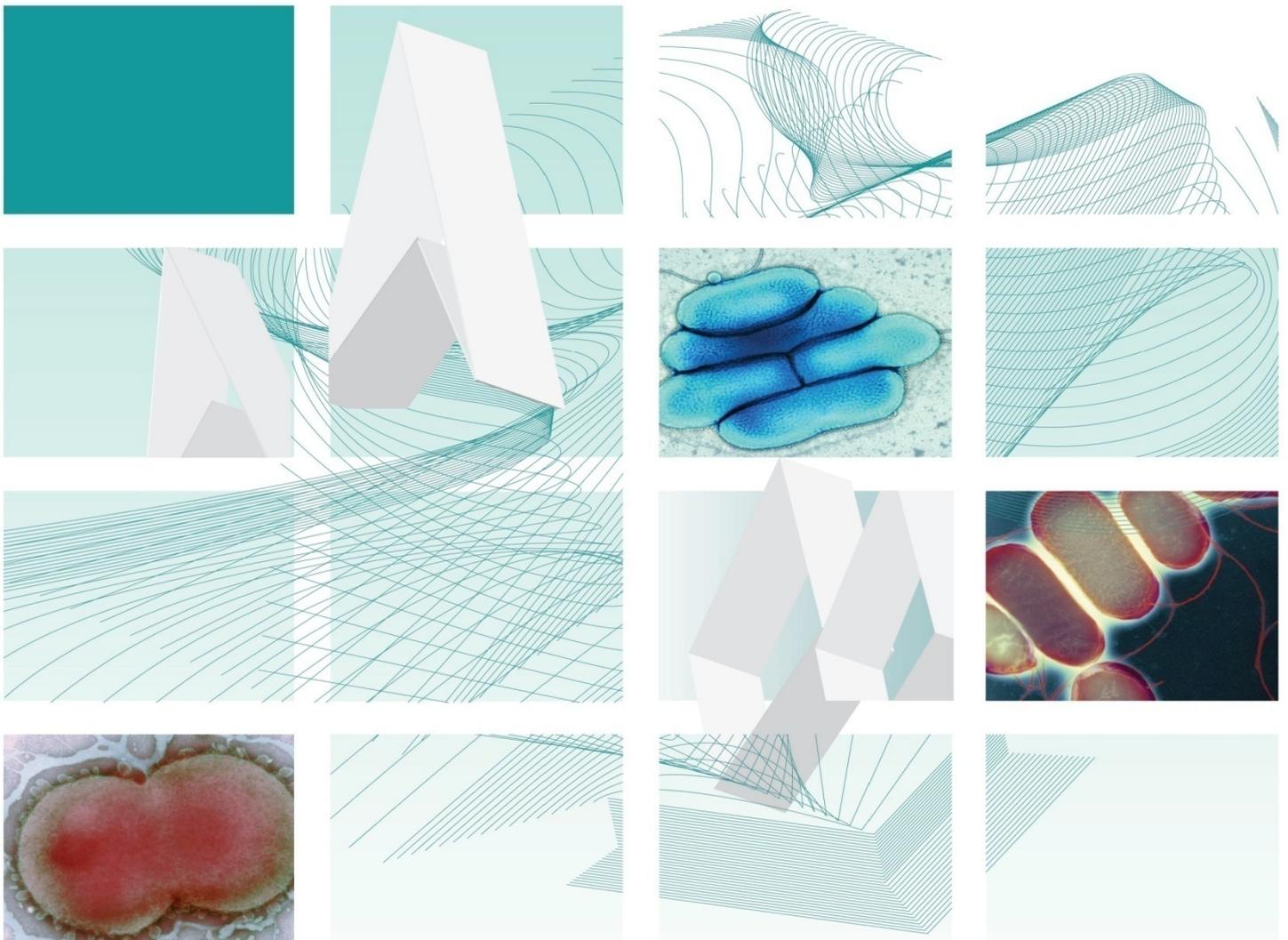




Ricerche Microbiologiche Standard del Regno Unito

Ricerca di Infezioni Batteriche dell'Occhio



Ringraziamenti

Le Procedure Standard del Regno Unito per le Ricerche Microbiologiche (SMI - Standards for Microbiology Investigations) sono sviluppate sotto l'egida della Public Health England (PHE) in collaborazione con il Servizio Sanitario Nazionale (NHS - National Health Service), la Sanità Pubblica del Galles e con le organizzazioni professionali i cui loghi sono di seguito elencati sul sito web <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>. Le SMI sono sviluppate, revisionate e controllate da diversi gruppi di lavoro che sono supervisionati da un comitato direttivo (consultare <https://www.gov.uk/government/groups/standards-for-microbiology-investigations-steering-committee>).

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

Per ulteriori informazioni contattare:

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

E-mail: standards@phe.gov.uk

Website: <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>

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 RU: SCOPO E OBIETTIVO	5
SCOPO DEL DOCUMENTO	7
SCOPO	7
INTRODUZIONE.....	7
INFORMAZIONE TECNICA/LIMITAZIONI.....	11
1 CONSIDERAZIONI SULLA SICUREZZA	13
2 PRELIEVO DEL CAMPIONE	13
3 TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE	14
4 PROCESSO/PROCEDURA SUL CAMPIONE	14
5 PROCEDURA DI REFERTAZIONE	19
6 NOTIFICA ALLA PHE O EQUIVALENTE.....	20
APPENDICE: RICERCA DI INFEZIONI BATTERICHE DELL'OCCHIO	21
BIBLIOGRAFIA.....	22



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.	11/29.12.14
Emissione eliminata. no	5.4
Emissione inserita no.	6
Sezione(i) interessate	Modifica
Intero Documento	Collegamenti ipertestuali aggiornati a gov.uk
Pagina 2	Aggiunti loghi per aggiornamento
Intero Documento	B 2 - Ricerca di tamponi oculari e pus canalicolare è stata unita a B 52 - Ricerca di fluidi intraoculari e raschiamenti corneali per formare una nuova B 2 - Ricerca di infezioni batteriche dell'occhio.
Tipi di campione	Questa sezione è stata ampliata per corrispondere al nuovo titolo.
Introduzione	Espansa per includere cheratite ed endoftalmite
4.5 Coltura e ricerca	Aggiunta nota per chiarire che le piastre seminate con <i>E. coli</i> non devono essere inviate al letto del paziente.
Bibliografia	Bibliografia revisionata e aggiornata

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

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

La standardizzazione delle procedure diagnostiche tramite l'applicazione delle SMI aiuta a garantire uniformità nelle strategie di ricerca nei diversi laboratori nel RU ed è una condizione essenziale per la sorveglianza della salute pubblica, ricerca e sviluppo di attività.

Coinvolgimento delle Organizzazioni Professionali

Lo sviluppo delle SMI è condotto in condizione paritaria da PHE, NHS, Royal College of Pathologists e organizzazioni professionali. L'elenco delle organizzazioni partecipanti può essere trovato su sito at <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>. L'inclusione del logo di un'organizzazione in una SMI implica il sostegno degli obiettivi e del processo di preparazione del documento. I rappresentanti delle organizzazioni professionali fanno parte del Comitato Direttivo e dei Gruppi di Lavoro che sviluppano le SMI. Le opinioni dei partecipanti non sono necessariamente quelle espresse da tutta l'organizzazione che essi rappresentano. I rappresentanti agiscono da tramite con funzione di collegamento bi-direzionale per informazione e dialogo. Le attività di rappresentanza sono ricercate tramite un processo di consultazione. Le SMI sono sviluppate, revisionate e aggiornate tramite un ampio processo di consultazione.

Assicurazione di Qualità

La NICE ha accreditato la procedura usata dai SMI Working Groups per produrre le SMI. L'accREDITAMENTO è applicabile a tutte le linee guida emesse dall'Ottobre 2009. La procedura per lo sviluppo delle SMI è certificata dalla ISO 9001:2008. Le SMI rappresentano una procedura standard di buona qualità pratica alla quale si devono attenere per la propria attività tutti i laboratori di

* Microbiologia 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

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

Coinvolgimento del Paziente e della Comunità

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

Informazione della Gestione dei Dati Sensibili

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

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

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

Dichiarazione Legale

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

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

Le SMI sono assoggettate a diritti d'autore che dovrebbero essere riconosciute quando appropriato.

Citazione Suggesta per questo Documento

Public Health England. (2014). Investigation of Eye Swabs and Canalicular Pus. UK Standards for Microbiology Investigations. B 2 Emissione 6. <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>

Scopo del Documento

Tipo di Campione

Tamponi oculari. pus canalicolare, umore acqueo e vitreo, raschiamenti corneali, casi di lenti a contatto e liquido detergente.

Scopo

Questa SMI (Standards for Microbiology Investigation) descrive le procedure e la ricerca batteriologica su campioni oculari.

Per la diagnosi di infezioni virali e da clamidia sono richiesti tamponi separati inseriti in appropriati terreni di trasporto (consultare [V 37 – Chlamydia trachomatis Infection – Testing by Nucleic Acid Amplification Tests \(NAATs\)](#)). Per infezioni gravi dell'occhio possono essere richiesti campioni di tipo invasivo per una ricerca ottimale. Sono attualmente disponibili per la diagnosi di infezione da clamidia su tamponi oculari nuove tecniche di biologia molecolare. Queste non sono comprese in questo SMI.

Questa SMI devono essere utilizzata congiuntamente alle altre SMI.

Introduzione

Le infezioni dell'occhio sono causate da un'ampia varietà di microrganismi. I tamponi oculari possono essere contaminati da microflora di origine cutanea, ma ogni microrganismo dovrebbe essere singolarmente valutato con successivi approfondimenti su indicazione clinica.

Microrganismi esogeni possono giungere all'occhio con le mani, applicazioni (lenti a contatto) danneggiamenti di tipo traumatico, dopo intervento chirurgico, o semplicemente per diffusione da zone adiacenti¹.

Le più frequenti cause di congiuntiviti virali sono sostenute da adenivirus. HSV e varicella zoster virus. Maggiori informazioni in merito sono riportate nella [V 21 – Isolation of Viruses Associated with Infections of the Eye: Keratoconjunctivitis](#).

Infezioni

Le infezioni di lieve entità più frequenti includono le congiuntiviti (infiammazione della congiuntiva). La congiuntivite può manifestarsi associata a infezione della palpebra (blefarocongiuntivite), infiammazione delle palpebre (blefarite) o della cornea (cheratocongiuntivite).

Infezioni meno comuni e più severe includono la cheratite (infiammazione della cornea) e l'endofthalmitis (infezioni all'interno dell'occhio stesso)². Altre infezioni perioculari includono la dacrioadenite (infiammazione della ghiandola lacrimale) la dacriocistite (infiammazione del sacco lacrimale), la canaliculite (infezione dei punti e canalicoli lacrimali), e la cellulite pre-settale ed orbitale. L'ipopion è una condizione associata a essudato leucocitario, che si manifesta nella camera oculare anteriore, di solito si manifesta con arrossamento della congiuntiva e della episclera sottostante.

I tamponi oculari possono essere ricevuti da pazienti con qualsiasi di queste condizioni, ma possono richiedere procedure differenti in funzione del tipo e della gravità dell'infezione.

Congiuntivite

Le congiuntiviti possono essere acute o croniche. La congiuntiva è il tessuto oculare più frequentemente infettato e le infezioni in questa sede sono una delle cause più comuni di arrossamento o di occhi appiccicosi. L'eziologia batterica comune degli adulti include:

- *S. aureus*.
- *Streptococcus pneumoniae*.
- *Haemophilus influenzae*.

La congiuntivite nei neonati è causata dai patogeni comunemente isolati anche negli adulti^{9,11}. Altri microrganismi includono¹:

- *N. gonorrhoeae*
- *Haemophilus parainfluenzae*
- Streptococchi di gruppo B di Lancefield ed enterococchi
- Enterobatteriaceae come *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*
- *Pseudomonas aeruginosa*.

Cheratite^{2,4,5}

La Cheratite è un'inflammatione della cornea e rappresenta una condizione grave che richiede una pronta e meticolosa ricerca e può progredire fino alla perforazione e alla cecità in caso di mancato successo del trattamento³. I fattori predisponenti includono in primo luogo le malattie oculari, l'adozione di lenti a contatto e l'uso topico di corticosteroidi. Questa condizione patologica può essere causata da un gran numero di batteri, funghi e parassiti includenti:

- *Stafilococchi*
- *Streptococchi*
- *Pseudomonas*
- *Enterobacteriaceae*
- Specie *Corinebacterium*
- Specie *Acanthamoebae* *Moraxella*
- Specie *Serratia*
- *Haemophilus*
- *N. gonorrhoea*
- *Acanthamoebae*
- *Aspergillus* species
- Specie *Candida*
- Specie *Fusarium*
- Specie *Propionbacterium*

Endoftalmite^{7,8}

Endoftalmite infettiva è un'infezione relativamente rara ma potenzialmente pericolosa per i fluidi e i tessuti intraoculari. Si può sviluppare in seguito a intervento chirurgico, traumi, o per diffusione ematogena dei microrganismi. I campioni più appropriati per le indagini di endoftalmite sono i fluidi intraoculari (umore acqueo dalla camera anteriore e vitreo dalla cavità/corpo). Possono anche essere prelevati tamponi oculari. Gli organismi più spesso coinvolti includono⁸:

- Stafilococchi coagulasi negativi
- *Staphylococcus aureus*
- Streptococchi
- *Propionibacterium acnes*
- Lieviti e muffe

Endoftalmite acuta post-operatoria si manifesta entro 1-7 giorni dall'intervento intraoculare⁹. Di solito la fonte dell'infezione è rappresentata dalla flora della superficie oculare o della palpebra del paziente e ciò rende difficile la diagnosi dalla cultura. Per affrontare questi problemi può ora essere utilizzata la PCR quantitativa per diagnosticare l'infezione e questa ricerca può aiutare a definire i microrganismi causali¹⁰. Sebbene qualsiasi organismo possa essere introdotto e causare infezioni, i più frequentemente implicati comprendono:

- Stafilococchi coagulasi negativi
- *S. aureus*
- Streptococchi
- Enterobacteriaceae
- *P. aeruginosa*
- *P. acnes*

Endoftalmite della bozza filtrante (chirurgia filtrante del glaucoma) può essere sia localizzata nella bozza stessa ('blebite') o presente come infezione intraoculare fulminante⁹. Si può manifestare dopo settimane o anni dopo interventi chirurgici originali comprendenti la vitrectomia via pars plana, cheratoplastica perforante e per impianti di drenaggio del glaucoma.

L'insieme dei organismi causali è simile a quello sopra elencato.

Endoftalmite cronica si manifesta mesi o anni dopo l'intervento chirurgico intraoculare. I pazienti di solito presentano una moderata uveite persistente o possono manifestare le stesse caratteristiche di un'endoftalmite acuta. I microrganismi causali includono^{8,9,11}:

- *P. acnes*
- Stafilococchi coagulasi negativi
- Specie *Corynebacterium*
- Lieviti e muffe
- *P. aeruginosa*
- *S. aureus*
- Specie *Mycobacterium*

Endoftalmite post-traumatica si manifesta dopo traumi penetranti o lesioni oculari perforanti. Questa condizione è molto più grave se all'azione traumatica penetrante è associato materiale organico. Gli agenti patogeni possono includere qualsiasi microrganismo, esempi ben riconosciuti includono^{8,9}:

- *Bacillus cereus*
- Funghi
- Streptococchi
- Specie *Clostridium*
- Specie *Microsporidium*

Endoftalmite endogena è rara e si manifesta in pazienti con batteriemia o fungemia, spesso associata a trattamento con terapia immunosoppressiva, abuso di droghe per via endovenosa o procedure chirurgiche invasive. In queste condizioni sono indicate le emocolture. I microrganismi coinvolti includono⁹:

- Lieviti
- Muffe
- *S. aureus*
- Streptococchi
- Enterobacteriaceae
- Specie *Bacillus*

Cellulite orbitale

La cellulite orbitale è l'infezione del tessuto orbitale. Può essere conseguente a trauma, interventi chirurgici, o a un'estensione delle infezioni dei seni paranasali. Si tratta di un'infezione grave e può produrre cecità, trombosi settica del seno cavernoso o infezioni intracraniche. I patogeni di più frequente riscontro negli adulti sono *S. aureus*, streptococchi e anaerobi. Nei bambini *H. influenzae* rimane ancora prevalente, ma il ceppo capsulato (tipo b) è stato raramente isolato dopo all'introduzione del programma vaccinale¹². Streptococchi, stafilococchi, peptostreptococchi e *P. aeruginosa* possono provocare necrosi. I tamponi oculari hanno un valore limitato nella ricerca della cellulite orbitale e presettale. In modo ottimale dai tessuti coinvolti dovrebbero essere ottenuti gli aspirati successivamente trattati secondo le procedure descritte nella [B 26 - Investigation of Fluids from Normally Sterile Sites](#). Nella diagnosi sono importanti anche le emocolture (consultare [B 37 - Investigation of Blood Cultures \(for Organisms other than Mycobacterium species\)](#)).

Canalicolite

La canalicolite è un'affezione rara. Le infezioni presentano di solito un andamento cronico e sono causate da actinomiceti anaerobi quali *Actinomyces israelii* o da *Propionibacterium propionicum*^{13,14}. Per la diagnosi sono preferibili i campioni di pus canalicolare prelevati con tamponi rispetto a quelli oculari.

Blefarite

La blefarite è un processo infiammatorio acuto o cronico che coinvolge le palpebre e può essere associata a congiuntivite e ad altre infezioni oculari¹⁵. Di consuetudine i materiali dei pazienti non

sono prelevati con tampone per questa condizione, tranne che non sia associata ad altre infezioni oculari. I batteri associati a questa infezione includono¹⁶:

- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermidis*
- Specie *Streptococcus*
- Specie *Moraxella*
- Specie *Corynebacterium*
- *P. acnes*

Tuttavia, questi microrganismi possono essere isolati dalle palpebre di individui sani, ciò richiede necessariamente un'attenta interpretazione di queste colture.

Batteri

Clamidia¹

La congiuntivite da inclusione e il tracoma sono causati da diversi sierotipi di *Chlamydia trachomatis*. Il tracoma è associato ai sierotipi A-C. Questi sierotipi sono associati a trasmissione sessuale e possono anche causare infezione nei neonati.

Protozoi

Specie *Acanthamoeba*¹⁷

Le specie *Acanthamoeba* possono causare grave cheratite, di solito in portatori di lenti a contatto o dopo un trauma oculare. Se non trattata tempestivamente, può determinare ulcere corneali, e infine la cecità. Questi protozoi possono essere isolati da raschiamenti corneali, nonché da lenti a contatto e custodie. Tuttavia, le specie *Acanthamoeba* possono essere isolate dal liquido per lenti a contatto di individui senza segni o sintomi di malattia¹⁸. La PCR sta diventando il metodo di scelta per la diagnosi.

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 prendere in considerazione le esigenze locali e intraprendere ricerche aggiuntive, se appropriate. Prima del loro uso, i laboratori devono assicurare che tutti i saggi commerciali e in-house siano stati validati e idonei allo scopo.

Terreni Selettivi nelle Procedure di Screening

Possono essere consigliati terreni selettivi che non consentono la crescita di tutti i ceppi di microrganismi circolanti sulla base delle evidenze disponibili. Se si usa più di una piastra di terreno, deve pertanto essere ricercato un equilibrio tra le prove e le risorse disponibili necessarie.

Contenitori per campioni^{19,20}

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

1 Considerazioni sulla Sicurezza^{19,35}

1.1 Prelievo, Trasporto e Conservazione^{16,21}

Usare tecnica asettica

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

Inserire i tamponi in appropriato terreno di trasporto e trasferirli in sacchetti di plastica sigillati.

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

1.2 Procedura sul Campione¹⁹⁻³⁵

Livello di contenimento 2

Le procedure di laboratorio che si ritiene possano generare aerosol infettivi devono essere eseguite in cabina microbiologica di sicurezza²⁷.

Se l'infezione è causata da un microrganismo del Gruppo di Rischio 3, per esempio *M. tuberculosis*, *Brucella*, o si sospetta un agente micotico esotico, tutte le manipolazioni devono essere eseguite in cabina microbiologica di sicurezza con Livello di Contenimento 3²⁷.

Sebbene *N. meningitidis*, *Cryptococcus neoformans* e le specie *Acanthamoeba* appartengano al gruppo di Rischio 2, sospetti e isolati noti di *N. meningitidis*, *Cryptococcus neoformans* e specie *Acanthamoeba* devono sempre essere manipolati in cabina microbiologica di sicurezza²⁵. A volte la tipologia del lavoro può richiedere il livello completo di contenimento 3, condizioni che dovrebbero essere utilizzate ad esempio per la propagazione di *N. meningitidis* in conformità alla COSHH 2004 Schedule 3 (4e).

Fare riferimento alle attuali linee guida sulla manipolazione sicura dei microrganismi riportati in questa SMI:

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

2 Prelievo del Campione

2.1 Tipo di Campione

Tampone oculare, pus canalicolare, umore acqueo e vitreo, raschiamenti corneali, casi di lenti a contatto e liquido detergente

2.2 Tempo Ottimale e Metodo di Prelievo

Per considerazioni sulla sicurezza fare riferimento alla Sezioni 1.1

Se non altrimenti specificato, i tamponi per coltura batterica e fungina devono essere inseriti in appropriato terreno di trasporto^{36,40}.

Prelevare campioni diversi dai tamponi in contenitori appropriati con marchiatura CE e inserirli in sacchetti di plastica sigillati.

Prelevare prima della terapia antimicrobica, quando possibile⁴¹.

I raschiamenti corneali ed i liquidi intraoculari devono essere prelevati da un chirurgo oftalmico. A causa delle ridotte quantità di materiale disponibile, può essere necessario che la semina delle piastre e la preparazione dei vetrini siano effettuate al letto del malato. I laboratori dovrebbero concordare con i loro oculisti un protocollo per la raccolta di campioni, semina dei terreni, trasporto in laboratorio, e fornire una confezione idonea allo scopo, se richiesta.

In conformità a un protocollo concordato, considerare la possibilità di preparare per gli oculisti una confezione per il raschiamento corneale. Gli specialisti dovrebbero raschiare la cornea e inviarla in 1 ml di brodo BHI contenuto in una micro bottiglia (messa poi in un appropriato contenitore impermeabile con marchiatura CE inserito in sacchetto di plastica sigillato); questo brodo è poi coltivato.

Qualsiasi pus disponibili deve essere campionato come pure la lesione interessata.

Può anche essere utile campionare la lente a contatto e, nel caso, anche la soluzione di pulizia se ancora disponibile.

Campioni separati devono essere raccolti in terreni di trasporto adeguati per il rilevamento di virus o clamidie (consultare [V 37 – Chlamydia trachomatis Infection – Testing by Nucleic Acid Amplification Tests \(NAATs\)](#)). Per la ricerca di Clamidia con immunofluorescenza sono anche utilizzati strisci fissati in alcool o acetone

2.3 Quantità adeguata e Numero Appropriato di Campioni⁴¹

Numero e frequenza di raccolta del campione dipendono dalle condizioni cliniche del paziente

Per i raschiamenti corneali la cultura dovrebbe avere la priorità se il campione non è sufficiente per la preparazione dello striscio e la semina delle piastre.

3 Trasporto e Conservazione del Campione^{19,20}

3.1 Tempo Ottimale e Condizioni di Conservazione

Per considerazioni sulla sicurezza fare riferimento alla Sezioni 1.1

I campioni devono essere trasportati e processati il più presto possibile⁴¹.

Se la procedura è ritardata, la refrigerazione è preferibile alla conservazione a temperatura ambiente⁴¹.

Se i campioni per la ricerca delle amebe non possono essere processati entro 8 ore, è preferibile conservarli a temperatura ambiente.

Non congelare i campioni

4 Procedura sul campione^{19,20}

4.1 Selezione della Prova

Prelevare campioni separati per la ricerca di virus. I raschiamenti corneali devono essere seminati in terreni per la cultura di specie *Acanthamoeba* se indicato dai dati clinici (ad esempio l'uso di lenti a contatto o ulcere corneali).

Strisci e terreni per il rilevamento di specie *Mycobacterium* devono essere trattati secondo le indicazioni della [B 40 - Investigation of Specimens for Mycobacterium species](#).

4.2 Aspetto

N/D

4.3 Preparazione del Campione

Per considerazioni sulla sicurezza fare riferimento alla Sezioni 1.2

4.4 Microscopia

4.4.1 Standard

Fare riferimento alla [TP 39 – Staining Procedures](#).

Colorazione Gram

Tamponi oculari (da neonati con occhi appiccicosi o altre manifestazioni come appropriato) e pus canalicolare.

Per la colorazione Gram preparare uno striscio sottile con il tampone o con il pus su un vetrino pulito da microscopio.

4.5 Coltura e Ricerca

4.5.1 Standard

Seminare ciascuna piastra di agar con tampone o pus ([Q 5 - Inoculation of Culture Media for Bacteriology](#)).

Per i metodi di semina eseguiti al letto del paziente fare riferimento ai protocolli locali.

Umore acqueo e vitreo

Se si ricevono materiali liquidi, inoculare una o due gocce di questi su ogni piastra e strisciare con un'ansa sterile per ottenere colonie isolate. I terreni di arricchimento possono essere inoculati se si dispone di materiale in quantità sufficiente (consultare [Q 5 - Inoculation of Culture Media for Bacteriology](#)).

Inoculare direttamente le piastre di agar al letto del paziente e strisciarle con un'ansa sterile per ottenere colonie isolate, incubarle immediatamente al loro ricevimento in laboratorio (consultare [Q 5 - Inoculation of Culture Media for Bacteriology](#)).

Raschiamenti corneali

Inoculare direttamente al letto del paziente le colture batteriche su piastre di agar e strisciarle con un'ansa sterile per ottenere colonie isolate; incubare immediatamente le semine al loro ricevimento in laboratorio (consultare [Q 5 - Inoculation of Culture Media for Bacteriology](#)).

Nota: Le piastre seminate con *E. coli* non dovrebbero essere inviate al letto del paziente

4.5.2 Prove supplementari

Colture per amebe a libera crescita⁴².

Le colture per specie *Acanthamoeba* devono essere manipolate in cabina microbiologica di sicurezza.

Ceppi di controllo non patogeni di specie *Acanthamoeba* possono essere ottenuti su richiesta dalla London School of Hygiene and Tropical Medicine.

Terreno per semina dei campioni

- 1 Autoclavare agar purificato alla concentrazione dell'1.5% (15g/l in soluzione di Ringer a un quarto di concentrazione (o preferibilmente, se disponibile, in soluzione salina di Page). Lasciare raffreddare e versare in piastre di piccole dimensioni. Prima dell'uso lasciare asciugare le piastre.
- 2 Sommergere una piastra di agar sangue con *Escherichia coli** (NCTC 10418) e incubare per una notte a 37°C.
- 3 Raccogliere tutta la crescita con un tampone sterile con estremità di cotone e sospendere in 2 mL della soluzione salina preferita (come indicato in 1) o in acqua distillata sterile.
- 4 Aggiungere due gocce della sospensione sulla superficie delle piastre di agar purificato e diffonderle in modo uniforme sulla superficie con un tampone. Le piastre sono in tal modo pronte per l'inoculo del campione.
- 5 Per motivi di sicurezza per il paziente si preferisce diffondere la sospensione dei coliformi dopo il ricevimento delle piastre in laboratorio dopo il campionamento eseguito in sala operatoria. In questo caso le piastre devono essere inondate al loro ritorno in laboratorio con successiva rimozione del liquido in eccesso.

Nota: E' richiesta una distribuzione uniforme dei microrganismi sulla piastra.

Le specie *Klebsiella* e *Enterobacter aerogenes* sono alternative a quelle di *E. coli*.

Inoculo del campione⁴²

- 1 Seminare il campione su un vetrino da microscopio pulito (esaminare con obiettivo a basso ingrandimento) e sulla superficie dei batteri adesi all'agar purificato. Come riferimento, delimitare l'area di semina sul fondo della piastra con la penna ad inchiostro indelebile per facilitare la ricerca. Inserire una piastra con controllo di *Acanthamoeba* non patogena
- 2 Porre la piastra in un contenitore sigillato o in camera umida
- 3 Incubare la piastra a 30°C. E' sconsigliata l'incubazione a 37°C perché a questa temperatura alcuni ceppi si sviluppano in modo moderato
- 4 Esaminare la superficie della piastra dopo 24 ore e ogni giorno fino al settimo, utilizzando un microscopio invertito con obiettivo a basso ingrandimento. Non è richiesta l'apertura della piastra
- 5 Si può osservare che le amebe allo stadio di trofozoite hanno lasciato traccia nello strato dei batteri. Possono essere osservate inoltre le caratteristiche cisti poligonali

Soluzioni delle lenti a contatto⁴²

1. Trasferire i liquidi dal contenitore delle lenti a contatto del caso in un contenitore universale sterile. Strofinare l'interno della custodia con un tampone sterile di cotone imbevuto di acqua distillata sterile. Spremere il liquido dal tampone nel fluido del contenitore universale sterile
2. Centrifugare a 800 x g per 5 minuti
3. Utilizzando una pipetta sterile scartare il surnatante in un disinfettante, lasciando circa 0,5 ml di deposito del centrifugato
4. Sospendere di nuovo il deposito del centrifugato nelle restante fluido e disporre 2 gocce nel centro di una piastra di agar purificato ricoperta da batteri

Dopo il riassorbimento del liquido incubare ed esaminare la piastra come descritto in precedenza per i raschiamenti corneali.

Per le specie *Mycobacterium* – consultare [B 40 - Investigation of Specimens for *Mycobacterium* species](#).

B 40 - Ricerca di campioni per le specie *Mycobacterium*

4.5.3 Terreni di coltura, condizioni e microrganismi

Aspetti clinici/ condizioni	Campione	Terreni standard	Incubazione			Lettura colture	Microrganismo (i) ricercati
			Temp C°	Atmosfera	Tempo		
Congiuntivite Occhio appiccicoso Se non sono disponibili notizie cliniche, trattare come un "occhio appiccicoso" Blefarite (associata ad altra infezione)	Tutti i campioni	Agar cioccolato	35 -37	5 – 10% CO ₂	40 – 48 ore	giornaliera	<i>H. influenzae</i> Streptococchi di Gruppo A,B,C e G di Lancefield <i>Specie Moraxella</i> <i>N. gonorrhoeae</i> <i>N. meningitidis</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>S. pneumoniae</i> Altri microrganismi (consultare la sezione 4.6.1)
		Agar sangue	35-37	5 10% CO ₂	40 48 ore	giornaliera	
Per tutte queste situazioni aggiungere:							
Aspetti clinici/ condizioni	Campione	Terreni supplementari	Incubazione			Lettura colture	Microrganismo (i) ricercati
			Temp C°	Atmosfera	Tempo		
Occhio appiccicoso in Consultori per Malattie Genito Urinarie Neonati	Tamponi oculari,	Agar GC selettivo	35 -37	5 – 10% CO ₂	40 – 48 ore	≥40 ore	<i>N. gonorrhoeae</i>
Immunocompromessi Blefarite cronica	Tamponi oculari,	Agar Sabouraud	28 - 30	aria	40 – 48 ore	≥40 ore*	Funghi
Canaliculite † Cellulite orbitale Dacriocistite† Dacrioadenite† Cheratite‡ Endoftalmite Ipopion Post operatorio Post trauma	Pus canalicolare umore acqueo e vitreo raschiamento corneale	Agar per anaerobi esigenti	35 – 37	anaerobica	40 – 48* ore	≥40 ore	Anaerobi
		Agar Sabouraud	28 – 30	aria	40 – 48* ore	da ≥40 ore a 7 – 10 giorni	Actinomiceti
Se il Gram dello striscio evidenzia bastoncini Gram negativi	Tutti i campioni	CLED Agar	35 – 37	aria	16 – 24 ore	≥16 ore	Enterobacteriaceae
Altri microrganismi da considerare – Specie <i>Chlamydia</i>, virus e specie <i>Mycobacterium</i>							

* L'incubazione può essere protratta fino a 5 giorni; in questi casi le piastre devono essere lette a ≥ 40 ore e poi lasciate nell'incubatore fino al 5° giorno

† Prolungare il periodo di incubazione a 10 giorni se il sospetto clinico o se la colorazione di Gram è positiva per presenza di bastoncini Gram positivi ramificati.

4.6 Identificazione

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

4.6.1 Livello minimo di identificazione in laboratorio

Actinomycetes	livello "actinomycetes"
Anaerobes	livello "anaerobi"
Bacillus species	livello genere
Coagulase negative staphylococci	livello "coagulasi – negativo"
Diphtheroids	livello "difteroide "
Enterobacteriaceae	livello "coliformi"
Enterococci	livello specie
Fungi e muffe	livello genere
Haemophilus influenzae	livello specie
Lancefield groups A, B, C and G streptococci	Livellogruppo di Lancefield gro
Moraxella species	livello specie
Neisseria meningitidis	livello specie
P. aeruginosa	livello specie
Pseudomonads	livello "pseudomonadi"
S. aureus	livello specie
S. pneu moniae	livello specie
α-haemolytic streptococci	livello "α-emolitici"
Lieviti	livello "lieviti"
Mycobacterium species	B 40 - Investigation of Specimens for Mycobacterium species
Parasites	B 31 - Investigation of Specimens other than Blood for Parasites

Nota 1: I microrganismi possono poi essere identificati su indicazione clinica o epidemiologica. Qualsiasi microrganismo isolato da sede normalmente sterile deve essere identificato a livello di specie.

Nota 2: Qualsiasi microrganismo considerato contaminante (o parte della normale flora) può non richiedere l'identificazione a livello di specie.

Nota 3: Tutte le manipolazioni su isolati sospetti di *N. meningitidis* e *C. neoformans* che possono generare aerosol devono essere eseguite in una cabina microbiologica di sicurezza⁴³.

4.7 Prova di sensibilità agli antibiotici

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

4.8 Invio per Ricerche di Focolai Epidemici

N/D

4.9 Invio ai Laboratori di Riferimento

Per informazioni su accertamenti disponibili, tempi di risposta, procedure di trasporto ed altre richieste al laboratorio di riferimento [click here for user manuals and request forms](#).

Microrganismi con resistenze insolite o inattese, o se esiste un problema clinico o di laboratorio, o anomalie che richiedono chiarimenti, inviare all'appropriato laboratorio di riferimento

Contattare l'appropriato laboratorio nazionale di riferimento per informazioni sulle prove disponibili, tempi di consegna, procedure di trasporto ed eventuali altri requisiti per l'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 Procedure di Refertazione

5.1 Microscopia

Refertare i GB e i microrganismi osservati.

Microscopia per specie *Mycobacterium* [B 40 - Investigation of Specimens for *Mycobacterium* species](#)) e parassiti ([B 31 - Investigation of Specimens other than Blood for Parasites](#)).

5.1.1 Tempo refertazione microscopia

I risultati microscopici urgenti possono essere trasmessi per via telefonica o informatica.

Referto scritto, 16–72 ore

5.2 Coltura

Refertare:

Microrganismi isolati clinicamente significativi o

altri tipi di crescita, come "Nessuna crescita significativa o

assenza di crescita

Refertare presenza o assenza di specie *Acanthamoeba* se appropriato.

5.2.1 Tempo di refertazione coltura

Risultati clinicamente urgenti: telefonare quando disponibili.

Referto scritto: 16 – 72 ore, segnalando, se appropriato, che sarà inviato un referto successivo.

Per specie *Acanthamoeba* referto scritto dopo 4 giorni, precisando, se opportuno, che sarà emesso un successivo referto.

Ricerche supplementari: specie *Mycobacterium* ([B 40 - Investigation of Specimens for Mycobacterium species](#)).

5.3 Prove di Sensibilità agli Antimicrobici

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

7 Notifica al PHE^{44,45} o Equivalente⁴⁶⁻⁴⁹

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'Health Protection Team 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.

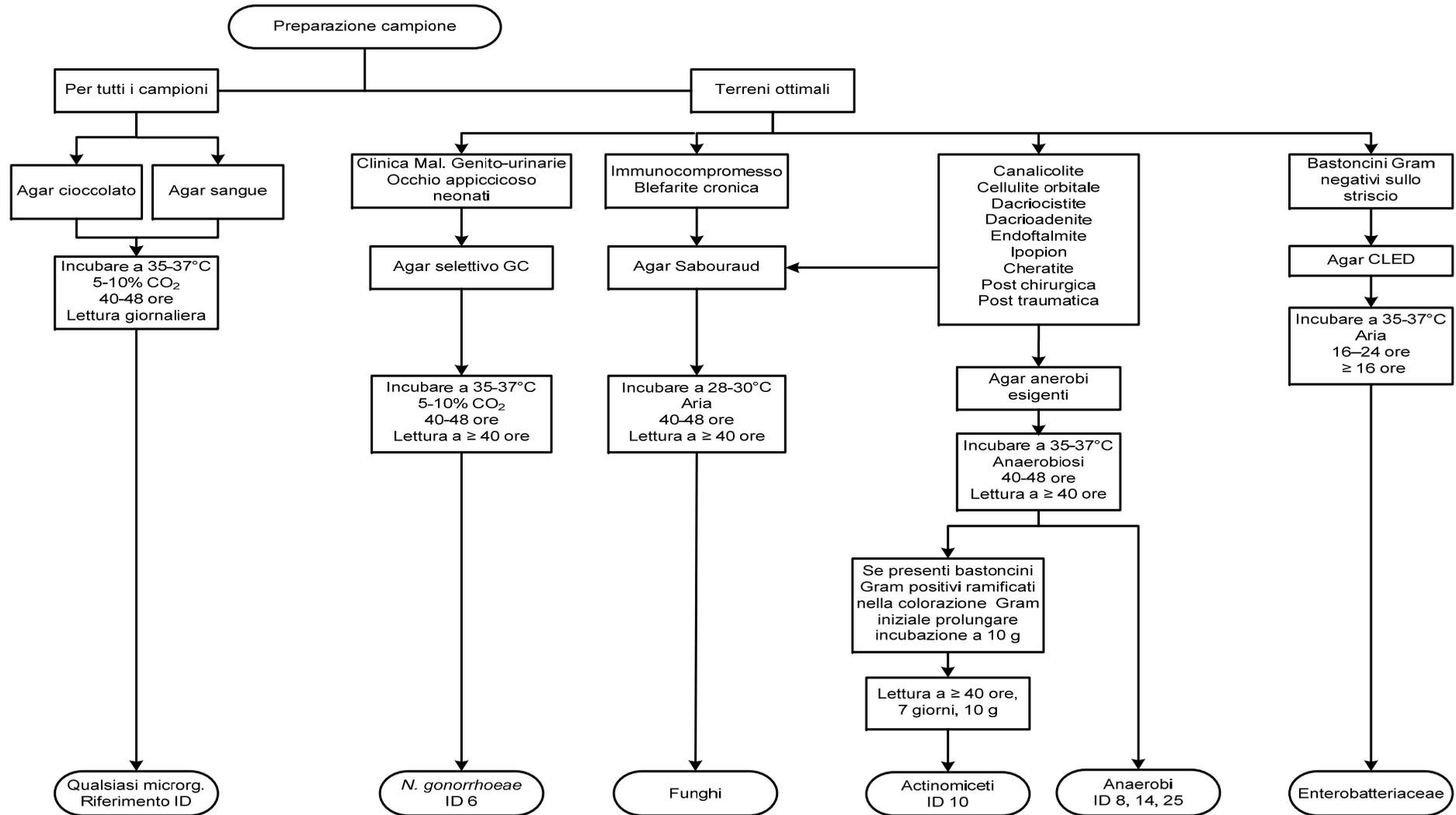
Nota: La linea guida dell'Health Protection Legislation Guidance (2010) include la segnalazione per Human Immunodeficiency Virus HIV & Sexually Transmitted Infections STIs, Healthcare Associated Infections e HCAs e Creutzfeldt–Jakob disease CJD da includere nel 'Notification Duties of Registered Medical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

Note: L'isolamento di *N. meningitidis* dovrebbe essere segnalato al CCDC

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

Esistono accordi diversi in [Scotland](#)^{46,47}, [Wales](#)⁴⁸ e [Northern Ireland](#)⁴⁹.

Appendice: Ricerca di Infezioni Batteriche dell'Occhio



Bibliografia

1. Syed NA, Hyndiuk RA. Infectious conjunctivitis. *Infect Dis Clin North Am* 1992;6:789-805.
2. Karsten E, Watson SL, Foster LJ. Diversity of microbial species implicated in keratitis: a review. *Open Ophthalmol J* 2012;6:110-24.
3. Sandstrom KI, Bell TA, Chandler JW, Kuo CC, Wang SP, Grayston JT, et al. Microbial causes of neonatal conjunctivitis. *J Pediatr* 1984;105:706-11.
4. Liesegang TJ. Bacterial keratitis. *Infect Dis Clin North Am* 1992;6:815-29.
5. Foster CS. Fungal keratitis. *Infect Dis Clin North Am* 1992;6:851-7.
6. Henry CR, Flynn HW, Jr., Miller D, Forster RK, Alfonso EC. Infectious keratitis progressing to endophthalmitis: a 15-year study of microbiology, associated factors, and clinical outcomes. *Ophthalmology* 2012;119:2443-9.
7. Keynan Y, Finkelman Y, Lagace-Wiens P. The microbiology of endophthalmitis: global trends and a local perspective. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31:2879-86.
8. Pflugfelder SC, Flynn HW, Jr. Infectious endophthalmitis. *Infect Dis Clin North Am* 1992;6:859-73.
9. Brod RD, Flynn HW, Jr. Endophthalmitis: current approaches to diagnosis and therapy. *Current Opinion in Infectious Diseases* 1993;6:628-37.
10. Joseph CR., Lalitha P, Sivaraman KR, Ramsamy K, Behera UC. Real-time polymerase chain reaction in the diagnosis of acute postoperative endophthalmitis. *Am J Ophthalmol* 2012;153:1031-7.
11. Block SL. Etiologic and therapeutic pitfalls of newborn conjunctivitis. *Pediatr Ann* 2012;41:310-3.
12. Hauser A, Fogarasi S. Periorbital and orbital cellulitis. *Pediatr Rev* 2010;31:242-9.
13. McKellar MJ, Aburn NS. Cast-forming *Actinomyces israelii* canaliculitis. *Australian & New Zealand Journal of Ophthalmology* 1997;25:301-3.
14. Brazier JS, Hall V. *Propionibacterium propionicum* and infections of the lacrimal apparatus. *Clinical Infectious Diseases* 1993;17:892-3.
15. Bernardes TF, Bonfioli AA. Blepharitis. *Semin Ophthalmol* 2010;25:79-83.
16. Raskin EM, Speaker MG, Laibson PR. Blepharitis. *Infect Dis Clin North Am* 1992;6:777-87.
17. Clarke B, Sinha A, Parmar DN, Sykakis E. Advances in the diagnosis and treatment of *Acanthamoeba* keratitis. *J Ophthalmol* 2012;2012:484892.
18. Visvesvara GS, Moura H, Schuster FL. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007;50:1-26.
19. 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".

20. 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.
21. Health and Safety Executive. Safe use of pneumatic air tube transport systems for pathology specimens. 9/99.
22. Department for transport. Transport of Infectious Substances, 2011 Revision 5. 2011.
23. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014. 2012.
24. Home Office. Anti-terrorism, Crime and Security Act. 2001 (as amended).
25. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. The Approved List of Biological Agents. Health and Safety Executive. 2013. p. 1-32
26. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Infections at work: Controlling the risks. Her Majesty's Stationery Office. 2003.
27. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Biological agents: Managing the risks in laboratories and healthcare premises. Health and Safety Executive. 2005.
28. 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.
29. 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.
30. 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.
31. Health and Safety Executive. Five Steps to Risk Assessment: A Step by Step Guide to a Safer and Healthier Workplace. HSE Books. 2002.
32. Health and Safety Executive. A Guide to Risk Assessment Requirements: Common Provisions in Health and Safety Law. HSE Books. 2002.
33. Health Services Advisory Committee. Safe Working and the Prevention of Infection in Clinical Laboratories and Similar Facilities. HSE Books. 2003.
34. British Standards Institution (BSI). BS EN12469 - Biotechnology - performance criteria for microbiological safety cabinets. 2000.
35. 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
36. Rishmawi N, Ghneim R, Kattan R, Ghneim R, Zoughbi M, Abu-Diab A, et al. Survival of fastidious and nonfastidious aerobic bacteria in three bacterial transport swab systems. J Clin Microbiol 2007;45:1278-83.
37. Barber S, Lawson PJ, Grove DI. Evaluation of bacteriological transport swabs. Pathology 1998;30:179-82.

38. Van Horn KG, Audette CD, Sebeck D, Tucker KA. Comparison of the Copan ESwab system with two Amies agar swab transport systems for maintenance of microorganism viability. *J Clin Microbiol* 2008;46:1655-8.
39. Nys S, Vijgen S, Magerman K, Cartuyvels R. Comparison of Copan eSwab with the Copan Venturi Transystem for the quantitative survival of *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* and *Candida albicans*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29:453-6.
40. Tano E, Melhus A. Evaluation of three swab transport systems for the maintenance of clinically important bacteria in simulated mono- and polymicrobial samples. *APMIS* 2011;119:198-203.
41. 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.
42. Kilvington S, White DG. *Acanthamoeba*: biology, ecology and human disease. *Rev Med Microbiol* 1994;5:12-20.
43. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Categorisation of biological agents according to hazard and categories of containment. 4th ed. Suffolk: HSE Books; 1995. p. Supplements 1, 1998 and 2, 2000.
44. Public Health England. Laboratory Reporting to Public Health England: A Guide for Diagnostic Laboratories. 2013. p. 1-37.
45. Department of Health. Health Protection Legislation (England) Guidance. 2010. p. 1-112.
46. Scottish Government. Public Health (Scotland) Act. 2008 (as amended).
47. Scottish Government. Public Health etc. (Scotland) Act 2008. Implementation of Part 2: Notifiable Diseases, Organisms and Health Risk States. 2009.
48. The Welsh Assembly Government. Health Protection Legislation (Wales) Guidance. 2010.
49. Home Office. Public Health Act (Northern Ireland) 1967 Chapter 36. 1967 (as amended).