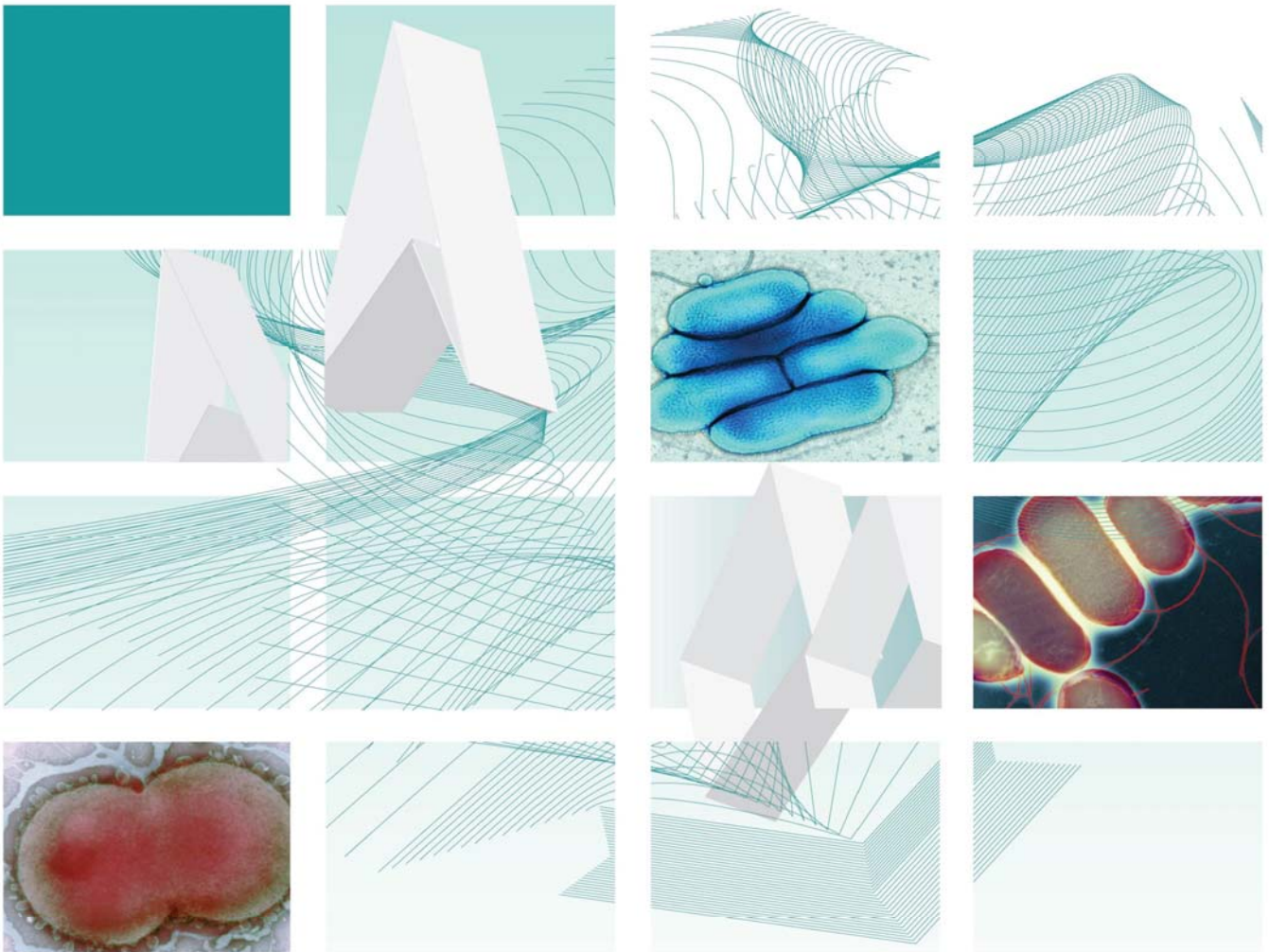




Ricerche Microbiologiche: Procedure Standard del Regno Unito

Identificazione di Bastoncini Gram Negativi Anaerobi

IN REVISIONE



Ringraziamenti

Le Procedure Standard del Regno Unito per le Ricerche Microbiologiche (SMI - Standards for Microbiology Investigations) sono sviluppate sotto l'egida della Public Health England (PHE) in collaborazione con il Servizio Sanitario Nazionale (NHS - National Health Service), la Sanità Pubblica del Galles e con le organizzazioni professionali i cui loghi sono di seguito elencati sul sito web <http://www.hpa.org.uk/SMI/Partnerships>. Le SMI sono sviluppate, revisionate e controllate da diversi gruppi di lavoro che sono supervisionati da un comitato direttivo (consultare <http://www.hpa.org.uk/SMI/WorkingGroups>).

Si ringraziano per contributi forniti i numerosi operatori dei laboratori clinici, gli specialisti e i laboratori di riferimento che hanno fornito informazioni e commenti durante lo sviluppo di questo documento. Si ringraziano i Revisori Medici per le modifiche apportate ai contenuti clinici.

Per ulteriori informazioni contattare:

Standards Unit
Microbiology Services
Public Health England
61 Colindale Avenue
London NW9 5EQ

E-mail: standards@phe.gov.uk

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

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



Institute of
Biomedical
Science



Society for Anaerobic Microbiology



The Association for
Clinical Biochemistry
Microbiology Group



UK Clinical Mycology Network
UK CMN
Promoting quality in Medical Mycology



GIG
CYMRU
NHS
WALES | Iechyd Cyhoeddus
Cymru
Public Health
Wales



BSMT
BRITISH SOCIETY FOR MICROBIAL TECHNOLOGY



The British Society for
Antimicrobial Chemotherapy



Scottish Microbiology
and Virology Network



SCOTTISH MICROBIOLOGY
ASSOCIATION

society for general
Microbiology
www.sgm.ac.uk



The Royal College of Pathologists
Pathology: the science behind the cure

BIAMA
British Infection Association

Contenuti

RINGRAZIAMENTI.....	2
TABELLA MODIFICHE	4
RICERCHE MICROBIOLOGICHE STANDARD DEL REGNO UNITO: SCOPO E OBIETTIVO.....	5
OBIETTIVO.....	5
SCOPO DEL DOCUMENTO	8
INTRODUZIONE.....	8
INFORMAZIONE TECNICA/LIMITAZIONI.....	9
1 CONSIDERAZIONI SULLA SICUREZZA	10
2 MICRORGANISMI BERSAGLIO.....	10
3 IDENTIFICAZIONE	11
4 IDENTIFICAZIONE DI BASTONCINI GRAM NEGATIVI ANAEROBI	14
5 REFERTAZIONE	15
5 INVIO	15
9 NOTIFICA ALLA PHE O EQUIVALENTE.....	16
BIBLIOGRAFIA	17



NICE ha accreditato la procedura usata dalla Public Health England per elaborare gli Standards for Microbiology Investigations. L'accreditamento è valido per 5 anni dal Luglio 2011. Informazioni più dettagliate sull'accreditamento possono essere consultate: www.nice.org.uk/accreditation.

Per ulteriori informazioni sul nostro accreditamento consultare: : www.nice.org.uk/accreditation

Tabella delle Modifiche

Ciascun metodo SMI possiede una registrazione separata delle correzioni. Quelle attuali sono specificate in questa pagina. Le precedenti modifiche sono disponibili presso la standards@phe.gov.uk.

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

Modifica No/Data.	4/12.03.14
Emissione eliminata. no	1.3
Emissione inserita no.	1.4
Sezione(i) interessate/Pagina no.	Modifica.
Documento intero .	<p>Il documento è stato inserito in un nuovo formato che evidenzia il passaggio della Health Protection Agency alla Public Health England.</p> <p>Prima pagina ridisegnata.</p> <p>Rinominata la pagina di “Stato come Scopo” e Obiettivo ed aggiornata in modo appropriato.</p> <p>I loghi delle organizzazioni professionali sono stati revisionati ed aggiornati.</p> <p>Revisionati e aggiornati Standard di sicurezza e referenti delle denunce</p> <p>Il contenuto scientifico rimane invariato.</p>

Modifica No/Data.	3/04.12.12
Emissione eliminata. no	1.2
Emissione inserita no.	1.3
Sezione(i) interessate.	Modifica.
Intero documento	Documento presentato in nuovo formato.
Principi di identificazione	Sezione modificata

Ricerche Microbiologiche Standard del Regno Unito[#]: Scopo e Obiettivo

Utilizzatori delle SMI

- Nel Regno Unito le SMI sono principalmente destinate come risorsa generale ai professionisti che operano nel campo della medicina di laboratorio e delle malattie infettive.
- Le SMI forniscono ai clinici informazioni in merito allo standard dei servizi di laboratorio riferibili alle ricerche per la diagnosi delle infezioni nei loro pazienti e le documentazioni forniscono indicazioni che facilitano la prenotazione elettronica di tests appropriati da parte dei reparti ospedalieri.
- Le SMI forniscono gli standard per le ricerche microbiologiche anche ai responsabili della sanità pubblica che devono considerarle come parte delle procedure da adottare per la salute (sia clinica che pubblica) per la propria popolazione.

Informazioni di Base per le SMI

Le SMI comprendono algoritmi e procedure raccomandate che riguardano tutte le componenti del processo diagnostico dalla fase pre-analitica (sindrome clinica) alle diverse fasi analitiche (prove di laboratorio) e post-analitiche (interpretazione e comunicazione dei risultati).

Gli algoritmi delle sindromi sono corredati da informazioni più dettagliate contenenti consigli sulle indagini per specifiche malattie e infezioni. Note orientative riguardano il contesto clinico, la diagnosi differenziale e indagini appropriate per particolari condizioni cliniche. Le note orientative descrivono metodologie di laboratorio essenziali che sono alla base della qualità, ad esempio la validazione della prova, la garanzia della qualità, la definizione dell'incertezza della determinazione.

La Standardizzazione del processo diagnostico conseguente all'adozione delle SMI consente di garantire in tutto il Regno Unito strategie d'indagine equivalenti nei diversi laboratori ed è una condizione essenziale per interventi nel campo della sanità pubblica, della sorveglianza, e per le attività di ricerca e di sviluppo. Nel Regno Unito le SMI rappresentano strategie omogenee per le prove diagnostiche e la programmazione degli interventi di sanità pubblica

Collaborazione Paritaria

La preparazione e stesura delle SMI è effettuata mediante collaborazione paritaria fra PHE, NHS, Royal College of Pathologists e le organizzazioni professionali.

L'elenco delle organizzazioni partecipanti può essere trovato su sito

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

L'inclusione del logo di una organizzazione in una

SMI implica il sostegno degli obiettivi e del processo di preparazione del documento. I

rappresentanti delle organizzazioni professionali fanno parte del comitato direttivo e dei Gruppi di

Lavoro che sviluppano le SMI. Le opinioni dei rappresentanti possono non essere rigorosamente

conformi a quelle dei membri delle organizzazioni a cui appartengono né a quelle delle loro

organizzazioni. I rappresentanti prescelti rappresentano uno strumento bidirezionale per la

consultazione e dialogo. Le opinioni espresse sono ricercate con un processo di consultazione.

Le SMI sono sviluppate, revisionate ed aggiornate con un ampio processo di consultazione

[#] Microbiologia è usato come termine generico per includere le due specialità di Microbiologia Medica riconosciute dal GMC (General Medical Council), (che comprende Batteriologia, Micologia e Parassitologia) e la Virologia Medica.

Assicurazione di Qualità

Il NICE (National Institute for Health and Care Excellence) ha accreditato la procedura utilizzata dai Gruppi di Lavoro per produrre le SMI. L'accREDITamento è applicabile a tutte le linee guida prodotte dall'Ottobre del 2009. La procedura per lo sviluppo delle SMI è certificata dalla ISO 9001:2008.

Le SMI rappresentano una procedura standard di buona qualità pratica alla quale si devono attenere per la propria attività tutti i laboratori di microbiologia clinica e di sanità pubblica del Regno Unito. Le SMI sono accreditate dal NICE e non rappresentano gli standard minimi di attività, e neppure il più alto livello di complesse indagini di laboratorio disponibili nel Regno Unito. Utilizzando le SMI, i laboratori dovranno tenere conto delle esigenze locali e intraprendere ricerche addizionali qualora opportune. Le SMI aiutano i laboratori a soddisfare i requisiti dell'accREDITamento con la promozione di procedure d'elevata qualità che possono essere verificate. Le SMI forniscono inoltre un punto di riferimento per lo sviluppo del metodo. Queste stesse devono essere utilizzate in associazioni con altre SMI.

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

Coinvolgimento del Paziente e della Comunità

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

Informazione della Gestione e dei Dati Sensibili

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

Lo sviluppo di metodi SMI è assoggetto agli obiettivi PHE di Uguaglianza http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1317133470313. I Gruppi di Lavoro SMI sono impegnati a raggiungere gli obiettivi di parità di consultazione efficace con gli appartenenti al pubblico, i partner, le parti interessate ed i gruppi specialistici coinvolti.

Dichiarazione Legale

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

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

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

Citazione Suggesta per questo Documento

Public Health England. (2014). Identification of Anaerobic Gram Negative Rods. UK Standards for Microbiology Investigations. ID 25 Emissione 1.4. <http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>.

IN REVISIONE

Scopo del Documento

Questa SMI descrive l'identificazione di batteri anaerobi gram negativi non sporigeni e non ramificati.

Gli anaerobi sporigeni sono descritti nella [ID 8 - Identification of *Clostridium* species](#). [ID 15 – Identification anaerobic *Actinomyces* species](#) e [ID 10 - Identification of aerobic actinomycetes](#) descrive l'identificazione degli actinomiceti. I Cocchi anaerobi sono descritti nella [ID 14 – Identification of anaerobic cocci](#).

Questa SMI deve essere usata congiuntamente alle altre SMI.

Introduzione

Tassonomia

La tassonomia dei batteri anaerobi è in continua evoluzione per la costante definizione di nuove specie e per la nuova classificazione di quelle vecchie¹. Un esempio di ciò è fornito dal genere *Bacteroides*. In precedenza questo genere includeva le specie saccarolitiche pigmentate che ora appartengono al genere *Prevotella*, mentre le specie asaccarolitiche sono state assegnate al genere *Porphyromonas*^{2,3}.

Sono noti più di 20 generi di bastoncini anaerobi Gram-negativi. Gli isolati di maggior riscontro nell'uomo appartengono ai generi *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* e *Prevotella*.

Caratteristiche

Specie *Bacteroides*

Le specie *Bacteroides* sono costituite da microrganismi a forma bastoncellare di varie dimensioni, molti di loro sono pleiomorfi e presentano rigonfiamento centrale o terminale, vacuoli o filamenti. I *Bacteroides* sono resistenti alla bile, esulina positivi e fermentano i carboidrati. *Bacteroides fragilis* è la specie di più frequente riscontro nei campioni clinici.

Specie *Fusobacterium*

Le specie *Fusobacterium* sono rappresentate da bastoncini fusiformi quali il *Fusobacterium nucleatum* o pleiomorfi quali il *Fusobacterium necrophorum*. Queste due specie sono quelle di maggior isolamento dai materiali clinici di origine umana. *F. necrophorum* è responsabile di una grave infezione (necrobacillosi o malattia di Lemière) diagnosticata di solito in giovani adulti ed è causa anche di faringodinia ricorrente⁴ Può essere rilevato per la caratteristica produzione di colonie di colore crema-giallo, indolo positive e fluorescenti alla luce UV, produce lipasi sui terreni contenenti tuorlo d'uovo

Le specie *Fusobacterium* si sviluppano sugli agar per anaerobi esigenti (AAE) o contenenti sangue, possono presentare fluorescenza giallo-verde (chartreuse) se esposte ad onde ultraviolette lunghe (365 nm). Questa possibilità dipende dalle caratteristiche del terreno⁵.

Specie *Porphyromonas*

Il genere *Porphyromonas* include specie asaccarolitiche, catalasi-negative di origine umana ed animale. Queste sono rappresentate da bastoncini corti (0.5 - 0.8 x 1.0 - 3.0 µm) sensibili alla bile.

La maggior parte delle specie *Porphyromonas* sono isolate da campioni umani e sono catalasi-negative, quelle di origine animale sono catalasi-positive⁶.

Alcune specie *Porphyromonas* possono manifestare fluorescenza rosso mattone se esposte ad onde ultraviolette lunghe (365 nm) ed essere pigmentate (da color marrone camoscio rossiccio a nero) se crescono su terreni contenenti sangue per produzione di porfirine⁵.

Specie Prevotella

Il genere *Prevotella* è costituito prevalentemente da batteri saccarolitici e specie pigmentate o non, in precedenza classificato come *Bacteroides*, di solito sono microrganismi pleiomorfi.

Le colture recenti delle specie *Prevotella* possono essere fluorescenti di colore brillante se esposte a onde ultraviolette lunghe (365 nm) e manifestare gradazione pigmentata da marrone rossiccio a nero se si sviluppano per periodi prolungati su terreni contenenti sangue.

Principi di Identificazione

Di solito le colonie sono isolate su agar AAE (o equivalenti) o agar sangue con incubazione in anaerobiosi. Queste possono essere caratterizzate per la loro morfologia, colorazione al Gram e sono per lo più sensibili al disco da 5 µg di metronidazolo. Per la crescita alcune specie possono richiedere oltre le 48 ore d'incubazione. L'identificazione è eseguita prevalentemente su indicazione clinica. Le prove d'identificazione successiva includono: ricerca della fluorescenza con onde UV lunghe (365 nm), produzione di pigmento ed indolo, resistenza alla bile, fermentazione del glucosio, attività lecitinasica e/o lipasica su agar tuorlo d'uovo. La classificazione di numerose specie o generi anaerobi richiede successive prove biochimiche o analisi con GCL per il rilievo dei prodotti metabolici finali. L'identificazione può essere ottenuta con le confezioni commerciali, ma i loro risultati non sempre sono attendibili. L'identificazione dei microrganismi clinicamente significativi o di insolito riscontro può essere richiesta all'Anaerobe Reference Laboratory, Cardiff. I campioni clinici per le colture anaerobiche possono essere seminati su terreni selettivi quali l'agar neomicina e su terreni al sangue non selettivi per anaerobi esigenti.

Informazione Tecnica/Limitazioni

L'agar neomicina è usato nelle colture miste per inibire la crescita dei microrganismi facoltativi; alle volte queste caratteristiche producono effetti negativi su alcuni anaerobi impedendo la loro crescita.

Nei laboratori diagnostici clinici la sensibilità al metronidazolo è utilizzata come indicatore per la presenza di anaerobi nel campione clinico. Alcuni anaerobi però, quali *Bacteroides fragilis*, manifestano un aumento della resistenza verso questa molecola e la procedura adottata può pertanto indurre il mancato riconoscimento di questi microrganismi. E' comunque importante considerare la sensibilità al metronidazolo degli anaerobi nei campioni clinici o nelle condizioni in cui si sospetta la loro presenza.

1 Considerazioni sulla Sicurezza⁷⁻²³

Fare riferimento alle linee guida attuali per la sicurezza durante la manipolazione di tutti i microrganismi presentati in questa SMI.

Le manipolazioni di laboratorio che si ritiene possano generare aerosol infettivi devono essere eseguite in cabina microbiologica di sicurezza.

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

E' essenziale l'adeguamento alle regolamentazioni della posta e del trasporto

2 Microrganismi Bersaglio

<p>Gruppo <i>Bacteroides fragilis</i> segnalata per avere causato infezione nell'uomo</p>	<p><i>B. fragilis</i> <i>B. ovatus</i> <i>B. caccae</i> <i>B. stercoralis</i> <i>B. distasonis</i> <i>B. thetaiotaomicron</i> <i>B. eggerthii</i> <i>B. uniformis</i> <i>B. merdae</i> <i>B. vulgatus</i></p>
<p>Specie <i>Bacteroides</i> (classificazione tassonomica incerta) segnalate per aver causato infezione nell'uomo</p>	<p><i>B. capillosus</i> <i>B. pyogenes</i> <i>B. coagulans</i> <i>B. splanchnicus</i> <i>B. forsythus</i> <i>B. tectum</i> <i>B. putredinis</i> <i>B. ureolyticus</i></p>
<p>Specie <i>Fusobacterium</i> e segnalate per aver causato infezione nell'uomo</p>	<p><i>F. alocis</i> <i>F. nucleatum</i> subspecies <i>fusiforme</i> <i>F. gonidiaformans</i> <i>F. nucleatum</i> subspecies <i>nucleatum</i> <i>F. mortiferum</i> <i>F. nucleatum</i> subspecies <i>polymorphum</i> <i>F. naviforme</i> <i>F. nucleatum</i> subspecies <i>vincentii</i> <i>F. necrogenes</i></p>

	<p><i>F. periodonticum</i></p> <p><i>F. necrophorum</i></p> <p><i>F. russii</i></p> <p><i>F. necrophorum</i> subspecies <i>funduliforme</i></p> <p><i>F. sulci</i></p> <p><i>F. necrophorum</i> subspecies <i>necrophorum</i></p> <p><i>F. ulcerans</i></p> <p><i>F. nucleatum</i></p>
<p>Specie <i>Porphyromonas</i> segnalate per aver causato infezione nell'uomo</p>	<p><i>P. asaccharolytica</i></p> <p><i>P. endodontalis</i></p> <p><i>P. catoniae</i></p> <p><i>P. gingivalis</i></p>
<p>Specie <i>Prevotella</i> segnalate per aver causato infezione nell'uomo</p>	<p><i>P. bivia</i></p> <p><i>P. heparinolytica</i></p> <p><i>P. buccae</i></p> <p><i>P. intermedia*</i></p> <p><i>P. corporis*</i></p> <p><i>P. loescheii*</i></p> <p><i>P. dentalis</i></p> <p><i>P. melaninogenica*</i></p> <p><i>P. denticola*</i></p> <p><i>P. nigrescens*</i></p> <p><i>P. disiens</i></p> <p><i>P. oris</i></p> <p><i>P. enoeca</i></p> <p><i>P. tanneriae*</i></p>

*Specie pigmentate

Altre specie possono essere associate a patogeni umani.

3 Identificazione

3.1 Aspetto Microscopico

Colorazione Gram ([TP 39 - Staining Procedures](#))

Le specie *Bacteroides*, *Porphyromonas* e *Prevotella* sono rappresentate da piccoli bastoncini Gram negativi di lunghezza variabile.

Le specie *Fusobacterium* sono costituite da bastoncini Gram negativi, con elevato grado di variabilità della loro larghezza e della lunghezza e possono presentare estremità affusolate. Sono indolo positive. *F. nucleatum* è un bastoncino sottile filamentoso con estremità affusolate, indolo positivo. *F. necrophorum* è un bastoncino pleiomorfo che produce indolo e lipasi sui terreni contenenti tuorlo d'uovo

3.2 Terreno di Primo Isolamento

Agar per anaerobi esigenti o equivalenti (con o senza neomicina - alcuni microrganismi anaerobi possono essere inibiti dalla neomicina) incubati per 40 – 48 ore in anaerobiosi a 35°C - 37°C.

Nota: alcune specie possono richiedere Incubazione più prolungata

3.3 Aspetto delle Colonie

Genere	Caratteristiche di crescita su agar per anaerobi esigenti dopo incubazione a 35°C - 37°C
<i>Bacteroides</i>	Colonie di 1 - 3 mm di diametro, rotonde, debolmente convesse, lisce, grigie semiopache spesso umide o anche mucose. In prevalenza non emolitiche e resistenti al dischetto di bile di bue
<i>Fusobacterium</i>	Morfologia della colonia variabile, ma la maggior parte presenta diametro di 1-3 mm, margine irregolare o frangiato. Aspetto variabile da traslucido o granuloso ed opaco; <i>F. necrophorum</i> può sviluppare beta -emolisi. Indolo positivo, fluorescenza giallo verde a luce UV di ampia lunghezza d'onda.
<i>Porphyromonas</i>	Diametro <1.0 mm dopo 48 ore d'incubazione, liscia, rilucente e grigia. Dopo 3 -7 giorni sviluppa pigmento marrone scuro o nero. La crescita può essere favorita dal "satellitismo" nei pressi delle colonie di altri microrganismi, quali gli stafilococchi
<i>Prevotella</i>	Colonie simili a quelle delle specie <i>Bacteroides</i> , tranne alcune specie pigmentate (possono essere da marrone chiaro a nero). La maggior parte delle specie pigmentate sono anche emolitiche

3.4 Procedure di Prova

Metronidazolo

Gli isolati presentano un'area di inibizione attorno al disco di metronidazolo di 5 µg dopo incubazione anaerobica su agar appropriato.

Nota: Nel laboratorio diagnostico clinico, la sensibilità al metronidazolo è di solito considerata, in un determinato campione, un indicatore di presenza di anaerobi. Alcuni di questi, ad esempio *B. fragilis* sono diventati resistenti a questo antibatterico e seguendo questa procedura non saranno identificati. Le colonie sospettate di appartenere alle specie *Bacteroides* resistenti al metronidazolo devono essere verificate per assenza di crescita in aria CO₂ ed inviate per conferma all'Anaerobe Reference Laboratory.

AnIdent cerchio/dischi

Seguire le indicazioni del produttore

Tolleranza alla bile

Catalasi ([TP 8 - Catalase test](#))

Nitrati

3.5 Identificazione Successiva

Fluorescenza con UV ad ampia lunghezza d'onda (365 nm)

Le specie *Porphyromonas* e *Prevotella* possono manifestare fluorescenza fra l'arancio ed il rosso brillante. Le specie *Fusobacterium* possono divenire fluorescenti giallo-verde (chartreuse) e quelle *Bacteroides* di solito non presentano fluorescenza.

Produzione di Lipasi/Lecitinasi

La produzione di lipasi o lecitinasi può essere usata per differenziare *F. necrophorum* (lipasi positivo) da *F. nucleatum* (lipasi negativo).

Confezione commerciale per identificazione

I risultati devono essere interpretati con cautela usufruendo di quelli di altre prove.

La fermentazione del glucosio può essere usata per differenziare le specie *Prevotella* da quelle *Porphyromonas*.

Altre prove specialistiche

Gas cromatografia liquida su prodotti metabolici terminali, sequenziamento del 16S rDNA o Analisi di Restrizione su Amplificato Ribosomiale (ARDRA - Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis)

3.6 Conservazione e Invio

Se opportuno, per l'invio al Laboratorio di riferimento, conservare per breve termine l'isolato puro in anaerobiosi in brodo di carne cotta per anaerobi esigenti. Gli isolati possono anche essere inviati con tamponi posti in terreno di trasporto. Per la conservazione a lungo termine mantenere le colture congelate a -70°C in idoneo terreno criogenico.

4 Identificazione Preliminare di Bastoncini Gram Negativi Anaerobi: Diagramma di Flusso

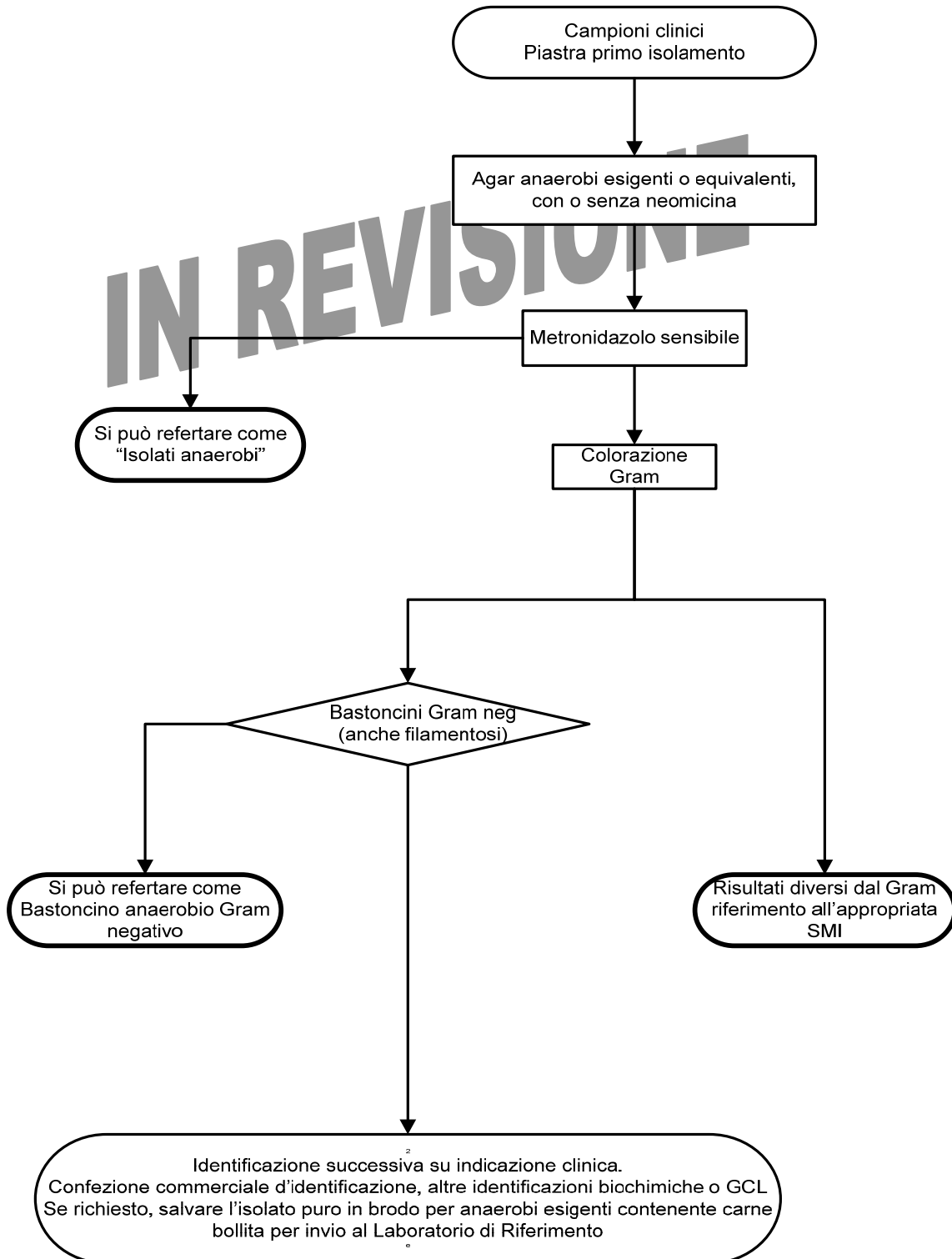


Diagramma di Flusso è solo indicativo

5 Refertazione

5.1 Identificazione Presuntiva

Se si manifestano appropriate caratteristiche di crescita, della colorazione Gram della coltura e l'isolato è sensibile al metronidazolo

5.2 Conferma dell'Identificazione

Prove biochimiche successive, e/o metodi molecolari e/o referto del laboratorio di riferimento.

5.3 Medico Microbiologo

Informare il medico microbiologo dell'identificazione presunta o confermata di anaerobi quando il modulo di richiesta segnala informazioni importanti quali:

- Setticemia/batteriemia
- Empiema, Infezione ferita chirurgica, formazioni di ascesso (in modo particolare a sede cerebrale, intraperitoneale, polmonare, epatica o ascessi splenici)
- Sepsi puerperale
- Miofascite (necrotizzante)
- Sospetto di Sindrome di Lemière's (sepsi post anginosa, spesso con tromboflebite della giugulare e ascessi polmonari di origine ematogena)

Seguire i protocolli locali per la refertazione al clinico

5.4 CCDC

Fare riferimento al Memorandum locale d'Informazione

5.5 Public Health England²⁴

Fare riferimento al Memorandum locale d'Informazione

5.6 CCDC

6 Riferimenti

6.1 Laboratorio di Riferimento

Per informazioni su accertamenti disponibili, tempi di risposta, procedure di trasporto ed altre informazioni riguardanti gli accertamenti disponibili, il tempo di risposta, procedure di trasporto ed altre richieste per l'invio del campione al laboratorio di riferimento rivolgersi a:

Anaerobe Reference Laboratory
NPHS Microbiology Cardiff
University Hospital of Wales
Heath Park
Cardiff CF14 4XW
Telefono +44 (0) 29 2074 2171 or 2378

Inghilterra e Galles

<http://www.hpa.org.uk/webw/HPAweb&Page&HPAwebAutoListName/Page/1158313434370?p=1158313434370>

Scozia

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

Irlanda del Nord

<http://www.belfasttrust.hscni.net/Laboratory-MortuaryServices.htm>

7 Notifica al PHE^{24,25} o Equivalente²⁶⁻²⁹

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 di HIV & Sexually Transmitted Infections (STIs), Healthcare Associated Infections (HCAs) and Creutzfeldt–Jakob disease (CJD) nel 'Notification Duties of Registered Medical Practitioners': non è notificato nel 'Notification Duties of Diagnostic Laboratories'.

Esistono accordi diversi in Scozia^{26,27}, Galles²⁸ e Irlanda del Nord²⁹.

Bibliografia

1. Jousimies-Somer H, Summanen P. Recent taxonomic changes and terminology update of clinically significant anaerobic gram-negative bacteria (excluding spirochetes). *Clin Infect Dis* 2002;35:S17-S21.
2. Finegold SM, Jousimies-Somer H. Recently described clinically important anaerobic bacteria: medical aspects. *Clin Infect Dis* 1997;25 Suppl 2:S88-S93.
3. Shah HN, Collins DM. *Prevotella*, a new genus to include *Bacteroides melaninogenicus* and related species formerly classified in the genus *Bacteroides*. *Int J Syst Bacteriol* 1990;40:205-8.
4. Batty A, Wren MW, Gal M. *Fusobacterium necrophorum* as the cause of recurrent sore throat: comparison of isolates from persistent sore throat syndrome and Lemierre's disease. *J Infect* 2005;51:299-306.
5. Brazier JS. Yellow fluorescence of fusobacteria. *Lett Appl Microbiol* 1986;2:125-6.
6. Jousimies-Somer HR, Summanen PH, Finegold SM. *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium* and other Anaerobic Gram Negative Rods and Cocci. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Tenover RH, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1999. p. 690-711.
7. 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".
8. 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.
9. Health and Safety Executive. Safe use of pneumatic air tube transport systems for pathology specimens. 9/99.
10. Department for transport. Transport of Infectious Substances, 2011 Revision 5. 2011.
11. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014. 2012.
12. Home Office. Anti-terrorism, Crime and Security Act. 2001 (as amended).
13. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. The Approved List of Biological Agents. Health and Safety Executive. 2013. p. 1-32
14. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Infections at work: Controlling the risks. Her Majesty's Stationery Office. 2003.
15. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological agents: Managing the risks in laboratories and healthcare premises. Health and Safety Executive. 2005.
16. 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.

Identificazione di Bastoncini Gram Negativi Anaerobi

17. 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.
18. 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.
19. Health and Safety Executive. Five Steps to Risk Assessment: A Step by Step Guide to a Safer and Healthier Workplace. HSE Books. 2002.
20. Health and Safety Executive. A Guide to Risk Assessment Requirements: Common Provisions in Health and Safety Law. HSE Books. 2002.
21. Health Services Advisory Committee. Safe Working and the Prevention of Infection in Clinical Laboratories and Similar Facilities. HSE Books. 2003.
22. British Standards Institution (BSI). BS EN12469 - Biotechnology - performance criteria for microbiological safety cabinets. 2000.
23. 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
24. Public Health England. Laboratory Reporting to Public Health England: A Guide for Diagnostic Laboratories. 2013. p. 1-37.
25. Department of Health. Health Protection Legislation (England) Guidance. 2010. p. 1-112.
26. Scottish Government. Public Health (Scotland) Act. 2008 (as amended).
27. Scottish Government. Public Health etc. (Scotland) Act 2008. Implementation of Part 2: Notifiable Diseases, Organisms and Health Risk States. 2009.
28. The Welsh Assembly Government. Health Protection Legislation (Wales) Guidance. 2010.
29. Home Office. Public Health Act (Northern Ireland) 1967 Chapter 36. 1967 (as amended).