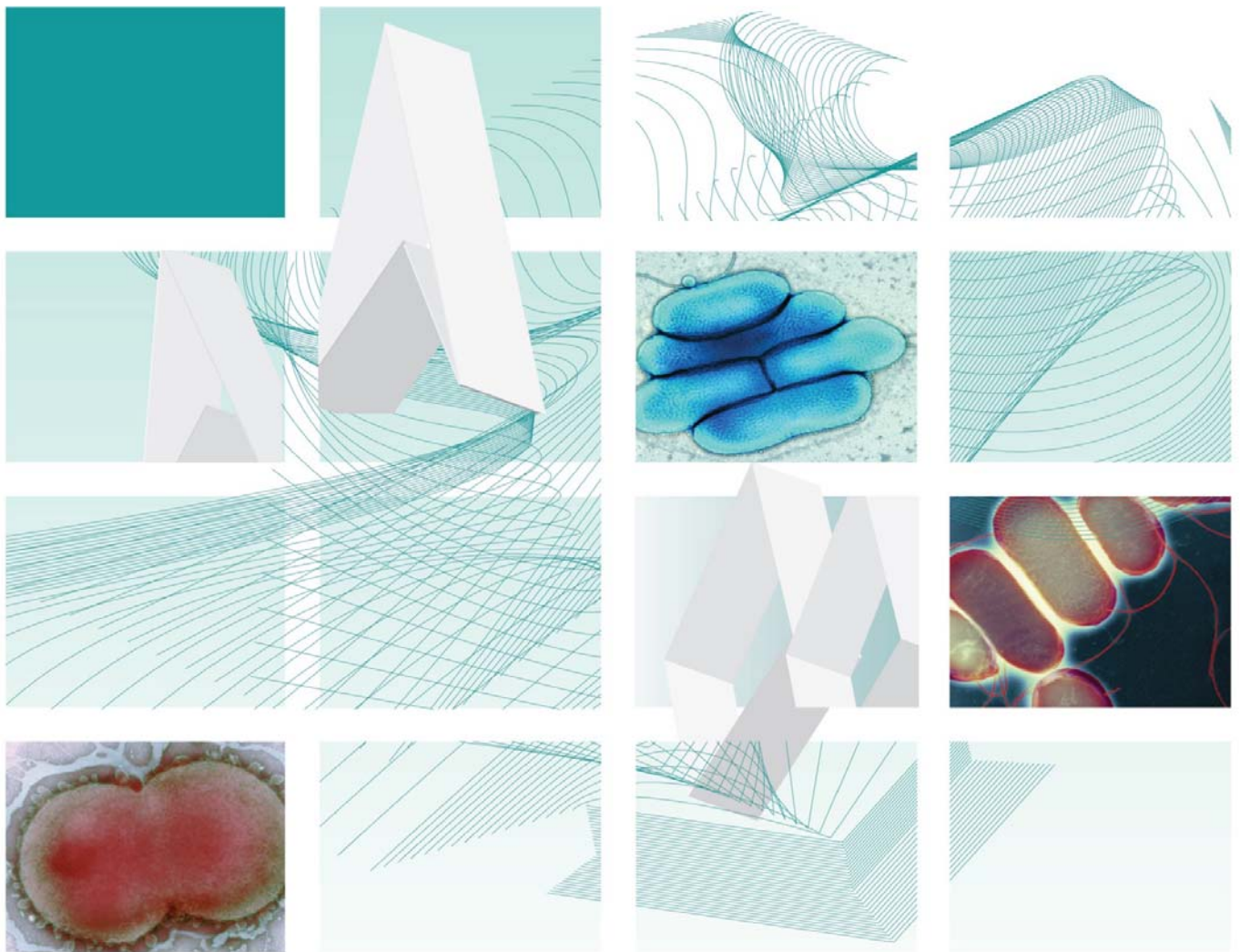




Protecting and improving the nation's health

Ricerche Microbiologiche Standard del Regno Unito

Ricerca su midollo osseo



NICE has accredited the process used by Public Health England to produce Standards for Microbiology Investigations. Accreditation is valid for 5 years from July 2011. More information on accreditation can be viewed at www.nice.org.uk/accreditation.

For full details on our accreditation visit: www.nice.org.uk/accreditation.

Emesso da Standards Unit, Microbiology Services, PHE

Batteriologia | B 38 | Emissione no: 2 | Data emission: 12.10.15 | Pagina: 1 o 22

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/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>)

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>

Numero di accesso alle pubblicazioni della PHE: 2015397

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



I loghi sono aggiornati al momento della pubblicazione

Contenuti

RINGRAZIAMENTI	2
TABELLA MODIFICHE.....	4
SMI DEL RU: SCOPO E OBIETTIVO	5
SCOPO DEL DOCUMENTO	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 PROCESSO/PROCEDURA SUL CAMPIONE	12
5 PROCEDURA DI REFERTAZIONE	15
6 NOTIFICA ALLA PHE O EQUIVALENTE	16
APPENDICE 1; RICERCA SU MIDOLLO OSSEO CON COLTURA	18
BIBLIOGRAFIA	19



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 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.	3/12.10.15
Emissione eliminata. no	1.2
Emissione inserita no.	2
Sezione(i) interessate/Pagina no.	Modifica.
Pagina 2.	Loghi aggiornati aggiunti
Scope.	Testo aggiornato per chiarezza.
Introduzione.	Riorganizzata per chiarezza. Aggiunta sezione metodi rapidi.
Informazione tecnica/limitazioni.	Aggiunta sezione su anticoagulanti.
Considerazioni sulla sicurezza.	Revisionata e aggiornata. Se non si sospettano microrganismi del Gruppo di Rischio 3, considerare di eseguire la procedura in condizioni di Contenimento di Livello 2. Aggiunta informazione riguardante le caratteristiche termiche dei funghi dimorfi.
Prelievo campione.	Raccomandato l'uso di flaconi per emocolture. Aggiunti campioni per coltura diretta, microscopia e tecniche molecolari che dovrebbero essere raccolti in appropriati contenitori impermeabili con marchiatura CE.
Processo/procedura sul campione	Aggiunte coltura diretta e tecniche molecolari Aggiornata Sezione 4.5.1 terreni di coltura, condizioni e microrganismi. Incubare i brodi di emocoltura per 5 giorni Incubare AAE per 5 giorni. Incubare agar Sabouraud per 14 giorni.
Procedura di refertazione.	Aggiunti alla refertazione i metodi molecolari.
Appendice 1.	Aggiornata in conformità alla sezione 4.5.1.

SMI del RU#: 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 ed è una condizione essenziale per interventi nel campo della sanità pubblica, della sorveglianza, e per le attività di ricerca e di sviluppo.

Collaborazione paritaria

La preparazione e stesura delle SMI è effettuata mediante collaborazione paritaria fra PHE, NHS, Royal College of Pathologists e le organizzazioni professionali. L'elenco delle organizzazioni partecipanti può essere trovato su sito <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories> L'inclusione del logo di una organizzazione in una SMI implica il sostegno degli obiettivi e del processo di preparazione del documento. I rappresentanti delle organizzazioni professionali fanno parte del comitato direttivo e dei Gruppi di Lavoro che sviluppano le SMI. Le opinioni dei rappresentanti possono non essere rigorosamente conformi a quelle dei membri delle organizzazioni a cui appartengono né a quelle delle loro organizzazioni. I rappresentanti prescelti rappresentano uno strumento bidirezionale per la consultazione e dialogo. Le opinioni espresse sono ricercate con un processo di consultazione.

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

[#]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.

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 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. Queste stesse devono essere utilizzate in associazione con altre SMI. Le prestazioni della SMI dipendono dal personale ben addestrato e dalla qualità dei reagenti e delle attrezzature utilizzate. I laboratori dovrebbero assicurare che tutti i reagenti di tipo commerciale e quelli messi a punto in laboratorio siano stati validati e risultati idonei allo scopo. I laboratori devono partecipare a programmi di valutazione di qualità esterni ed eseguire le relative procedure del controllo di qualità interno.

Coinvolgimento del paziente e della comunità

Nello sviluppo delle SMI i rispettivi Gruppi di Lavoro sono impegnati per favorire il coinvolgimento dei pazienti e dell'opinione pubblica. Grazie al coinvolgimento pubblico, di operatori sanitari, ricercatori e organizzazioni di volontariato la SMI risultante sarà strutturalmente valida e atta a soddisfare le esigenze dell'utente. L'opportunità di partecipazione per contribuire alla consultazione è estesa al pubblico con l'accesso libero al nostro sito web.

Informazione della gestione e dei dati sensibili

La PHE è un'organizzazione che condivide le direttive Caldicott. Ciò significa prendere ogni possibile precauzione per prevenire la diffusione non autorizzata di informazioni sui pazienti e di garantire che le informazioni relative agli stessi siano mantenute in condizioni di sicurezza. Lo sviluppo di metodi SMI è soggetto agli obiettivi PHE di Uguaglianza

<https://www.gov.uk/government/organisations/public-health-england/about/equality-and-diversity>.

I Gruppi di Lavoro SMI sono impegnati a raggiungere gli obiettivi di parità di consultazione efficace con gli appartenenti al pubblico, i partner, le parti interessate ed i gruppi specialistici coinvolti.

Dichiarazione Legale

Mentre ogni cura è stata intrapresa per la preparazione delle SMI, PHE e ogni altra organizzazione di sostegno, deve, per quanto possibile in base a qualunque legge vigente, escludere la responsabilità per tutte le perdite, costi, reclami, danni o spese derivanti da o connessi all'uso di una SMI o con qualsiasi informazione ivi contenuta. Se si apportano modifiche a una SMI, si deve porre in evidenza dove e da chi sono state effettuate tali modifiche.

Le conoscenze di base e la tassonomia microbica per la SMI sono le più complete possibili, al momento della pubblicazione. Eventuali omissioni e nuove informazioni saranno considerate nel corso della prossima revisione. Queste procedure standard (SMI) possono essere sostituite solo da revisioni dello standard, azione legislativa, o in seguito ad indicazioni da parte dell'ente accreditato NICE.

I diritti d'autore delle SMI sono della "Crown" e questi dovrebbero essere riconosciuti quando appropriato.

Citazione suggerita per questo documento

Public Health England. (2015). Investigation of bone marrow. UK Standards for Microbiology Investigations. B 38 Emissione 2. <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>

Scopo del Documento

Tipo di campione

Midollo osseo

Questa SMI descrive la procedura e la ricerca microbiologica su midollo osseo inviato esclusivamente per diagnosi clinica. Le tecniche descritte dalla presente SMI includono la cultura del midollo osseo per l'identificazione di batteri e funghi, nonché i metodi molecolari e le tecniche rapide. Sono disponibili altri metodi d'indagine per l'identificazione di parassiti e virus, ma non sono descritti in questa SMI.

Per la ricerca delle specie *Mycobacterium* nel midollo osseo fare riferimento a [B 40 – Investigation of specimens for *Mycobacterium* species](#).

Questa SMI deve essere usata congiuntamente alle altre SMI.

Introduzione

La ricerca microbiologica su midollo osseo usa una tecnica invasiva raramente utilizzata per indagini di pirolessia di origine ignota (PUO – pyrexia of unknown origin) ed occasionalmente per altre indicazioni¹. E' talvolta utilizzata quando ricerche meno invasive o la diagnostica per immagini non sono in grado di definire l'agente eziologico, o, più di frequente, se l'infezione fa parte della diagnosi differenziale nel caso di un'indagine per anomalie ematologiche². La dimostrazione della presenza di microrganismi nel midollo osseo, con microscopia, coltura e tecniche di amplificazione dell'acido nucleico, si è dimostrata utile per la diagnosi di infezione sostenuta da un ridotto numero di batteri, funghi, parassiti e virus.³⁻⁵

Il midollo osseo è aspirato dalla cresta iliaca posteriore o dallo sterno. Si può utilizzare anche l'agobiopsia, analizzata come esame istologico, per porre in evidenza formazioni granulomatose e microrganismi. L'agoaspirato è il campione da preferire per le ricerche microbiologiche.

Infezione in pazienti immunocompromessi

È stato suggerito che le culture di midollo osseo non dovrebbero essere eseguite per pazienti immunocompetenti, ma dovrebbero essere riservate a pazienti gravemente immunosoppressi⁶. Le condizioni che portano all'immunosoppressione significativa, quali l'infezione da HIV in fase avanzata, trapianto di midollo osseo o di organi solidi, o pazienti con elevato dosaggio terapeutico di corticosteroidi, predispongono i pazienti a infezioni da patogeni opportunisti e a favorire con maggiore probabilità un'infezione disseminata da agenti patogeni⁷. In questi casi la coltura del midollo osseo può essere utile nella definizione della febbre di origine sconosciuta (PUO - pyrexia of unknown origin)^{2,8-10}. Nella condizione d'immunosoppressione le specie *Mycobacterium*, *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Talaromyces marneffe* (già *Penicillium marneffe*) e specie *Leishmania* sono probabili cause d'infezione disseminata^{6,11}.

Microrganismi riscontrati nel midollo osseo

Nel corso di un'infezione multi-sistemica alcuni microrganismi invadono il midollo osseo, altri sono dotati di tropismo per lo stesso o per linee cellulari presenti al loro interno. In alcuni studi, la coltura del midollo ha dimostrato di essere il metodo più rapido e sensibile di isolamento per alcuni microrganismi (per esempio per specie *Brucella* e *Salmonella* Typhi), rispetto all'emocoltura. Tuttavia, in alcuni studi, sono stati riscontrati risultati e tempi di refertazione simili^{5,12-14}. Le colture di midollo

osseo possono essere positive nei pazienti con infezione acuta o cronica, mentre le emocolture hanno maggiori probabilità di essere positive nei pazienti con infezioni acute¹³. Gli aspirati midollari forniscono inoltre maggiori probabilità di positività rispetto alle emocolture nei pazienti che sono stati trattati con antibiotici^{5,15}.

L'esame del midollo osseo ha più probabilità di essere eseguito per la ricerca dei microrganismi di seguito descritti. L'elenco non è esaustivo; possono essere ricercati o isolati altri organismi.

Batteri

Salmonella Typhi e *Salmonella Paratyphi*

La *Salmonella Typhi* e le *Salmonella Paratyphi* (gruppi A, B, e C) sono i microrganismi causali di febbre enterica (tifoide) e di solito sono veicolati da esseri umani e trasmessi da alimenti o acqua contaminata⁵. La febbre enterica è l'unica infezione batterica in cui è normalmente raccomandato l'accertamento sul midollo osseo¹⁶. La coltura del midollo osseo è considerata il metodo di "riferimento" per la diagnosi di febbre tifoide. L'emocoltura può evidenziare scarsa sensibilità e la cultura dell'aspirato di midollo osseo ha dimostrato di conseguire un rendimento più elevato, anche dopo trattamento antimicrobico^{5,16}. Una ricerca ha dimostrato che 1 ml di midollo osseo ha dato un risultato equivalente a 15mL di sangue¹⁷. E' disponibile l'accertamento sierologico, ma ha scarsa sensibilità e specificità causata da reazioni crociate con altre specie di *Salmonella* e con *Enterobacteriaceae*¹⁷. Sono stati segnalati test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT) su cultura positiva di aspirati midollari, ma questi non sono ancora entrati nell'uso routinario¹⁸. Le colture di *S. Typhi* e di *S. Paratyphi* A, B o C (note o sospette) devono essere eseguite con Livello di Contenimento 3.

Specie *Brucella*

La *Brucella* è una malattia zoonotica che presenta una vasta gamma di sintomi e si ritiene che sia molto sottostimata. Le tecniche diagnostiche di laboratorio comprendono la cultura, NAAT e la ricerca di anticorpi (la presenza di anticorpi non è sempre indicativa di brucellosi attiva). L'isolamento dal sangue rappresenta la condizione ottimale ed è stato suggerito che la cultura di midollo osseo (così come del tessuto epatico e dei linfonodi) può migliorare l'isolamento in un periodo di tempo più breve^{12,13,19}.

Specie *Mycobacterium*

Le Specie *Mycobacterium* sono considerate una causa importante di piressia di origine ignota. La tubercolosi è causata principalmente da *Mycobacterium tuberculosis*. Specie di micobatteri non-tubercolari sono state isolate da un certo numero di infezioni sistemiche in pazienti HIV positivi. La cultura è considerata il 'metodo di riferimento' per la diagnosi di laboratorio, ma i tempi di incubazione possono essere lunghi³. L'uso dei sistemi continui per emocoltura riduce i tempi; i risultati positivi possono essere disponibili entro cinque - sette giorni¹⁹. La coltura del midollo osseo favorisce la diagnosi nei casi dubbi di malattia sistemica, in particolare nei pazienti con HIV^{14,20-22}. Sono attualmente in fase di sviluppo metodi molecolari per il rilevamento di questi microrganismi (consultare [B 40 – Investigation of specimens for *Mycobacterium* species](#))³.

Funghi

L'infezione da funghi dimorfi quali *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis* o *Talaromyces marneffe* (già *Penicillium marneffe*) può occasionalmente essere diagnosticata dall'esame del midollo osseo, ma la sensibilità della cultura è variabile^{11,23}. La coltura per *Histoplasma capsulatum* e di *Paracoccidioides brasiliensis* può richiedere da due a sei settimane; i sistemi di coltura con monitoraggio continuo del sangue hanno dimostrato di ridurre i tempi della

cultura di *Talaromyces marneffe* a circa quattro giorni²⁴⁻²⁶. È stato suggerito che la cultura di campioni di midollo osseo possa essere più sensibile di altre prove; tuttavia, la diagnosi è più frequentemente ottenuta dal riscontro di questi microrganismi in campioni respiratori e di tessuti¹⁴.

Parassiti

Specie *Leishmania*

Sono note oltre 20 specie di protozoi parassiti di *Leishmania*. L'uomo è infettato con il morso di femmine infette di pappataci. La malattia è endemica in cinque continenti ed in più di otto Nazioni. La Leishmaniosi si presenta con tre sindromi diverse, di tipo viscerale (nota anche Kala-azar), tipo cutaneo e mucoso. La leishmaniosi viscerale, per la quale si può eseguire la ricerca su midollo osseo, se non trattata, può essere fatale, ed è caratterizzata da febbre, perdita di peso, epato-splenomegalia, e pancitopenia²⁷. Nelle zone endemiche la co-infezione con HIV è associata ad una più rapida progressione in AIDS e l'infezione è stata trasmessa con la condivisione dell'ago dai pazienti tossicodipendenti nell'Europa sud occidentale¹

Dopo l'identificazione presunta dal rilievo di amastigoti con colorazione Giemsa, i campioni devono essere inviati al laboratorio di riferimento per la conferma. Sono stati sviluppati e valutati test di diagnosi rapida, tra cui l'agglutinazione diretta e i test immunocromatografici (TIC)^{1,28}. E' disponibile la diagnosi sierologica, ma è significativamente meno sensibile nei pazienti con coinfezione HIV in fase avanzata rispetto ai soggetti HIV negativi. I risultati negativi non dovrebbero pertanto essere utilizzati per escludere una diagnosi nei pazienti con HIV^{4,27}. Possono verificarsi reazioni crociate in soggetti con precedente esposizione a *Trypanosoma cruzi*. La puntura splenica è il test più sensibile, ma esame del midollo osseo è più sicuro e ha una sensibilità di circa 70 - 80%^{1,27}.

Virus

Nei campioni di midollo osseo possono essere rilevati molti virus. La presenza virale indica infezione, ma non necessariamente conferma la diagnosi di malattia. Il significato clinico del risultato positivo sul midollo osseo dipende dallo stato immunitario del paziente e dalla malattia/infermità in accertamento; i risultati positivi da campioni di midollo osseo devono quindi essere interpretati con cautela. NAAT o sierologia su sangue periferico sono utilizzati di routine per diagnosi d'infezione virale acuta. Nei pazienti immunocompromessi, i risultati sierologici del sangue possono essere negativi al momento dell'esordio clinico della malattia. In caso di consistente sospetto clinico d'infezione virale, ma risultati NAAT su sangue periferico negativi, la diagnosi può essere confermata con l'esame del midollo osseo.

Tecniche rapide

Metodi molecolare²⁹⁻³¹

Le Tecniche NAAT di amplificazione degli acidi nucleici (ad esempio, PCR) per l'identificazione di batteri, funghi, parassiti e virus da campioni clinici, hanno dimostrato di essere molto specifiche e sensibili. I geni conservati del genoma rappresentano gli obiettivi della PCR e permettono la rapida identificazione dei microrganismi, compresi quelli che sono a crescita lenta o non sono coltivabili. I risultati sono disponibili entro un breve lasso di tempo, in particolare se si utilizza una multiplex real-time PCR.

MALDI-TOF spettrometria di massa^{32,33}

Recenti sviluppi nell'identificazione di batteri e lieviti includono l'uso di profili proteici ribosomici 16S ottenuti con spettrometria di massa Matrix Assisted Laser Desorption ionizzazione - Time of Flight (MALDI-TOF). I picchi di massa ottenuti dai ceppi in esame sono confrontati con quelli di riferimento noti. In un breve periodo di tempo è possibile identificare un microorganismo isolato e questo metodo è sempre più usato nei laboratori per fornire un sistema di identificazione robusto, rapido ed efficace per batteri e lieviti.

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 aggiuntive, se appropriato. Prima del loro uso, i laboratori devono assicurare che tutti i saggi commerciali e in-house sono stati validati e sono idonei allo scopo

Contenitori per campioni^{34,35}

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".

Anticoagulanti³⁶

I campioni per la coltura diretta, microscopia e tecniche molecolari devono essere raccolti in appositi contenitori impermeabili con marchiatura CE. Possono essere utilizzate provette diverse contenenti anticoagulanti, prima dell'uso devono essere consultate le istruzioni del produttore.

I campioni per la coltura e la microscopia diretta possono essere inviati in una provetta sterile, o una sterile contenente eparina. I campioni per NAAT possono essere inviati in provette sterili contenenti eparina o EDTA.

1 Considerazioni sull Sicurezza^{34,35,37-51}

1.1 Prelievo, trasporto e conservazione del campione^{34,35,37-40}

Usare tecnica asettica

In teoria, si potrebbe raccogliere direttamente i campioni in flaconi per emocoltura trasportati in sacchetti di plastica sigillati.

Dovrebbero essere inviati ulteriori campioni di midollo osseo in appropriati contenitori impermeabili con marchiatura CE trasportati in sacchetti di plastica sigillati.

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

1.2 Procedura sul campione^{34,35,37-51}

In caso di microrganismi di Rischio 3 di Gruppo (come le specie *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi*, funghi dimorfici e specie *Brucella*), tutti i campioni devono essere manipolati in cabina microbiologica di sicurezza in condizioni di completo Livello di Contenimento 3.

Se non sono sospettati microrganismi di Gruppo di Rischio 3, considerare l'esecuzione della procedura in condizioni di Contenimento di Livello 2.

Tutte le procedure di laboratorio (incluso l'esame delle piastre e delle culture) devono essere condotte in un cabina microbiologica di sicurezza⁴³.

Alcuni funghi appartenenti al Gruppo di Rischio 3 sono termicamente dimorfi e cresceranno in forma di lievito nei flaconi e nelle sottocolture dell'emocoltura a 37° C, ma come muffe particolarmente infettive nelle sottocolture su piastre di agar incubate a 28-30° C. Si deve prestare attenzione con il lievito isolato se l'anamnesi segnala un viaggio significativo, soprattutto per i pazienti affetti da HIV.

Se si usano emocolture per ottenere brodo di arricchimento, ogni loro uso successivo e il conseguente smaltimento di siringhe e aghi devono essere conformi ai protocolli di sicurezza locali

I campioni devono essere posizionati su appropriati supporti.

Fare riferimento alla linea guida corrente sulla sicurezza delle manipolazioni di tutti i microrganismi presentati 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

Midollo osseo, campioni di midollo osseo inoculati in flaconi di emocoltura

2.2 Tempo ottimale e metodo di prelievo⁵²

Per considerazioni sulla sicurezza fare riferimento alla Sessione 1.1.

Prelevare i campioni prima della terapia antimicrobica se possibile⁵².

I campioni devono essere possibilmente raccolti in flaconi da emocoltura

Campioni aggiuntivi prelevati per la cultura diretta, microscopia e tecniche molecolari dovrebbero essere inseriti in contenitori impermeabili appropriati con marchiatura CE. Per informazioni sull'uso appropriato degli anticoagulanti fare riferimento alle informazioni tecniche/limitazioni.

2.3 Quantità adeguata e numero appropriato di campioni⁵²

Prelevare la maggiore quantità possibile, tenendo conto del rischio che volumi >3 mL possono contenere sangue periferico contaminato che può indurre un effetto diluente.

Il numero e la frequenza dei campioni prelevati dipendono dalle condizioni cliniche del paziente.

3 Trasporto e conservazione del campione^{34,35}

3.1 Condizioni ottimali di trasporto e conservazione

Per considerazioni sulla sicurezza fare riferimento alla Sessione 1.1.

I campioni devono essere trasportati e processati il più presto possibile⁵².

4 Processo/procedura sul campione^{34,35}

4.1 Selezione della prova

Selezionare una parte rappresentativa del campione per procedure appropriate, quale la coltura per specie *Mycobacterium*

Fare riferimento a [B 40 - Investigation of specimens for Mycobacterium species](#).

4.2 Aspetto

N/D

4.3 Preparazione del campione

4.3.1 Pretrattamento

Standard

Se non ancora eseguita, effettuare la semina dei campioni in flaconi di emocoltura ed incubare inserendoli in un sistema colturale a monitoraggio continuo. Eseguire le sottocolture dei flaconi positivi come richiesto (consultare [B 37 - Investigation of blood cultures \(for organisms other than Mycobacterium species\)](#)).

Opzionale

ND

4.3.2 Procedura sul campione

Standard

Eseguire le sottocolture dei flaconi del sistema automatico con segnale positivo secondo le procedure specifiche dei flaconi per emocoltura (consultare [B 37 - Investigation of blood cultures \(for organisms other than Mycobacterium species\)](#)),

Opzionale

I campioni raccolti in appropriati contenitori impermeabili con marchiatura CE dovrebbero essere utilizzati per la microscopia e per le prove seguenti:

Cultura diretta

Dove clinicamente indicato, può essere richiesta la coltura diretta. Fare riferimento alla sezione 4.5.

Tecniche molecolari

I campioni per i test molecolari dovrebbero essere processati secondo le istruzioni del produttore.

4.4 Microscopia

4.4.1 Standard

Colorazione Giemsa

La colorazione Giemsa dovrebbe essere effettuata per la leishmaniosi come indicato dai protocolli locali; uno striscio potrebbe essere allestito al letto del paziente o dal laboratorio ricevente.

Fare riferimento a [TP 39 – Staining procedures](#)

4.4.2 Opzionale

Colorazione di Gram

Fare riferimento a [TP 39 – Staining procedures](#)

4.4.3 Supplementare

Consultare [B 40 - Investigation of specimens for *Mycobacterium* species](#), and [TP 39 - Staining procedures](#)

4.5 Coltura e ricerca

Inoculare ciascuna piastra di agar con una pipetta sterile ([Q 5 - Inoculation of culture media for bacteriology](#)).

Per l'isolamento di colonie singole diffondere l'inoculo con un'ansa sterile.

4.5.1 Terreni di coltura, condizioni e microrganismi

Aspetti clinici/ condizioni	Campione	Terreni Standard	Incubazione			Letture Colture	Microrganismo (i) bersaglio
			Temp °C	Atmos	Tempo		
Tutte le condizioni cliniche	Midollo osseo	Brodi emocoltura in (aerobiosi e anaerobiosi) Suttocolture da tutti i flaconi in tutte le piastre seguenti.	35 – 37	Aria	5 giorni + sottocolt. terminale	Monitoraggio continuo	Qualsiasi microrganismo
Piastre sottocoltura	Midollo osseo	Agar sangue	35 – 37	5 – 10% CO ₂	40 – 48 ore	≥40 ore	Qualsiasi microrganismo
		Agar cioccolato	35 - 37	5 – 10% CO ₂	40 – 48 ore*	≥40 ore	Qualsiasi microrganismo
		AAE	35-37	Anaerobiosi	5 giorni	3 giorni e 5 giorni	Anaerobi
Per queste situazioni, aggiungere i seguenti							
Aspetti clinici/ condizioni	Campione	Terreni Supplementari	Incubazione			Letture Colture	Microrganismo (i) bersaglio
			Temp °C	Atmos	Tempo		
Infezione fungina sistemica	Midollo osseo	Agar Sabouraud agar (becco di clarino)	28 - 30	Aria	14 giorni	Giornaliera	Lieviti e muffe
Quando indicato clinicamente	Midollo osseo	Coltura diretta: Agar sangue	35 – 37	5 – 10% CO ₂	40 – 48 ore	≥40 ore	Qualsiasi microrganismo
		Agar cioccolato					
		AAE	35 – 37	5 – 10% CO ₂	40 – 48 ore*	≥40 ore	Qualsiasi microrganismo
			35-37	Anaerobi	5 d	3 giorni e 5 giorni	Anaerobi
Tecnica Molecolare Opzionale							
Aspetti clinici/ condizioni	Campione	Tecnica Molecolare	Istruzioni			Microrganismo (i) bersaglio	
Tutte le condizioni	Midollo osseo	NAAT	Seguire le istruzioni del produttore			Qualsiasi microrganismo	
Altri Microrganismi da considerare- Specie <i>Mycobacterium</i> (consultare B 40 - Investigation of specimens for Mycobacterium species), funghi, parassiti (considerare B 31 - Investigation of specimens other than blood for parasites) e virus (fare riferimento a https://www.gov.uk/government/collections/standards-for-microbiology-investigations-smi#virology).							
* Se si sospetta infezione da Brucella il tempo d'incubazione può essere aumentato fino a 5 giorni							

4.6 Identificazione

Per l'identificazione dei microrganismi fare riferimento alle singole SMI.

4.6.1 Minimi livello di identificazione in laboratorio

Qualsiasi microrganismo a livello di specie

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

Nota: Tutti i microrganismi ritenuti contaminanti possono non richiedere identificazione a livello di specie.

4.7 Prova di Sensibilità agli Antimicrobici

Fare riferimento alle linee guida della [British Society for Antimicrobial Chemotherapy \(BSAC\)](#) e/o [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](#).

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

Fare riferimento ai protocolli locali

5.1.1 Standard

Colorazione Giemsa

Segnalare come indicato dai protocolli locali

5.1.2 Opzionale

Colorazione di Gram

Refertare il organismo isolato

Supplementari

Per il referto di microscopia delle specie *Mycobacterium* fare riferimento a [B 40 – Investigation of specimens for *Mycobacterium* species](#).

5.1.3 Tempo di refertazione microscopia

Tutti i risultati dovrebbero essere rilasciati al medico richiedente non appena disponibili, tranne che siano state concordate disposizioni alternative specifiche.

I risultati urgenti devono essere comunicati per telefono o trasmessi elettronicamente in conformità con le direttive locali

5.2 Coltura

Dovrebbero essere refertati i seguenti risultati:

- Isolati clinicamente significativi o
- Altri tipi di crescita o
- Assenza di crescita

5.2.1 Tempo di refertazione delle colture

Non appena viene rilevata una crescita dovrebbero essere rilasciati risultati parziali o preliminari sulla rilevazione di isolati clinici potenzialmente significativi, tranne che con i richiedenti siano state concordate disposizioni alternative specifiche.

I risultati urgenti devono essere comunicati per telefono o trasmessi elettronicamente in conformità con le regolamentazioni locali.

I referti finali scritti o generati dal computer dovrebbero seguire nel più breve tempo possibile le segnalazioni preliminari e verbali.

5.3 Molecolare

Refertare i risultati secondo le istruzioni del produttore

5.4 Sensibilità agli antimicrobici

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

6 Notifica al PHE^{42,43} o Equivalente⁴⁴⁻⁴⁷

Le Norme di Denuncia del 2010 rendono obbligatorio ai laboratori diagnostici di denunciare alla Public Health England (PHE) tutti i casi nei quali s'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 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 al 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'.

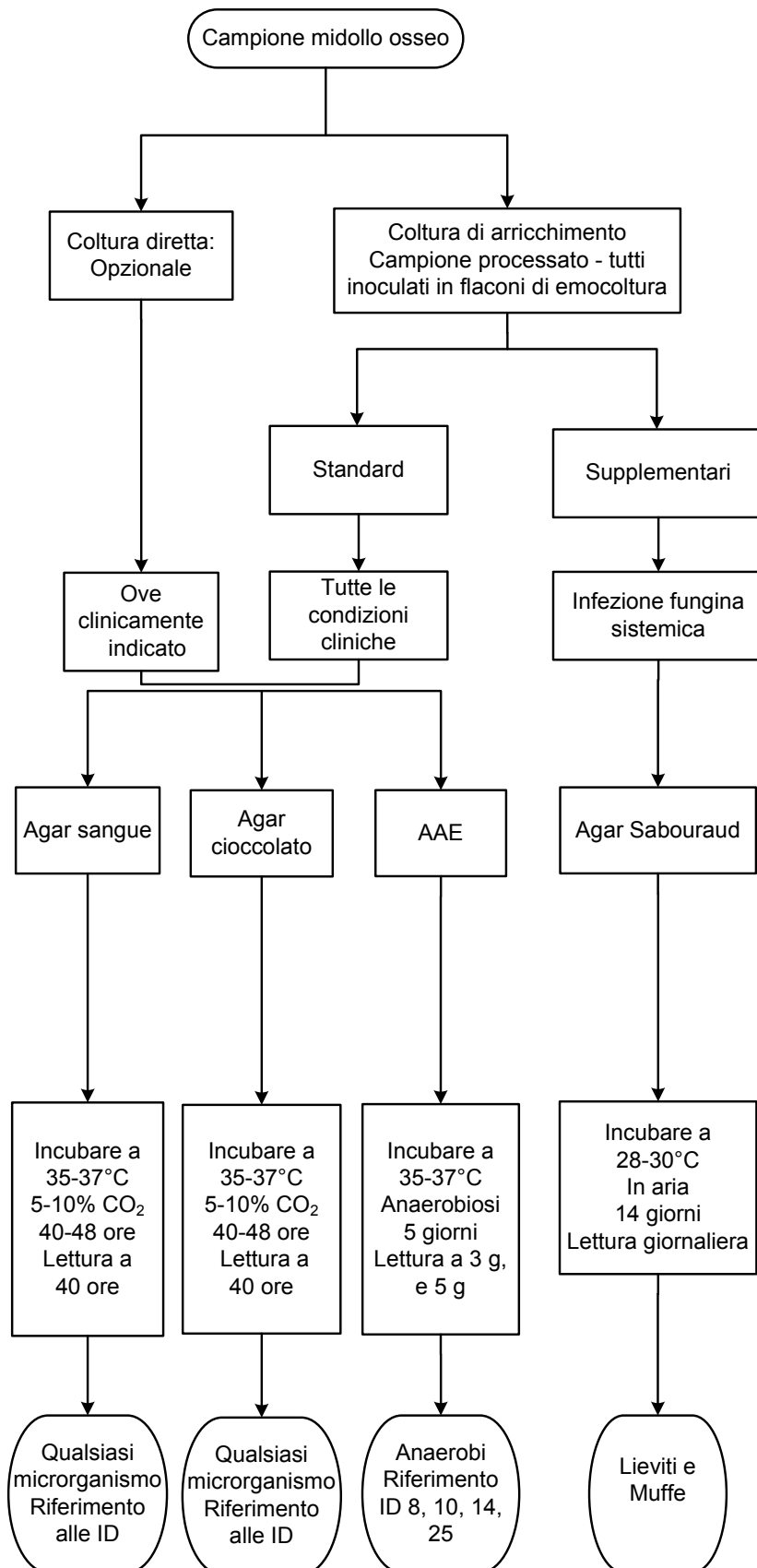
<https://www.gov.uk/government/organisations/public-health-england/about/our-governance#health-protection-regulations-2010>

Esistono accordi diversi in [Scotland](#)^{55,56}, [Wales](#)⁵⁷ and [Northern Ireland](#)⁵⁸

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

Appendice 1: Ricerca su midollo osseo con coltura



Bibliografia

1. World Health Organization. The leishmaniasis and Leishmania/HIV co-infections. WHO. 2007.
2. Volk EE, Miller ML, Kirkley BA, Washington JA. The diagnostic usefulness of bone marrow cultures in patients with fever of unknown origin. *Am J Clin Pathol* 1998;110:150-3.
3. Singh UB, Bhanu NV, Suresh VN, Arora J, Rana T, Seth P. Utility of polymerase chain reaction in diagnosis of tuberculosis from samples of bone marrow aspirate. *Am J Trop Med Hyg* 2006;75:960-3.
4. Cota GF, de Sousa MR, Demarqui FN, Rabello A. The diagnostic accuracy of serologic and molecular methods for detecting visceral leishmaniasis in HIV infected patients: meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 2012;6:e1665.
5. Parry CM, Wijedoru L, Arjyal A, Baker S. The utility of diagnostic tests for enteric fever in endemic locations. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011;9:711-25.
6. Riley UB, Crawford S, Barrett SP, Abdalla SH. Detection of mycobacteria in bone marrow biopsy specimens taken to investigate pyrexia of unknown origin. *J Clin Pathol* 1995;48:706-9.
7. Bishburg E, Eng RH, Smith SM, Kapila R. Yield of bone marrow culture in the diagnosis of infectious diseases in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Microbiol* 1986;24:312-4.
8. Jha A, Sarda R, Gupta A, Talwar OP. Bone marrow culture vs. blood culture in FUO. *JNMA J Nepal Med Assoc* 2009;48:135-8.
9. Quesada AE, Tholpady A, Wanger A, Nguyen AN, Chen L. Utility of bone marrow examination for workup of fever of unknown origin in patients with HIV/AIDS. *J Clin Pathol* 2015;68:241-5.
10. Dutta AK, Sood R, Sing UB, Kapil A, Samantaray JC. Diagnostic application of conventional and newer bone marrow examination techniques in fever of unknown origin. *Journal Indian Academy of Clinical Medicine* 2013;14:23-7.
11. Han N, Wu L. Bone marrow aspirate showing *Penicillium marneffeii*. *Blood* 2014;124:1689.
12. Smitha B, Peerapur BV. Utility of bone marrow culture in the definitive diagnosis of human brucellosis. *J Commun Dis* 2010;42:169-70.
13. Mantur BG, Mulimani MS, Bidari LH, Akki AS, Tikare NV. Bacteremia is as unpredictable as clinical manifestations in human brucellosis. *Int J Infect Dis* 2008;12:303-7.
14. Kilby JM, Marques MB, Jaye DL, Tabereaux PB, Reddy VB, Waites KB. The yield of bone marrow biopsy and culture compared with blood culture in the evaluation of HIV-infected patients for mycobacterial and fungal infections. *Am J Med* 1998;104:123-8.
15. Farooqui BJ, Khurshid M, Ashfaq MK, Khan MA. Comparative yield of *Salmonella typhi* from blood and bone marrow cultures in patients with fever of unknown origin. *J Clin Pathol* 1991;44:258-9.
16. Wain J, Pham VB, Ha V, Nguyen NM, To SD, Walsh AL, et al. Quantitation of bacteria in bone marrow from patients with typhoid fever: relationship between counts and clinical features. *J Clin Microbiol* 2001;39:1571-6.
17. Wain J, Diep TS, Bay PV, Walsh AL, Vinh H, Duong NM, et al. Specimens and culture media for the laboratory diagnosis of typhoid fever. *J Infect Dev Ctries* 2008;2:469-74.

18. Nga TV, Karkey A, Dongol S, Thuy HN, Dunstan S, Holt K, et al. The sensitivity of real-time PCR amplification targeting invasive *Salmonella* serovars in biological specimens. *BMC Infect Dis* 2010;10:125.
19. Ozturk R, Mert A, Kocak F, Ozaras R, Koksak F, Tabak F, et al. The diagnosis of brucellosis by use of BACTEC 9240 blood culture system. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2002;44:133-5.
20. Rose PC, Schaaf HS, Marais BJ, Gie RP, Stefan DC. Value of bone marrow biopsy in children with suspected disseminated mycobacterial disease. *Int J Tuberc Lung Dis* 2011;15:200-4, i.
21. van Schalkwyk WA, Opie J, Novitzky N. The diagnostic utility of bone marrow biopsies performed for the investigation of fever and/or cytopenias in HIV-infected adults at Groote Schuur Hospital, Western Cape, South Africa. *Int J Lab Hematol* 2011;33:258-66.
22. Grewal R, Abayomi EA. Bone marrow morphological features and diagnostic value in paediatric disseminated tuberculosis in the setting of increased HIV prevalence. *S Afr Med J* 2013;103:326-9.
23. Guarner J, Brandt ME. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century. *Clin Microbiol Rev* 2011;24:247-80.
24. Munoz C, Gomez BL, Tobon A, Arango K, Restrepo A, Correa MM, et al. Validation and clinical application of a molecular method for identification of *Histoplasma capsulatum* in human specimens in Colombia, South America. *Clin Vaccine Immunol* 2010;17:62-7.
25. Buitrago MJ, Bernal-Martinez L, Castelli MV, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M. Histoplasmosis and paracoccidioidomycosis in a non-endemic area: a review of cases and diagnosis. *J Travel Med* 2011;18:26-33.
26. Wong SY, Wong KF. *Penicillium marneffei* Infection in AIDS. *Patholog Res Int* 2011;2011:764293.
27. Pintado V, Martin-Rabadan P, Rivera ML, Moreno S, Bouza E. Visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected patients. A comparative study. *Medicine (Baltimore)* 2001;80:54-73.
28. World Health Organization. Diagnostic evaluation Series No.4: Visceral leishmaniasis rapid diagnostic test performance. 2011.
29. Antinori S, Calattini S, Longhi E, Bestetti G, Piolini R, Magni C, et al. Clinical use of polymerase chain reaction performed on peripheral blood and bone marrow samples for the diagnosis and monitoring of visceral leishmaniasis in HIV-infected and HIV-uninfected patients: a single-center, 8-year experience in Italy and review of the literature. *Clin Infect Dis* 2007;44:1602-10.
30. Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, Buckwalter SP, Jones MF, Vetter EA, et al. Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:165-256.
31. Martagon-Villamil J, Shrestha N, Sholtis M, Isada CM, Hall GS, Bryne T, et al. Identification of *Histoplasma capsulatum* from culture extracts by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2003;41:1295-8.
32. Carbonnelle E, Mesquita C, Bille E, Day N, Dauphin B, Beretti JL, et al. MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory. *Clin Biochem* 2011;44:104-9.
33. van Veen SQ, Claas ECJ, Kuijper EJ. High-Throughput Identification of Bacteria and Yeast by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry in Conventional Medical Microbiology Laboratories. *J Clin Microbiol* 2010;48:900-7.

34. 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".
35. 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.
36. Lee SH, Erber WN, Porwit A, Tomonaga M, Peterson LC. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *Int J Lab Hematol* 2008;30:349-64.
37. Health and Safety Executive. Safe use of pneumatic air tube transport systems for pathology specimens. 9/99.
38. Department for transport. Transport of Infectious Substances, 2011 Revision 5. 2011.
39. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014. 2012.
40. Home Office. Anti-terrorism, Crime and Security Act. 2001 (as amended).
41. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. The Approved List of Biological Agents. Health and Safety Executive. 2013. p. 1-32
42. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Infections at work: Controlling the risks. Her Majesty's Stationery Office. 2003.
43. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological agents: Managing the risks in laboratories and healthcare premises. Health and Safety Executive. 2005.
44. 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.
45. 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.
46. 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.
47. Health and Safety Executive. Five Steps to Risk Assessment: A Step by Step Guide to a Safer and Healthier Workplace. HSE Books. 2002.
48. Health and Safety Executive. A Guide to Risk Assessment Requirements: Common Provisions in Health and Safety Law. HSE Books. 2002.
49. Health Services Advisory Committee. Safe Working and the Prevention of Infection in Clinical Laboratories and Similar Facilities. HSE Books. 2003.
50. British Standards Institution (BSI). BS EN12469 - Biotechnology - performance criteria for microbiological safety cabinets. 2000.
51. 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

52. 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.
53. Public Health England. Laboratory Reporting to Public Health England: A Guide for Diagnostic Laboratories. 2013. p. 1-37.
54. Department of Health. Health Protection Legislation (England) Guidance. 2010. p. 1-112.
55. Scottish Government. Public Health (Scotland) Act. 2008 (as amended).
56. Scottish Government. Public Health etc. (Scotland) Act 2008. Implementation of Part 2: Notifiable Diseases, Organisms and Health Risk States. 2009.
57. The Welsh Assembly Government. Health Protection Legislation (Wales) Guidance. 2010.
58. Home Office. Public Health Act (Northern Ireland) 1967 Chapter 36. 1967 (as amended).