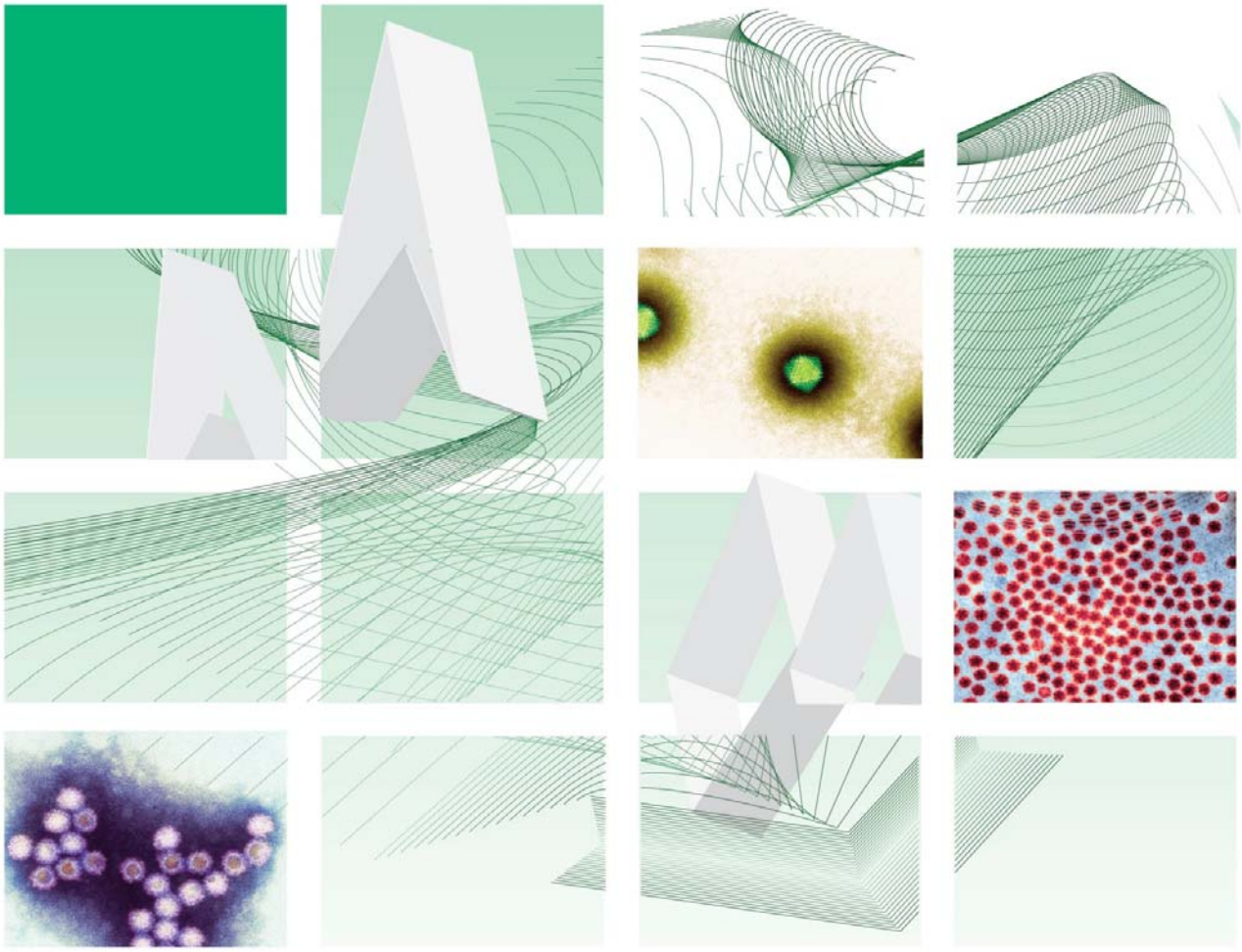
Public Health England

NHS

Ricerche Microbiologiche Standard del Regno Unito

Preparazione di Griglie Rivestite per Microscopia Elettronica



NICE accredited
www.nice.org.uk/accreditation

Emesso da Standards Unit, Microbiology Services, PHE

Virologia I V 12 I Emissione no: 6.3 I Data emissione: 08.04.14 I. Pagina 1 di 16

© Crown copyright 2014

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 Division
Health Protection Agency
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:

Contenuti

RINGRAZIAMENTI **2**

TABELLA MODIFICHE **4**

RICERCHE MICROBIOLOGICHE STANDARD DEL REGNO UNITO: SCOPO E OBIETTIVO **5**

SCOPO DEL DOCUMENTO **8**

INTRODUZIONE **8**

INFORMAZIONE TECNICA/LIMITAZIONI **8**

1 CONSIDERAZIONI SULLA SICUREZZA **9**

2 PRELIEVO DEL CAMPIONE **9**

3 TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE **9**

4 STRUMENTAZIONE E REAGENTI **10**

5 PROCESSO/PROCEDURA SUL CAMPIONE **10**

6 ASSICURAZIONE DELLA QUALITA' **12**

7 LIMITAZIONI **13**

8 PROCEDURA DI REFERTAZIONE **13**

9 NOTIFICA ALLA PHE O EQUIVALENTE **13**

APPENDICE **13**

BIBLIOGRAFIA **15**

NICE accredited
www.nice.org.uk/accreditation

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.	11/08.04.14
Emissione eliminata. no	6.2
Emissione inserita no.	6.3
Sezione(i) interessate/Pagina no.	**Modifica.**
Documento intero .	Il documento è stato inserito in un nuovo formato che evidenzia il passaggio della Health Protection Agency alla Public Health England. Prima pagina ridisegnata. Rinominata la pagina di “Stato come Scopo” e Obiettivo ed aggiornata in modo appropriato. I loghi delle organizzazioni professionali sono stati revisionati ed aggiornati. La bibliografia degli standard di sicurezza e denuncia è stata revisionata ed aggiornata. Il contenuto scientifico rimane invariato.

Modifica No/Data.	10/19.04.12
Emissione eliminata. no	6.1
Emissione inserita no.	6.2
Sezione(i) interessate.	**Modifica.**
Intero documento	Documento presentato in nuovo formato.

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/Partnershipshttp. 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 coinvolgendo 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 Suggerita per questo Documento

Public Health England. (2014). Preparation of Coated Grids for Electron Microscopy. UK Standards for Microbiology Investigations. V 12 Emissione 6.3. http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf

Scopo del Documento

Questa SMI descrive un metodo per la preparazione di pellicole di formvar da utilizzare per i campioni clinici nella ricerca con microscopia elettronica. Il metodo può essere facilmente adattato ad altre pellicole di supporto.

Introduzione

Generalità

Le griglie di microscopia elettronica necessitano di copertura con pellicola idrofila di materiale plastico che consenta l'adesione delle particelle virali. Sono utilizzati con successo molti tipi diversi di pellicole e l'operatore deve selezionare la più idonea allo scopo prefissato. I materiali di supporto disponibili includono Collodio, Formvar, Pioloform e Butvar B98[1].

Le griglie rivestite possono essere stabilizzate applicando un sottile rivestimento di carbone alla pellicola di supporto. Ciò consente di ottenere una struttura di sostegno più consistente, in grado di facilitare l'adesione dei virus ad una superficie uniformemente idrofila. Il rivestimento di carbone è essenziale per le griglie utilizzate per immunocattura (V16 – Investigation of clinical specimens by electron microscopy using solid phase immune electron microscopi)

Per la preparazione del materiale di supporto per le griglie sono disponibili diverse procedure. Quelle esposte in questa sede devono essere intese solo come informazioni guida. Gli operatori devono sviluppare procedure proprie in funzione della strumentazione a loro disposizione.

Informazione Tecnica/Limitazioni

N/D

1 Considerazioni sulla Sicurezza[2-18]

1.1 Prelievo del Campione[2-3]

N/D

1.2 Trasporto e Conservazione del Campione[2-7]

N/D

1.3 Procedura sul Campione[2-18]

N/D

1.4 Manipolazione Chimica

- La polvere Formvar è irritante e deve essere trattata in ambiente di contenimento. E' molto leggera e non deve essere manipolata all'interno di una cabina microbiologica di sicurezza.
- Solventi, quali cloroformio, dicloruro di etilene ed acetato di amile sono tossici per via inalatoria e per contatto. Utilizzarli in ambiente ben ventilato e smaltire secondo le disposizioni locali per i rifiuti chimici.

Nota: Le seguenti indicazioni devono essere supplementate con le indicazioni del COSHH locale e con la valutazione del rischio.

2 Prelievo del Campione

2.1 Tipo di Campioni

N/D

2.2 Tempo Ottimale e Prelievo del Campione

N/D

2.3 Tipo di Campione Appropriato e Metodo di Prelievo

N/D

2.4 Quantita' Adeguata e Appropriato Numero di Campioni

N/D

3 Trasporto e Conservazione del Campione[2,3]

3.1 Tempo fra Prelievo del Campione e Procedura

N/D

3.2 Considerazioni Particolari per Ridurre il Deterioramento

N/D

4 Strumentazione e Reagenti

4.1 Strumentazione

- Vetrini da microscopio di vetro
- Giara di Coplin
- Pinze a punta sottile (ricurve, sono più facili da utilizzare rispetto a quelle a punta diritta)
- Strisce di carta da filtro pulite da circa 2.5 x 5 cm
- Tessuto privo di fibre (es. tessuto Velin)
- Ampio contenitore per acqua
- Unità di rivestimento sotto vuoto
- Griglie per microscopia elettronica

4.2 Reagenti

- Polvere Formvar (polivinil formolo) o alternativa
- Cloroformio, acetato di amile o dicloruro di etilene
- Sorgente di evaporazione del carbonio

5 Processo/Procedura sul Campion[2,3]e

5.1 Selezione della prova

N/D

5.2 Coltura e Ricerca

N/D

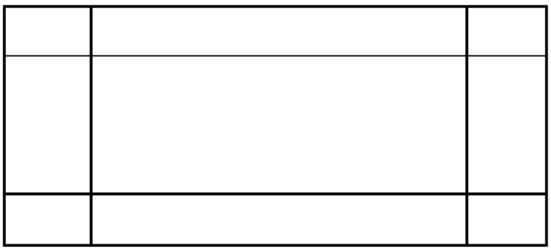
5.3 Preparazione della griglia

Preparazione delle griglie rivestite di Formvar

E' disponibile un dispositivo per la 'fusione' di pellicole sulle griglie del microscopio elettronico che può essere acquistato da fornitori specializzati per accessori di microscopia elettronica. Di seguito è descritto un metodo manuale che utilizza strumentazione facilmente reperibile in laboratorio.

- Sciogliere nel solvente il materiale di supporto per ottenere una concentrazione finale fra 0.2 - 0.5%. E' indispensabile che la polvere formvar sia completamente sciolta. Utilizzare la soluzione entro sette giorni perché la qualità delle pellicole prodotte diminuisce con il tempo trascorso dalla sua preparazione. Alla data di scadenza la soluzione deve essere scartata. La concentrazione dipende dal tipo di utilizzo e può essere variata. Si può preparare anche una soluzione di scorta di Formvar al 2%, da conservare per un lungo periodo (preferibilmente in essiccatore). Ciò consente di evitare la continua manipolazione della polvere di Formvar. La scorta rimane stabile per alcuni mesi. Diluire il materiale di scorta in dicloruro di etilene come specificato

- Decantare la soluzione in una giara di Coplin e chiudere con coperchio.
- Riempire una bacinella con acqua distillata o con acqua di rubinetto e ‘sfiorare’ la superficie del liquido con un pezzo di tessuto privo di fibre.
- Pulire un vetrino da microscopio con tessuto privo di fibre. Il vetrino deve essere pulito ma non lucidato. E’ sufficiente che ciascuna area del vetrino sia strofinata 6 volte
- Immergere il vetrino pulito nella soluzione Formvar e lasciarlo per pochi secondi.
- Estrarre il vetrino dalla soluzione con movimento uniforme. La velocità di rimozione influisce sullo spessore finale della pellicola di supporto
- Lasciare asciugare la pellicola in modo completo a temperatura ambiente in assenza di polvere
- Incidere la pellicola con una figura simile a quella di seguito riportata



- Soffiare’ immediatamente sulla superficie incisa al fine di produrre un sottile strato di condensazione, inserire il vetrino nell’acqua con la superficie incisa rivolta verso l’alto e con inclinazione di circa 30°C. La pellicola di Formvar dovrebbe scivolare dal vetrino nell’acqua
- Rimuovere dalla superficie dell’acqua ogni pezzo di pellicola danneggiata
- Verificare lo spessore ponendole controluce. Le pellicole che riflettono un colore argento sono di spessore accettabile, quelle che riflettono colore dal giallo al porpora sono di solito troppo spesse, quelle che riflettono colore verde sono troppo sottili
- Applicarle con attenzione a nuove griglie del microscopio elettronico fino a ricoprirle, con la parte opaca rivolta verso il basso della superficie flottante della pellicola. Le singole griglie non devono essere sovrapposte
- Rimuovere le griglie dalla superficie dell’acqua raccogliendole con una striscia di carta da filtro. Esercitare pressione sulla superficie dell’acqua muovendo la carta da filtro in modo sicuro e continuo.
- Lasciare asciugare le griglie a temperatura ambiente ed in assenza di polvere

Nota: I microscopisti devono sapere che questa procedura richiede esperienza. All’inizio la percentuale di insuccessi è elevata.

Griglie con rivestimento di plastica e carbonio (opzionale)

Sono disponibili diversi tipi di unità di rivestimento a vuoto. Anche le sorgenti di evaporazione differiscono per ogni tipo di strumentazione. Utilizzare sorgenti di evaporazione di carbonio compatibili con la strumentazione disponibile.

- Inserire nella parte superiore dell’unità di stratificazione a vuoto una sola striscia di fibra di carbonio od equivalente.

- Inserire 3 o 4 pezzi di griglia asciutti nell'unita di rivestimento a vuoto ed estrarre l'aria fino ad ottenere ad una pressione inferiore a 10^{-2} mbar/PA.
- Fare evaporare il carbonio sopra la griglia per produrre un sottile rivestimento verde/marrone. La procedura ottimale e il tempo richiesto per ottenere il rivestimento desiderato sono oggetto di sperimentazione per ogni strumento.
- Rimuovere dall'unita le griglie rivestite e contrassegnare ciascuna produzione
- L'unità di rivestimento è dotata di uno scarico di incandescenza che può essere vantaggioso per il trattamento delle griglie. Questa non è una procedura obbligatoria, ma consente di produrre una superficie idrofila uniforme. Scaricare ad incandescenza con aria per circa 30 secondi. Tempi più prolungati o scarichi ripetuti possono togliere il rivestimento o fornire griglie con rivestimento eccessivo che assorbirà troppo materiale. Lo scarico ad incandescenza può essere effettuato prima o dopo il rivestimento con carbonio.
- Conservare le griglie a temperatura ambiente in assenza di polvere

5.4 Identificazione

N/D

6 Assicurazione di Qualità

6.1 Verifica del preparato

Verifica della Qualità delle griglie rivestite

Di solito non è richiesta la verifica della qualità delle griglie rivestite utilizzate nella routine. Se sono destinate ad uso specialistico, quale l'immuno-microscopia elettronica in fase solida (SPIEM, solid phase immune electron microscopy), deve essere verificata l'idoneità di ogni produzione. Di seguito è descritta una procedura appropriata

- Le nuove griglie sono lasciate a stabilizzare per almeno 48 ore nell'ambiente di lavoro in cui saranno utilizzate.
- Saggiare due griglie non adiacenti di ciascuna produzione, utilizzando la procedura SPIEM (V 16 - Investigation of clinical specimens by electron microscopy using solid phase immune electron microscopy) con il normale controllo positivo. Se il numero delle particelle virali osservate su ciascuna griglia di nuova produzione differisce in modo significativo dal controllo positivo di routine, questa deve essere scartata.
- E' supgerito un metodo di verifica della qualità per le pellicole di supporto utilizzate con il metodo di flottazione (V 13 - Investigation of clinical specimens by electron microscopy using the floatation (direct) method) o con quello a doppia rotazione (V 14 – Investigation of clinical specimens by electron microscopy using concentration by differential centrifugation (double-spin method).
- Preparare in diluente standard una sospensione a titolo elevato di adenovirus o di altro virus stabile da un estratto fecale. Questo preparato può rimanere stabile a 4°C per mesi o anni.
- Determinare il conteggio medio della sospensione standard per unità di superficie con 10 griglie dotate pellicole di supporto.

- Verificare i conteggi per unità di superficie di ciascun nuovo lotto di griglie ed eliminare quelli che forniscono conteggi inferiori di più di 2DS alla media precedentemente definita.

I risultati di qualità dei controlli eseguiti per le griglie rivestite con Formarvar/carbonio devono essere registrati

6.2 Assicurazione della Qualità Interna ed Esterna

N/D

7 Limitazioni

La qualità delle griglie preparate dipende dalla perizia e dall'esperienza dell'operatore. La qualità può anche essere influenzata dall'umidità atmosferica.

8 Procedura di Refertazione

8.1 Referti

N/D

8.2 Tempo di Refertazione

N/D

9 Notifica alla PHE[19,20] o Equivalente[21-24]

Le Norme di Denuncia della Health Protection Agency del 2010 richiedono ai laboratori diagnostici di comunicare all'Health Protection Agency (HPA) l'identificazione degli agenti causali elencati nella Scheda 2 della Direttiva. Le denuncie devono pervenire per scritto, su carta o per via elettronica, entro sette giorni. I casi urgenti possono essere notificati il più presto possibile oralmente, si raccomanda entro 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 HPA. 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 all''HPA. La maggior parte dei laboratori NHS segnala spontaneamente all'HPA gran parte delle diagnosi di laboratorio sostenute da agenti causali e molte sezioni dell'HPA 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 HCAIs e Creutzfeldt–Jakob disease CJD da includere nel 'Notification Duties of Registered Medical Practitioners', e non al 'Notification Duties of Diagnostic Laboratories'

http://www.hpa.org.uk/Topics/InfectiousDiseases/InfectionsAZ/HealthProtectionRegulations/
In Scozia[21,22] e Galles[23] e Irlanda del Nord[24] sono vigenti altre disposizioni.

Bibliografia

1. Harris JR, editor. Negative Staining and Cryoelectron Microscopy: the thin film techniques. Oxford: BIOS Scientific Publishers Ltd; 1997. p. 16

2. 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".

3. 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.

4. Health and Safety Executive. Safe use of pneumatic air tube transport systems for pathology specimens. 9/99.

5. Department for transport. Transport of Infectious Substances, 2011 Revision 5. 2011.

6. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014. 2012.

7. Home Office. Anti-terrorism, Crime and Security Act. 2001 (as amended).

8. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. The Approved List of Biological Agents. Health and Safety Executive. 2013. p. 1-32

9. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Infections at work: Controlling the risks. Her Majesty's Stationery Office. 2003.

10. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological agents: Managing the risks in laboratories and healthcare premises. Health and Safety Executive. 2005.

11. 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.

12. 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.

13. 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.

14. Health and Safety Executive. Five Steps to Risk Assessment: A Step by Step Guide to a Safer and Healthier Workplace. HSE Books. 2002.

15. Health and Safety Executive. A Guide to Risk Assessment Requirements: Common Provisions in Health and Safety Law. HSE Books. 2002.

16. Health Services Advisory Committee. Safe Working and the Prevention of Infection in Clinical Laboratories and Similar Facilities. HSE Books. 2003.

17. British Standards Institution (BSI). BS EN12469 - Biotechnology - performance criteria for microbiological safety cabinets. 2000.

18. 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

19. Public Health England. Laboratory Reporting to Public Health England: A Guide for Diagnostic Laboratories. 2013. p. 1-37.

20. Department of Health. Health Protection Legislation (England) Guidance. 2010. p. 1-112.

21. Scottish Government. Public Health (Scotland) Act. 2008 (as amended).

22. Scottish Government. Public Health etc. (Scotland) Act 2008. Implementation of Part 2: Notifiable Diseases, Organisms and Health Risk States. 2009.

23. The Welsh Assembly Government. Health Protection Legislation (Wales) Guidance. 2010.

24. Home Office. Public Health Act (Northern Ireland) 1967 Chapter 36. 1967 (as amended).