

# EVOLUZIONE IN BATTERIOLOGIA

## DALLA COLTURA MANUALE ALLA TOTALE AUTOMAZIONE

Rossi M.Rita

AOU S.Anna Ferrara Laboratorio Unico Provinciale  
MOD Microbiologia e Sierologia



Uro-Quick



**HB&L**  
UROQUATTRO



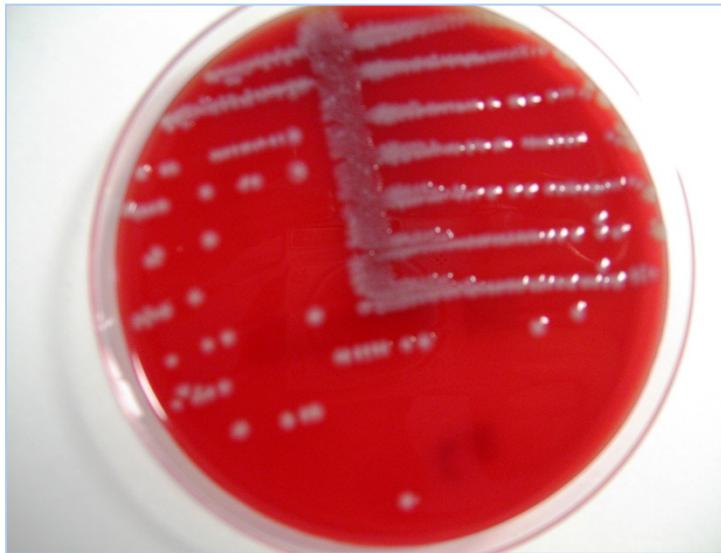
ALFRED  
60



**SIDE CAR**

Il “gold standard” per **la diagnosi delle UVI** è un esame colturale delle urine positivo con

**CARICA BATTERICA SIGNIFICATIVA**



# CARICA BATTERICA SIGNIFICATIVA

Nell'adulto con batteriuria asintomatica una carica batterica  $\geq 10^5$  unità formanti colonia/ml (UFC/ml) permette di distinguere una contaminazione da una infezione vera, se il campione di urine è raccolto con la metodica del "mitto intermedio".

*Sanford JP Annual Reviews Inc, 1975; Kass EH Trans Assoc Am Physicians 1956;69:56-63*

Nel soggetto con batteriuria e sintomi, l'accuratezza aumenta se il cut-off è  $\geq 10^2$  unità formanti colonia/ml.

*Stamm WE et Al. N Engl J Med 1982;307(8):463-468*

In relazione alla metodica di raccolta e al numero di specie  $\geq 10^4$  UFC/ml per prelievo non invasivo,  $\geq 10^3$  UFC/ml per prelievo invasivo

*Yvette S.McCarter, Eileen M.Burd, Gerri S.Hall, and Marcus Zervos  
Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections CUMITECH 2C 2009*



# Esame colturale urine ***PRIMA DELL'AUTOMAZIONE***

## **Possibili errori in fase analitica**

- » Errore volumetrico di dispensazione
- » Tecnica di semina per conta non sempre accurata

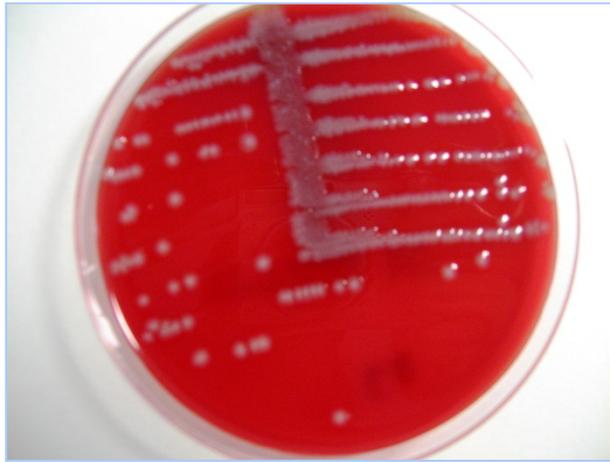


# Esame colturale urine

## ***PRIMA DELL'AUTOMAZIONE***

### **Possibili errori in fase post-analitica**

- » Interpretazione soggettiva della carica batterica
- » Errori di trascrizione



# Esame colturale urine

## ***PRIMA DELL'AUTOMAZIONE***

### **Tempi di refertazione**



- I terreni di coltura seminati necessitano di 18-24 ore di incubazione prima dell'osservazione
- Anche i campioni negativi sono refertati il giorno seguente la consegna al Laboratorio



# ALIFAX

## LIGHT-SCATTERING E RILEVAZIONE DELLA CRESCITA



Uro-Quick



ALFRED 60 + HB&L UROQUATTRO



# Uro-Quick



Composto da:

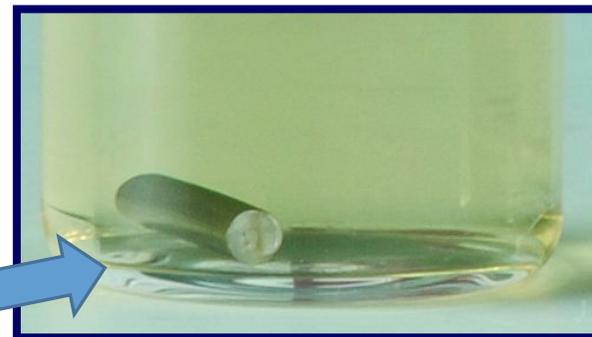
- Unità di incubazione e lettura con 60-120 posti
- Personal computer
- Fornito di collegamento bidirezionale con LIS
- Stampante

Presentato per la prima volta al Congresso Italiano di Microbiologia nel 1991 e introdotto negli ospedali italiani nel **1992**

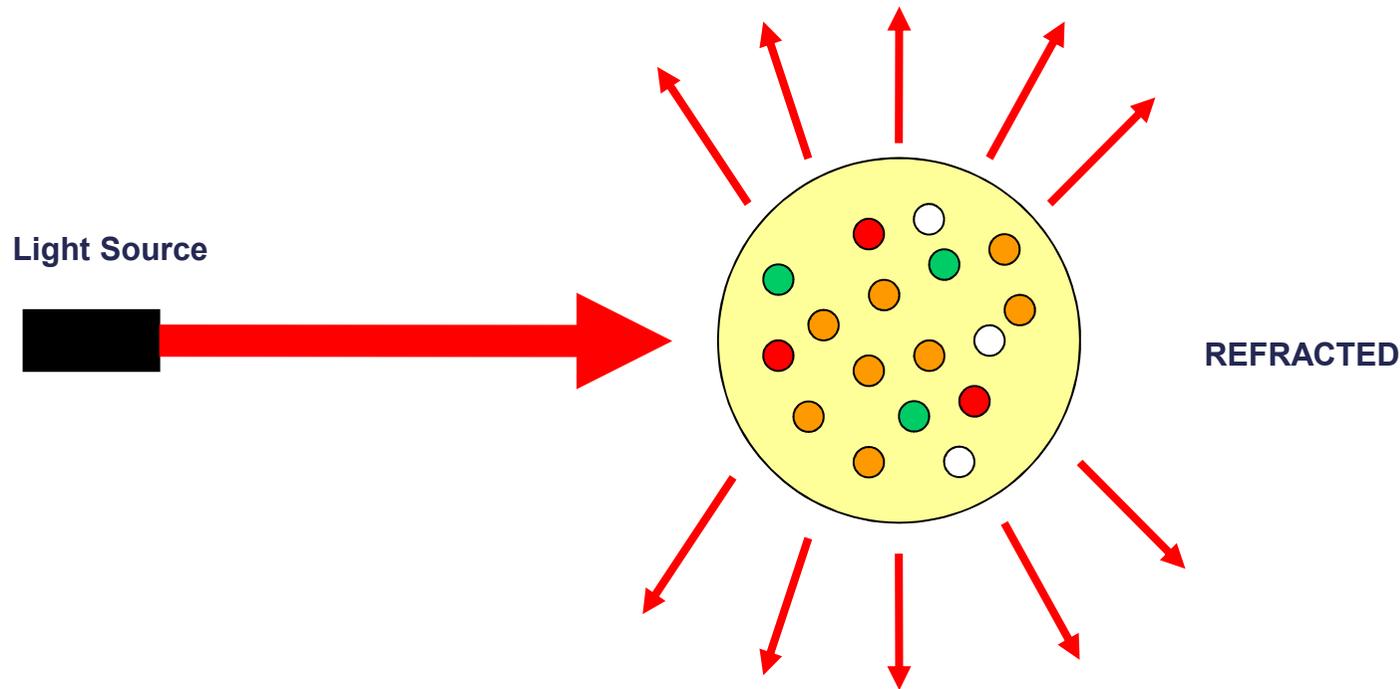


# ***Principio: crescita batterica in brodo eugonico***

- Il brodo eugonico garantisce i nutrienti e le condizioni ottimali per la crescita batterica dei germi
- Per ottimizzare la crescita, sul fondo è posta un'ancoretta magnetica



# Lightscattering



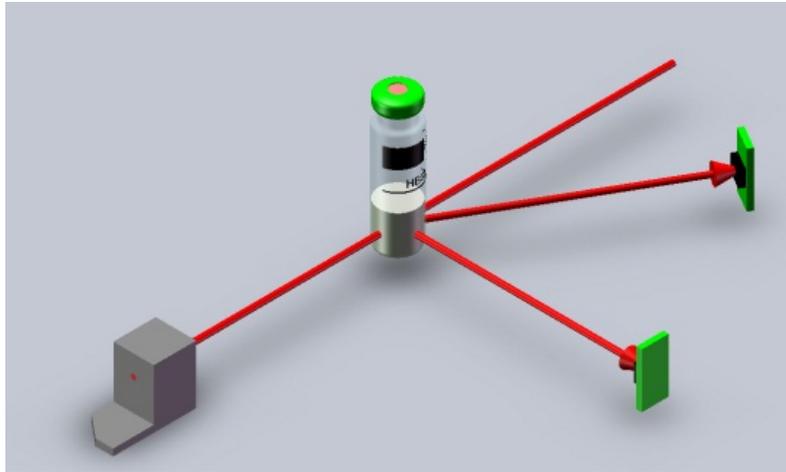
Scattering Signal = f ( N, D,  $RI_M$ ,  $RI_P$ ...)

Scattering Signal = f ( Mass, **Shape**,...)

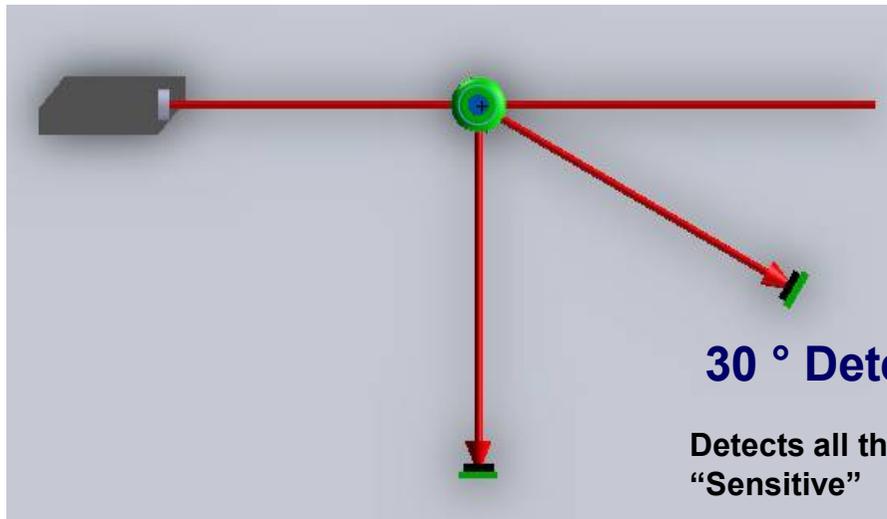
N= number of particles  
D= dimension of particles  
 $RI_M$  =refraction index of media  
 $RI_P$  =refraction index of particles

If Number of particles  $\uparrow$  the Signal  $\uparrow$





# *Laser Light Scattering*



**30 ° Detector**

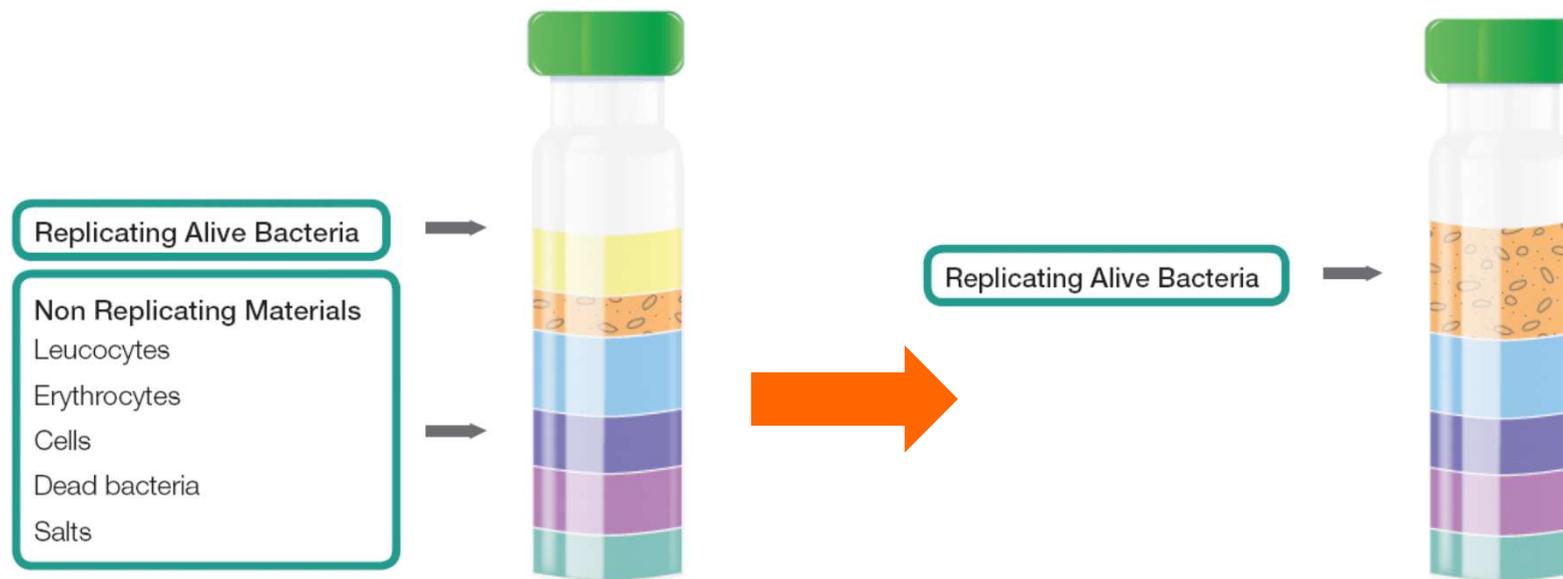
Detects all the particles  
"Sensitive"

**90 ° Detector**

Selective for Size and Shape  
of particles  
"Specific"



# ***Sono rilevati SOLO i batteri vivi***



**Solo i batteri vivi** sono rilevati, i materiali che non replicano sono eliminati con la lettura iniziale: bianco



# ***Cinetica delle curve di crescita***

La cinetica delle curve di crescita dipende da

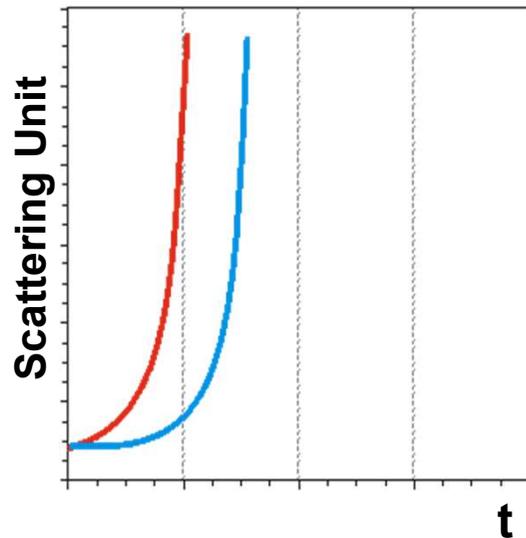


# Visualizzazione grafica delle curva di crescita

Le curve di crescita assumono caratteristiche legate a VELOCITA' DI REPLICAZIONE, MASSA, FORMA E NUMERO DI BATTERI.

## GRAM-

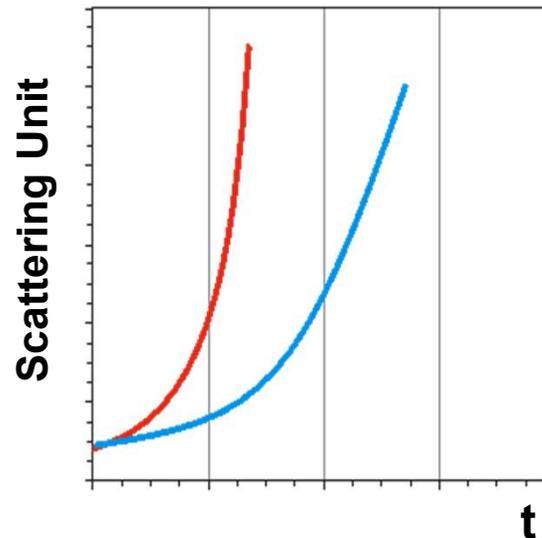
Enterobacteriaceae  
(E.coli, Proteus, Klebsiella, etc.)



Tipologia di crescita  
VELOCE

## GRAM+

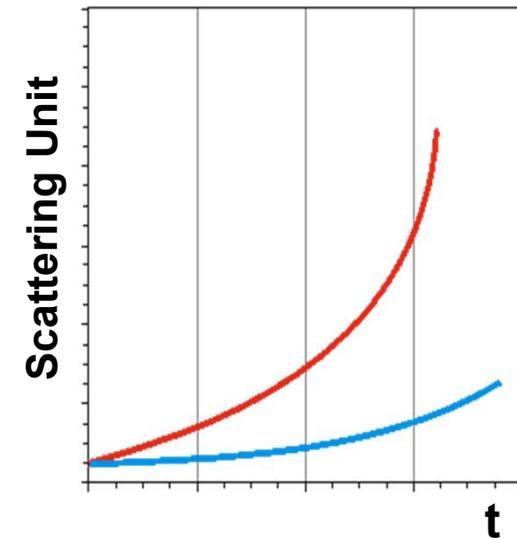
(Streptococcus, Staphylococcus,  
Enterococcus)



Tipologia di crescita  
MEDIO-LENTA

## LIEVITI

Candida, G- NF



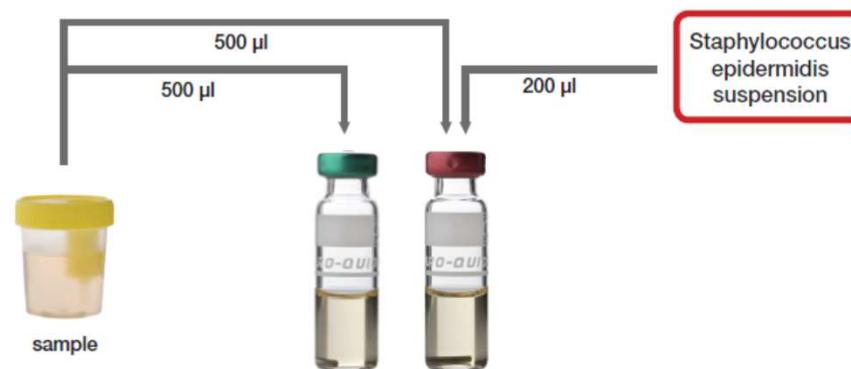
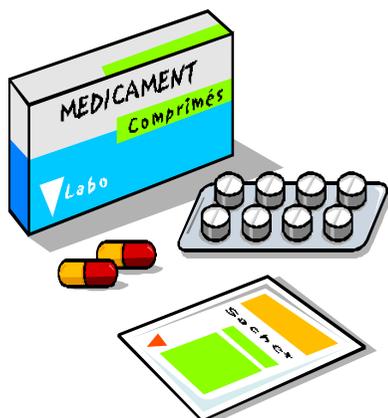
Tipologia di crescita  
LENTA



# Potere Antibatterico Residuo - P.A.R. test

Il P.A.R. può essere eseguito, contestualmente allo screening, per rilevare la presenza di sostanze capaci di inibire la crescita batterica quali:

- Antibiotici
- Farmaci con attività antibatterica
- Sostanze naturali con effetto antimicrobico



## VANTAGGI

In assenza di dati clinici, l'esecuzione del P.A.R. test in associazione alla coltura, è essenziale per una corretta diagnosi di infezione.



# ***URO QUICK***

## ***Screening automatico urine***

### **Vantaggi**

- ❑ Inoculo standardizzato
- ❑ Condizioni di crescita standardizzata a 37°C e mixing continuo del brodo
- ❑ Esatto numero di Unità Formanti Colonia per ml (CFU/ml)
- ❑ Possibilità di stabilire il cut-off di positività
  - Trasferire in maniera automatica e precisa i risultati
  - Refertare in giornata i negativi
  - Processare solo i campioni positivi



# HB&L and Alfred60

## TEST E APPLICAZIONI

 Urinocoltura	3 ore (cut-off 30.000 CFU/ml)
 Potere Antimicrobico Residuo	contemporaneamente al test colturale
 Coltura Batterica di Liquidi Biologici Umani	6 ore (cut-off <50 UFC/ml)
 Coltura Batterica di campioni speciali	6 ore (cut-off <50 UFC/ml)
 Mc Farland Monitor	
 Antibiogramma personalizzato per:	3 ore
<ul style="list-style-type: none"><li>• Urine</li><li>• Liquidi Biologici Umani</li><li>• Emocoltura positiva</li><li>• Colonie isolate</li></ul>	



**HB&L**  
UROQUATTRO



ALFRED 60



# ALFRED

60 campioni



CE

- **Pipetta automaticamente 60 campioni da provetta madre**
- Identifica il campione attraverso la lettura del barcode
- Processa i campioni
- Valuta la concentrazione Mc Farland
- Dispone di un'area refrigerata per i campioni positivi e gli antibiotici
- Crea un report dei risultati
- E' collegato al LIS
- E' collegato ad HB&L
- **La soglia di sensibilità è programmabile fino a 1 CFU/ml**

Dispensing procedure	Intero ciclo di processazione
<b>60 Urinocolture</b> 1 Vial x campione	71 minuti
<b>30 Urinocolture + 30 PARtests</b> 2 Vials x campione	64 minuti



# HB&L

UROQUATTRO

120 samples



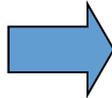
CE

- 2 cassette per 60 campioni per un totale di 120 campioni
- Valuta la concentrazione Mc Farland
- Mc Farland Monitor
- Interpreta
- Crea un report dei risultati
- LCD touch screen
- Ha un PC integrato
- Stampante incorporata
- E' collegato al LIS
- **La soglia di sensibilità è programmabile fino a 1 CFU/ml**



# ALFRED 60

## Connessione con HB&L



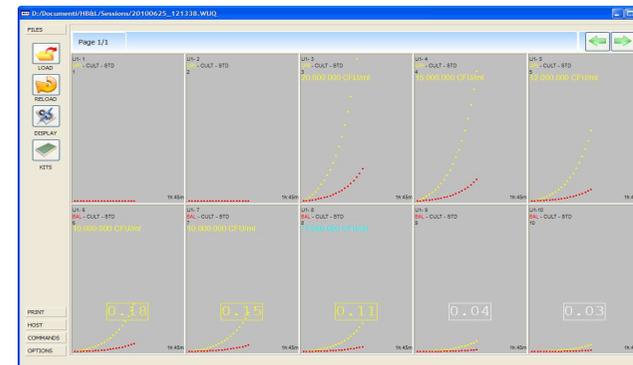
**DISPENSAZIONE  
CAMPIONI in ALFRED 60**

**TRASFERIMENTO VIALS**  
con un piatto meccanico da ALFRED 60 a HB&L

**Il software dei 2 strumenti è integrato e la  
rilevazione della crescita batterica NON  
VIENE INTERROTTA**



**CONTINUA L'ANALISI in  
HB&L**



**TRASFERIMENTO DATI**  
attraverso connessione seriale  
da ALFRED 60 a HB&L



# Coltura batterica dei Liquidi Biologici Umani

Il brodo particolarmente ricco e un nuovo supplemento garantiscono la crescita di microrganismi esigenti tipo *Haemophilus influenzae* e *Neisseria meningitidis* e di campioni caratterizzati da conte batteriche estremamente basse

1. HB&L™ CULTURE KIT
2. HB&L™ P.A.R. TEST KIT
3. HB&L™ DEB KIT (Difficult Element Broth)

**Il risultato negativo dell'esame colturale è ottenibile in 6 ore (cutoff 1 CFU/ml) i positivi già dopo 45 minuti**

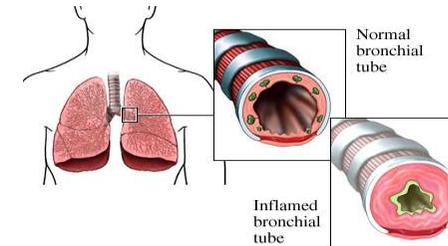
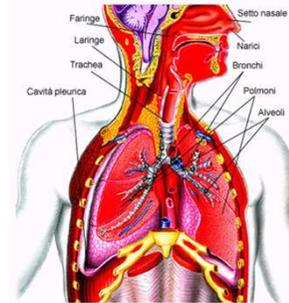


# CE Marked Applications

Non sterile

CE Marked

Bronchoalveolar lavage  
Orotracheal Aspirates  
Expectorates



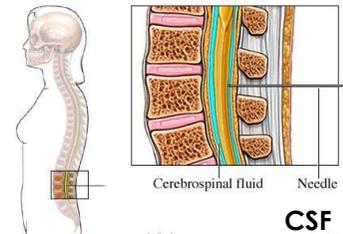
Sterile

CE Marked

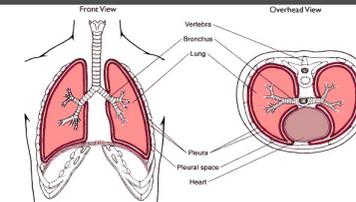
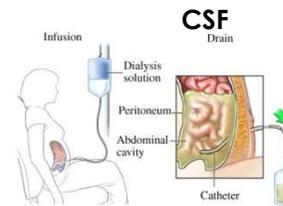
CSF  
Synovial Fluid  
Pleural Fluid  
Ascitic Fluid  
Peritoneal Fluid



Synovial Fluid



Peritoneal Fluid



Pleural Fluid

Ascitic Fluid

Increased amount of fluid between abdominal structures



# ***HB&L and Alfred60***

## **Vantaggi rispetto ad URO QUICK**

- ❖ **Flessibilità**  
Coltura di urine e Liquidi biologici umani - P.A.R.- Antibiogramma clinico
- ❖ **Aumentata gamma di scelta del tempo di incubazione e sensibilità**
- ❖ **Utilizzo provetta primaria barcodata**  
Riduzione rischio biologico - Riduzione errori identificazione paziente
- ❖ **Tracciabilità del campione garantita dal lettore di codice a barre e archivio sedute effettuate**
- ❖ **Riduzione del TAT**  
Precoce rilevazione crescita e anticipata refertazione del test sensibilità



*Anno 2013*

**NEW**



**SIDECAR**



# ***CARATTERISTICHE***



- Coltura batterica urine e liquidi biologici
- Rilevazione in real time delle curve di crescita batterica e della carica batterica
- Antibiogramma da coltura batterica o da emocolture positive in 3 ore
- **Semina automatica personalizzabile dei campioni**
- Stoccaggio refrigerato e incubatore per 240 piastre
- Gestione lotto e scadenza piastre
- Tempo di incubazione personalizzabile a 37°C per piastra
- Fino a 12 diversi terreni per campione
- Etichettatore di bar code per singola piastra



# Modalità di lavoro

1. Coltura rapida (modalità Alfred60 AST)
2. Semina su piastra di campioni primari risultati positivi alla coltura rapida
- 3. Screening MRSA, KPC, VRE, GBS ed ESBL con semina automatica dei campioni positivi**
- 4. Semina su piastra di campioni primari selezionati quali urine, tamponi, campioni speciali da tubo primario**
5. Semina contestuale di campione primario su piastra e inoculo in vial



# *Connessione ad HB&L per aumentare la produttività*



***Area refrigerata a 4°C per  
stoccaggio 240 piastre Petri  
(da 90 mm)***

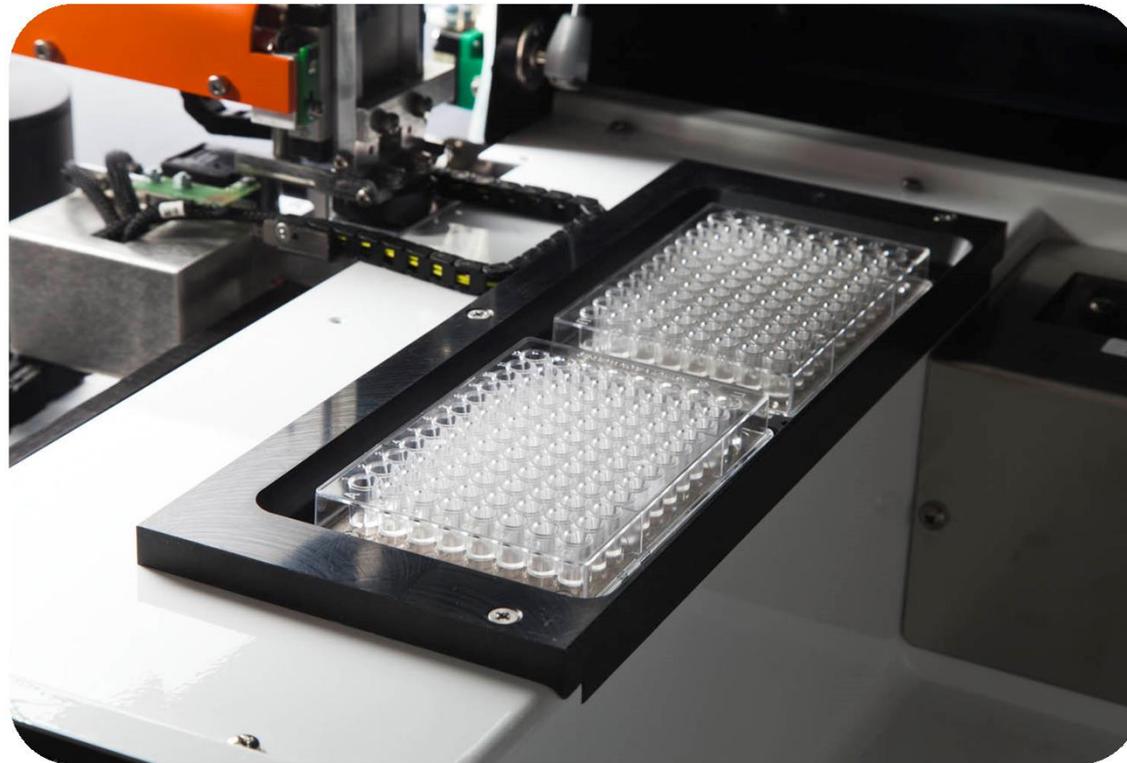


# ***Lettura del Bar-code dei campioni primari***

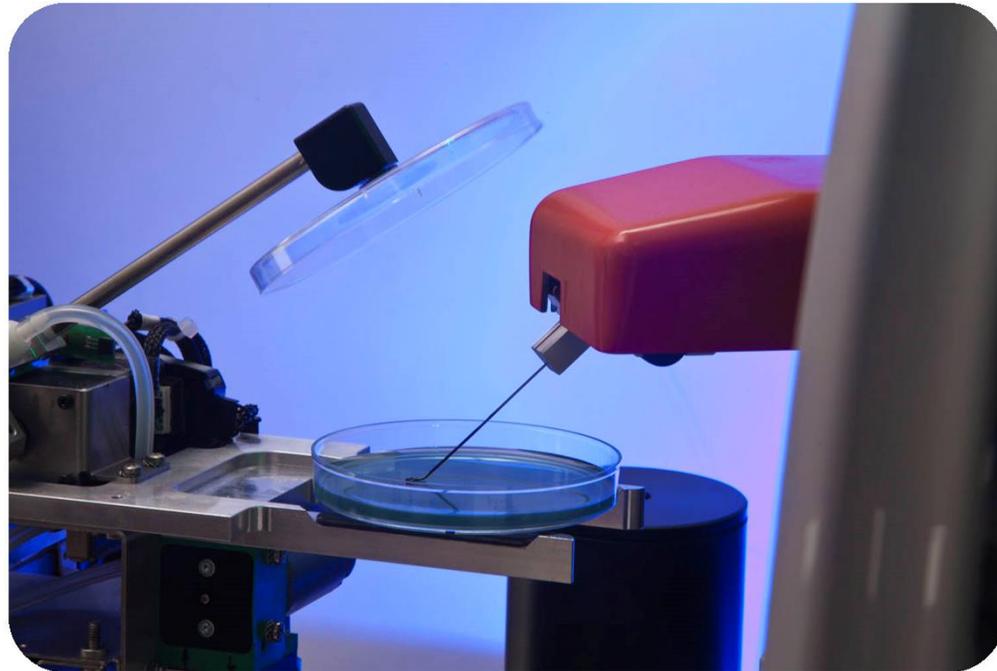


**Dispensazione di 200  $\mu$ l di tutti i campioni primari  
in area refrigerata: 192 pozzetti (2 x 96)**

Ogni posizione viene mappata dal software

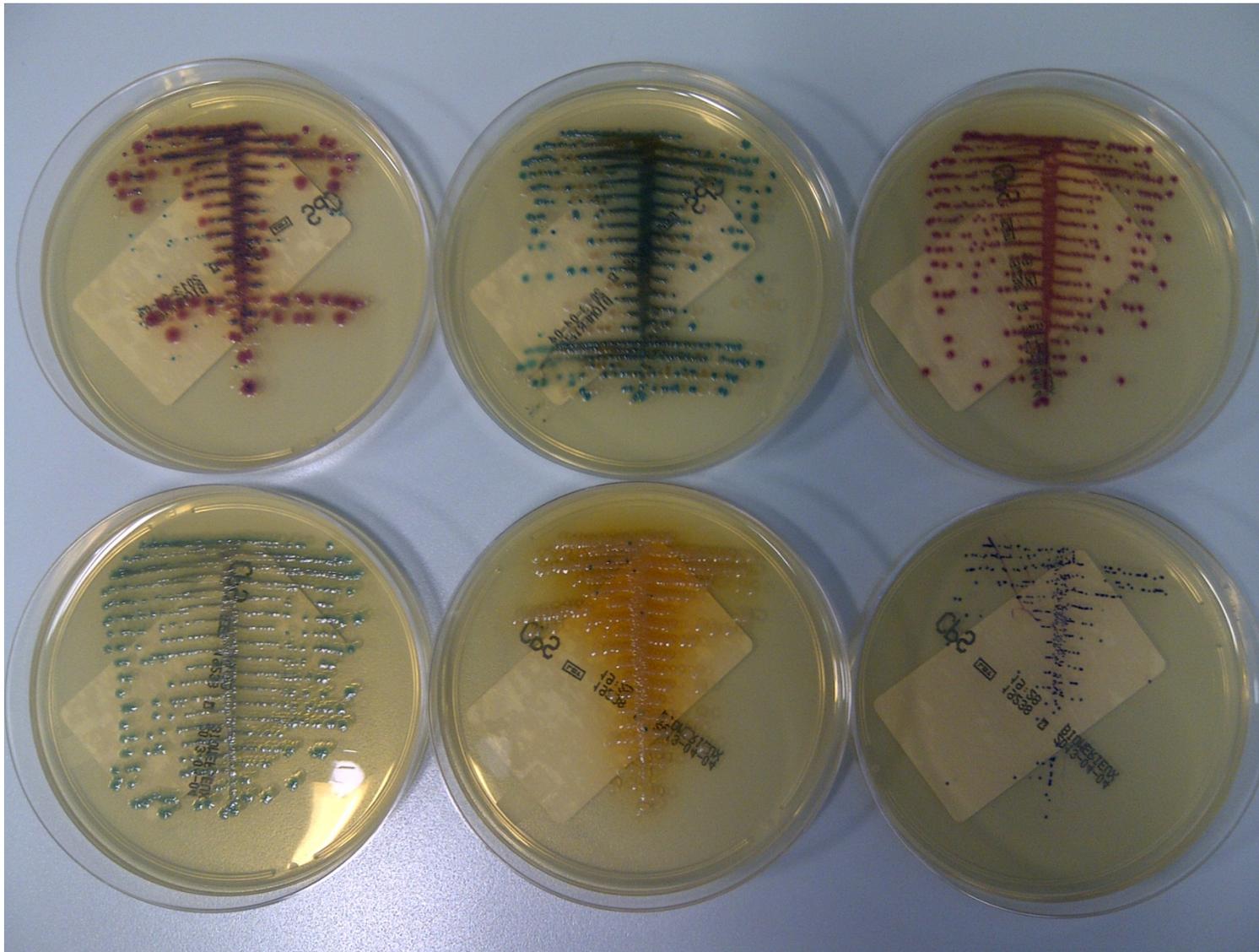


# ***Semina automatica su Piastre Petri***



**L'ansa viene sterilizzata a caldo prima del prelievo e dopo ogni semina**





Esempi di semina con ansa da 5  $\mu$ l



# ***SIDECAR***

## ***Ulteriori Vantaggi rispetto ad ALFRED and HBL***

- ❖ Potenzia le condizioni di sicurezza rispetto al rischio biologico
- ❖ Standardizza la fase di semina migliorando la qualità analitica
- ❖ Garantisce la tracciabilità del campione dall'accettazione alla semina su piastra fino alla trasmissione dei risultati
- ❖ **Aumenta la produttività generale del personale**
- ❖ **Rende possibile la redistribuzione del lavoro in termini di appropriatezza gestionale** 



# Arcispedale S. Anna Ferrara anno 2008





**Nuovo Arcispedale S. Anna  
Cona-Ferrara anno 2013**









La breve sperimentazione sul campo ha dato risultati molto soddisfacenti anche se numericamente insufficienti per una elaborazione statistica

Il vantaggio più palese risulta la riduzione dell'attività manuale del TSLB e, a cascata, la possibilità di un recupero di professionalità

si refertano i negativi in giornata e si riduce il numero di colture in piastra da osservare

Sarà così possibile sfruttare a pieno le potenzialità dello strumento ampliando la gamma delle indagini eseguibili andando incontro alle esigenze del paziente critico

