai protocolli di sicurezza locali.

I contenitori dei campioni devono essere collocati su un supporto idoneo

Fare riferimento alle attuali linee guida per la manipolazione sicura di tutti i microrganismi documentati in questa SMI.

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

## 2 Prelievo del Campione

---

### 2.1 Tipo di campione

Liquido amniotico, liquido da borsa. liquido pericardio, liquido sinoviale (articolare), liquido peritoneale (ascite), liquido pleurico.

### 2.2 Tempo ottimale e metodo di prelievo<sup>35</sup>

Per considerazioni sulla sicurezza fare riferimento alla Sezione 1.1.

Prelevare i campioni prima della terapia antimicrobica, se possibile<sup>35</sup>.

I campioni liquidi sono preferibili rispetto ai tamponi per consentire un'indagine esauriente

Raccogliere i campioni diversi dai tamponi in appropriati contenitori impermeabili con marchiatura CE posti in sacchetti di plastica sigillati.

## 2.3 Q<sup>35</sup>

In teoria un volume minimo di 1mL

Volume di grande dimensione quali i campioni di liquido peritoneale e liquido ascitico contengono concentrazioni molto ridotte di microrganismi e di solito sono ricevuti in quantità adeguata e richiedono una concentrazione per aumentare la possibilità di successo dell'esame colturale.

Volume ridotto – liquidi quale quello sinoviale possono essere ricevuti in volumi inadeguati. Ciò ostacola il recupero dei microrganismi.

Numero e frequenza di prelievo dei campioni dipendono dalle condizioni cliniche del paziente.

## 3 Trasporto e Conservazione del Campione<sup>18,19</sup>

### 3.1 Condizioni ottimali di trasporto e conservazione

Per considerazioni sulla sicurezza fare riferimento alla Sezione 1.1.

I campioni devono essere trasportati il più presto possibile<sup>35</sup>

Se si sospetta infezione acuta e il risultato potrebbe influenzare la gestione medica, ricevere e processare il campione entro 4 ore. Il risultato della microscopia dovrebbe essere reso disponibile entro 2 ore dall'esecuzione della colorazione di Gram. ...

Se la procedura è ritardata e preferibile la refrigerazione alla conservazione a temperatura ambiente.

## 4 Processazione campione / Procedura<sup>18,19</sup>

### 4.1 Selezione della prova

All'accettazione suddividere il campione per accertamenti appropriati quali microscopia ed esame colturale per *Mycobacterium* ([B 40 – Investigation of specimens for \*Mycobacterium\* species](#)), e/o *Legionella*.

### 4.2 Aspetto

Descrivere il colore, la torbidità e se è presente un coagulo.

### 4.3 Preparazione del campione

Per tutti i campioni tranne quelli molto viscosi:

- centrifugare in un contenitore sterile chiuso a fondo conico a 1200x g per 5 - 10 minuti o preparare un citocentrifugato.

**Nota:** Se è richiesta anche la ricerca di specie *Mycobacterium*, il tempo di centrifugazione può essere aumentato a 15-20 minuti e lo stesso sedimento usato per la microscopia di routine e per la cultura.

- utilizzando una pipetta sterile trasferire quasi completamente il sopranatante, tranne 0.5 ml, in un altro contenitore impermeabile con marchiatura CE per prove addizionali qualora richieste (quali quelle virologiche)
- sospendere di nuovo il sedimento nel liquido rimanente

## 4.4 Microscopia (fare riferimento a TP 39 – Procedure di Colorazione)

### 4.4.1 Standard

#### Colorazione Gram

Per tutti i campioni eccetto quelli coagulati o viscosi:

- deporre con un'ansa sterile una goccia del sedimento del materiale centrifugato su un vetrino da microscopio pulito
- diffondere con un'ansa sterile per preparare uno striscio sottile per la colorazione Gram

#### Campioni coagulati

Se possibile, il coagulo dovrebbe essere frammentato utilizzando una pipetta sterile ed una parte utilizzata per approntare uno striscio per la colorazione di Gram.

#### Conteggio totale dei globuli bianchi

La presenza di un coagulo inficia il conteggio cellulare.

Se specificamente richiesto per la diagnosi differenziale di Peritonite Batterica Spontanea, o in accordo al protocollo locale, eseguire il conteggio totale delle cellule su campione non centrifugato utilizzando una camera di conteggio. Può essere eseguito un conteggio ematico totale, e pure un conteggio differenziale, utilizzando analizzatori automatizzati di cellule ematiche, a condizione che questi siano stati validati per la microscopia dei fluidi corporei su campioni diversi dal sangue, e che i campioni accettabili siano definiti con criteri di esclusione e in quali circostanze sia preferibile un conteggio manuale <sup>36-39</sup>.

### 4.4.2 Prove Supplementari

#### Conteggio differenziale dei leucociti

La differenziazione dei leucociti polimorfonucleati e leucociti mononucleati può essere ottenuta in due modi:

##### 1. Metodo di conteggio in camera: raccomandato per bassi conteggi di GB

###### a) Campioni non o lievemente colorati di sangue

- colorare i liquidi non centrifugati con soluzione 0.1% di colorante come la toluidina, metilene o blu nilo. Questi colorano i nuclei dei leucociti differenziando in tale modo le cellule.
- deve essere considerato il fattore di diluizione nel conteggio finale delle cellule
- conteggiare e registrare il numero di ciascun tipo di leucocita.
- esprimere il conteggio come numero di cellule per litro.

###### b) Campioni con grossolana contaminazione ematica

- diluire il campione con soluzione per GB ed attendere 5 minuti prima di eseguire il conteggio in camera. Ciò consentirà la lisi dei globuli rossi e la colorazione dei nuclei dei leucociti per la loro differenziazione
- conteggiare e registrare il numero di ciascun tipo di leucocita: il fattore di diluizione deve essere considerato quando si calcola il conteggio finale delle cellule.
- esprimere il conteggio come numero di cellule per litro.

## 2 Metodo di colorazione:

- Raccomandato per conteggi elevati di GB quando la loro differenziazione nella camera di conteggio risulta difficile.
- preparare un vetrino dal sedimento centrifugato o una preparazione con citospin come per la colorazione di Gram ma lasciare asciugare all'aria.
- fissare in alcool e colorare con colorante idoneo per differenziare la morfologia dei GB

**Nota:** La fissazione al calore distorce la morfologia cellulare.

- conteggiare e registrare il numero di ciascun tipo di leucocita come percentuale del totale.

## Microscopia per cristalli

Eseguita solo su richiesta o in accordo ai protocolli locali

- esaminare il sedimento del centrifugato per la presenza di cristalli utilizzando un microscopio a luce polarizzata (talvolta questi esami sono inviati ad altri dipartimenti o discipline specialistiche quali reumatologia, istopatologia o citologia) in funzione dei protocolli locali.
- cristalli di aspetto appuntito, birifrangenti di urato di sodio sono diagnostici per la gotta
- cristalli a bastoncino o di aspetto romboidale di pirofosfato di calcio debolmente birifrangenti sono indicativi di pseudo-gotta. Ricordare che le articolazioni colpite dalla gotta possono infettarsi secondariamente.

## Altre microscopie

- esame microscopico per specie *Mycobacterium* – consultare [B 40 – Investigation of specimens for Mycobacterium species.](#)
- immunofluorescenza diretta con anticorpi per specie *Legionella*
- Immunofluorescenza indiretta con anticorpi per specie *P. jirovecii* (spesso eseguita in altre specialità di patologia, quale l'istologia)

**Nota:** I metodi per le procedure di colorazione e le tecniche di immunofluorescenza sono contenute in MSI separate.

## 4.5 Coltura e ricerca

### 4.5.1 Pretrattamento

#### Standard

Centrifugare il campione (precedentemente preparato per la microscopia – consultare 4.4).

**Nota:** Ogni campione deve essere coltivato indipendentemente dal conteggio delle cellule.

Se si utilizzano flaconi per emocoltura, inocularli con il campione non centrifugato, idealmente al "letto" del paziente.

#### Prove supplementari

Specie *Mycobacterium* – consultare [B 40 – Investigation of specimens for Mycobacterium species.](#)

## **Processazione del campione**

Usando una pipetta sterile inoculare ogni piastra di agar e il brodo di arricchimento contenente il sedimento del centrifugato (Q 5 - Inoculation of culture media).

Diffondere l'inoculo con un'ansa sterile per ottenere colonie separate.

## **Campioni coagulati**

Seminare i frammenti del coagulo sulle piastre di agar e nel brodo di arricchimento.

Se il campione contiene solo un piccolo coagulo, questo dovrebbe essere seminato nella cultura di arricchimento o su una piastra di agar cioccolato. La parte del campione non coagulato dovrebbe essere seminata secondo la procedura normale come precedentemente descritto

## **Prove supplementari**

Se la cultura è negativa in un paziente con forte sospetto di infezione, considerare altri metodi non colturali quali la 16 S rDNA PCR ecc.

4.5.1 Terreni di coltura, condizioni e microrganismi<sup>1,40-43</sup>

Aspetti clinici/ condizioni	Campione	Terreni standard	Incubazione			Lettura colture	Microrganismo(i) ricercati
			Temp C°	Atmos	Tempo		
Infezione sospetta in sede normalmente sterile	Liquido amniotico, liquido da borsa, liquido pericardico liquido sinoviale (articolare), liquido peritoneale (ascite)  Liquido pleurico	Agar sangue	35 -37	5 – 10% CO <sub>2</sub>	40 – 48 ore	giornaliera	Qualsiasi microrganismo
		Agar per anaerobi esigenti	35 -37	anaerobiosi	40 – 48* ore*	≥40 ore	Anaerobi
		Agar cioccolato	35 -37	5 – 10% CO <sub>2</sub>	40 – 48* ore	giornaliera	Qualsiasi microrganismo
		Se si usano flaconi per emocoltura arricchiti† che possano poi sostituire la richiesta delle piastre di cui sopra, sulla base della valutazione del rischio locale.	35-37	aerobiosi	monitoraggio continuo	N/D	Qualsiasi microrganismo

Per queste situazioni aggiungere:

Aspetti clinici/ condizioni	Campione	Terreni Supplementari	Incubazione			Lettura colture	Microrganismo(i) ricercati
			Temp C°	Atmosfera	Tempo		
Peritonite	Liquido ascitico  Liquido peritoneale	Agar neomicina per anaerobi esigenti	35 -37	anaerobiosi	40 – 48 ore*	≥48hr	Anaerobi
		CLED o Agar Mac Conkey	35 -37	aerobiosi	16-24 ore	≥16 ore	Enterobacteriaceae
Aspetti clinici/ condizioni	Campione	Terreni opzionali	Incubazione			Lettura colture	Microrganismo(i) ricercati
			Temp C°	Atmosfera	Tempo		
Se esame microscopico è indicativo di infezione mista	Come appropriato	Agar selettivo Staf/strep	35 – 37	aerobiosi	16 - 24	≥16 ore	<i>S. aureus</i>  Streptococchi β-emolitici
Se sospetto clinico per funghi	Come appropriato	Agar Sabouraud o mycosel	35 – 37	aerobiosi	21 giorni	10 e 21 giorni	Muffe e Lieviti

Altri microrganismi da considerare *Mycobacterium* (B 40), specie *Chlamydia*, *Pneumocystis jirovecii*, virus.

\* le piastre possono essere incubate fino a 5-7 giorni, se si sospettano ad esempio *Nocardia* o *Actinomyces*

† Seguire le raccomandazioni del produttore

## 4.6 Identificazione

Fare riferimento alle singole SMI per l'identificazione del microrganismo.



#### 4.6.1 Livello minimo di identificazione in laboratorio

Anaerobi	Livello "anaerobi"
<a href="#">β-haemolytic streptococci</a>	Livello gruppo di Lancefield group
<a href="#">Coagulase-negative staphylococci</a>	Livello "coagulasi-negativi"
Tutti gli Altri microrganismi (incluse muffe e lieviti)	Livello specie
Specie Mycobacterium	<a href="#">B 40 - Investigation of specimens for <i>Mycobacterium</i> species</a>

I microrganismi possono essere successivamente identificati su indicazione clinica o epidemiologica.

#### 4.7 Prova di Sensibilità agli Antimicrobici

Fare riferimento alle linee guida della [British Society for Antimicrobial Chemotherapy \(BSAC\)](#) and/or [EUCAST](#)

#### 4.8 Invio per ricerche su focolaio epidemico

N/D

#### 4.9 Invio ai Laboratori di Riferimento

Per informazioni sulle prove disponibili, tempi di risposta, procedure per il trasporto e altre richieste del laboratorio di riferimento, [click here for user manuals and request forms](#).

I microrganismi con resistenze insolite o inattese, o qualora sussista un problema clinico o di laboratorio, o anomalie che richiedano approfondimenti devono essere inviati agli appropriati laboratori di riferimento

Contattare l'appropriato laboratorio nazionale di riferimento per informazioni sulle prove disponibili, tempi di consegna, procedure di trasporto ed eventuali altri richieste per 'invio del campione:

Inghilterra e Galles

<https://www.gov.uk/specialist-and-reference-microbiology-laboratory-tests-and-services>

Scozia

<http://www.hps.scot.nhs.uk/reflab/index.aspx>

Irlanda del Nord

<http://www.publichealth.hscni.net/directorate-public-health/health-protection>

## 5 Procedura di Refertazione

### 5.1 Microscopia

#### Colorazione di Gram

Refertare i GB ed i microrganismi riscontrati.

#### Conteggio cellulare (se richiesto)

Refertare il numero di GB x 10<sup>6</sup> per litro

Refertare, se richiesto, anche il numero di leucociti polimorfonucleati e mononucleati in percentuale rispetto al numero totale dei globuli bianchi,.

### **Immunofluorescenza per *P. jirovecii***

Refertare le cisti di *P. jirovecii* rilevate o non rilevate all'immunofluorescenza

Microscopia per *Legionella* e specie *Mycobacterium* ([B 40 – Investigation of specimens for \*Mycobacterium\* species](#)).

### **Tempo di risposta dell'esame microscopico**

I risultati microscopici urgenti devono essere comunicati per telefono o inviati per via elettronica entro due ore dalla esecuzione del test.

Referto scritto, 16 – 72 ore

## **5.2 Coltura**

Refertare i microrganismi isolati o

Refertare assenza di crescita.

Refertare anche i risultati delle prove supplementari.

## **5.3 Sensibilità agli antimicrobici**

Refertare le sensibilità come clinicamente suggerito. Usare in modo prudente gli antimicrobici secondo i protocolli locali e nazionali raccomandati.

## **6 Notifica al HPE<sup>44,45</sup> o Equivalente<sup>46-49</sup>**

Le Norme di Denuncia del 2010 rendono obbligatorio ai laboratori diagnostici di denunciare alla Public Health England (PHE) tutti i casi nei quali si identificano gli agenti causali elencati nella Scheda 2 della Direttiva. Le denunce devono pervenire per scritto, su carta o per via elettronica, entro sette giorni. I casi urgenti devono essere notificati il più presto possibile verbalmente: si raccomanda entro le 24 ore. Questi stessi devono essere in seguito denunciati in forma scritta entro sette giorni.

Secondo la Notification Regulations 2010 il laboratorio ricevente la notifica è l'ufficio locale della PHE. Se il caso è già stato notificato da un professionista medico abilitato, al laboratorio diagnostico è ancora richiesta la denuncia del caso qualora si riscontrino evidenze d'infezione imputabili ad agenti causali soggetti a tale disposizione.

La denuncia secondo la Direttiva dell'Health Protection (Notification) Regulations 2010 non sostituisce l'informazione volontaria alla PHE. La maggior parte dei laboratori del NHS segnala spontaneamente alla PHE gran parte delle diagnosi di laboratorio sostenute da vari agenti eziologici e molte sezioni della PHE hanno definito accordi con i laboratori locali per segnalazioni urgenti di alcuni tipi d'infezione. Queste iniziative devono continuare.

**Nota:** La linea guida dell'Health Protection Legislation Guidance (2010) include la segnalazione per Human Immunodeficiency Virus HIV & Sexually Transmitted Infections STIs, Healthcare Associated Infections e HCAs e Creutzfeldt–Jakob disease CJD da includere nel 'Notification Duties of Registered Medical Practitioners', e non al 'Notification Duties of Diagnostic Laboratories'.

<https://www.gov.uk/government/organisations/public-health-england/about/our-governance#health-protection-regulations-2010>

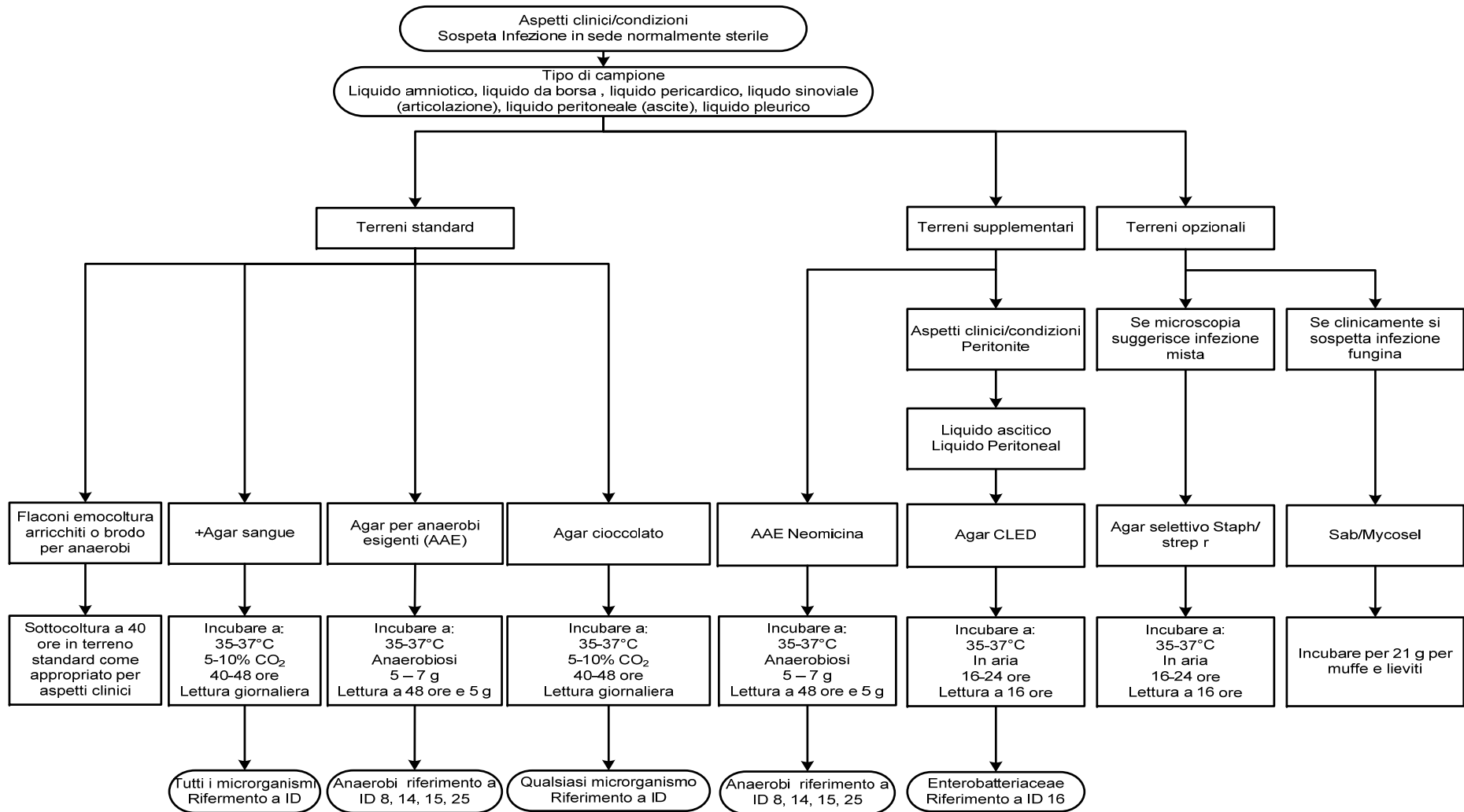
In Scozia<sup>46,47</sup>, Galles<sup>48</sup> e nell'Irlanda del Nord<sup>49</sup> sono vigenti altre disposizioni.

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

Collaboratori: Roberto Rossetti, già Primario del Laboratorio di Microbiologia, Ospedale Civile di Pistoia ASL 3  
Monica Raggi, Dirigente di primo livello del Laboratorio di Microbiologia e Virologia A.O. San Gerardo dei Tintori di 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

# Appendice: Ricerca su Liquidi da Sedi Normalmente Sterili



## Bibliografia

---

1. Bourbeau P, Riley J, Heiter BJ, Master R, Young C, Pierson C. Use of the BacT/Alert blood culture system for culture of sterile body fluids other than blood. *J Clin Microbiol* 1998;36:3273-7.
2. Tita AT, Andrews WW. Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. *Clin Perinatol* 2010;37:339-54.
3. Buhimschi IA, Buhimschi CS. The role of proteomics in the diagnosis of chorioamnionitis and early-onset neonatal sepsis. *Clin Perinatol* 2010;37:355-74.
4. Mookadam F, Moustafa SE, Sun Y, Wilson FC, Mohammed SS, Park S, et al. Infectious pericarditis: an experience spanning a decade. *Acta Cardiol* 2009;64:297-302.
5. Pankuweit S, Ristic AD, Seferovic PM, Maisch B. Bacterial pericarditis: diagnosis and management. *Am J Cardiovasc Drugs* 2005;5:103-12.
6. Fagan EA. Spontaneous bacterial peritonitis and severe biliary and fungal infections in liver disease. *Current Opinion in Infectious Diseases* 1992;5:60-5.
7. Parsi MA, Saadeh SN, Zein NN, Davis GL, Lopez R, Boone J, et al. Ascitic fluid lactoferrin for diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology* 2008;135:803-7.
8. Cheong HS, Kang CI, Lee JA, Moon SY, Joung MK, Chung DR, et al. Clinical significance and outcome of nosocomial acquisition of spontaneous bacterial peritonitis in patients with liver cirrhosis. *Clin Infect Dis* 2009;48:1230-6.
9. Bartlett JG. Bacterial infections of the pleural space. *Semin Respir Infect* 1988;3:308-21.
10. Gopi A, Madhavan SM, Sharma SK, Sahn SA. Diagnosis and treatment of tuberculous pleural effusion in 2006. *Chest* 2007;131:880-9.
11. Joseph J, Strange C, Sahn SA. Pleural effusions in hospitalized patients with AIDS. *Ann Intern Med* 1993;118:856-9.
12. Mulanovich VE, Dismukes WE, Markowitz N. Cryptococcal empyema: case report and review. *Clin Infect Dis* 1995;20:1396-8.
13. Horowitz ML, Schiff M, Samuels J, Russo R, Schnader J. Pneumocystis carinii pleural effusion. Pathogenesis and pleural fluid analysis. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:232-4.
14. Garcia-Arias M, Balsa A, Mola EM. Septic arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2011;25:407-21.
15. Mathews CJ, Coakley G. Septic arthritis: current diagnostic and therapeutic algorithm. *Curr Opin Rheumatol* 2008;20:457-62.
16. Stott NS. Review article: Paediatric bone and joint infection. *J Orthop Surg (Hong Kong)* 2001;9:83-90.
17. Aaron DL, Patel A, Kayiaros S, Calfee R. Four common types of bursitis: diagnosis and management. *J Am Acad Orthop Surg* 2011;19:359-67.
18. 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".

19. 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.
20. Health and Safety Executive. Safe use of pneumatic air tube transport systems for pathology specimens. 9/99.
21. Department for transport. Transport of Infectious Substances, 2011 Revision 5. 2011.
22. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014. 2012.
23. Home Office. Anti-terrorism, Crime and Security Act. 2001 (as amended).
24. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. The Approved List of Biological Agents. Health and Safety Executive. 2013. p. 1-32
25. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Infections at work: Controlling the risks. Her Majesty's Stationery Office. 2003.
26. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological agents: Managing the risks in laboratories and healthcare premises. Health and Safety Executive. 2005.
27. 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.
28. 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.
29. 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.
30. Health and Safety Executive. Five Steps to Risk Assessment: A Step by Step Guide to a Safer and Healthier Workplace. HSE Books. 2002.
31. Health and Safety Executive. A Guide to Risk Assessment Requirements: Common Provisions in Health and Safety Law. HSE Books. 2002.
32. Health Services Advisory Committee. Safe Working and the Prevention of Infection in Clinical Laboratories and Similar Facilities. HSE Books. 2003.
33. British Standards Institution (BSI). BS EN12469 - Biotechnology - performance criteria for microbiological safety cabinets. 2000.
34. 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
35. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson RB, Jr., et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). Clin Infect Dis 2013;57:e22-e121.

36. Penders J, Fiers T, Dhondt AM, Claeys G, Delanghe JR. Automated flow cytometry analysis of peritoneal dialysis fluid. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:463-8.
37. Froom P, Diab A, Barak M. Automated evaluation of synovial and ascitic fluids with the Advia 2120 hematology analyzer. *Am J Clin Pathol* 2013;140:828-30.
38. Lippi G, Cattabiani C, Benegiamo A, Gennari D, Pavesi F, Caleffi A, et al. Evaluation of white blood cell count in peritoneal fluid with five different hemocytometers. *Clin Biochem* 2013;46:173-6.
39. Lippi G, Cattabiani C, Benegiamo A, Gennari D, Pavesi F, Caleffi A, et al. Evaluation of the fully automated hematological analyzer Sysmex XE-5000 for flow cytometric analysis of peritoneal fluid. *J Lab Autom* 2013;18:240-4.
40. Simor AE, Scythes K, Meaney H, Louie M. Evaluation of the BacT/Alert microbial detection system with FAN aerobic and FAN anaerobic bottles for culturing normally sterile body fluids other than blood. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000;37:5-9.
41. Nylen T, Saeedi B, Borg C, Ullberg M, Ozenci V. The performance of 4 different supplements and 5 blood culture bottles types in detection of bacteria and *Candida* spp. in simulated sterile body fluid cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;77:1-4.
42. Iyer RN, Reddy AK, Gande S, Aiyangar A. Evaluation of different culture methods for the diagnosis of peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Clin Microbiol Infect* 2013.
43. Brook I. Pericarditis caused by anaerobic bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2008.
44. Public Health England. Laboratory Reporting to Public Health England: A Guide for Diagnostic Laboratories. 2013. p. 1-37.
45. Department of Health. Health Protection Legislation (England) Guidance. 2010. p. 1-112.
46. Scottish Government. Public Health (Scotland) Act. 2008 (as amended).
47. Scottish Government. Public Health etc. (Scotland) Act 2008. Implementation of Part 2: Notifiable Diseases, Organisms and Health Risk States. 2009.
48. The Welsh Assembly Government. Health Protection Legislation (Wales) Guidance. 2010.
49. Home Office. Public Health Act (Northern Ireland) 1967 Chapter 36. 1967 (as amended).