

# 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



**SIDECAR**

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

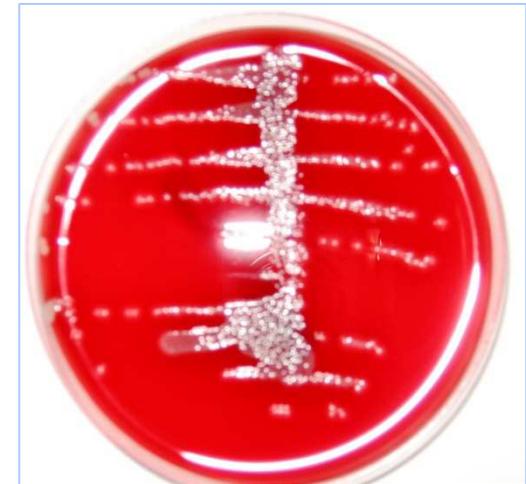
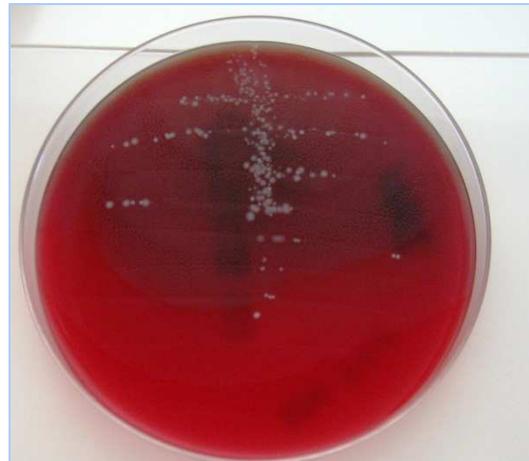


# Esame colturale urine

## ***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



SIDE CAR



# Uro-Quick



Composto da:

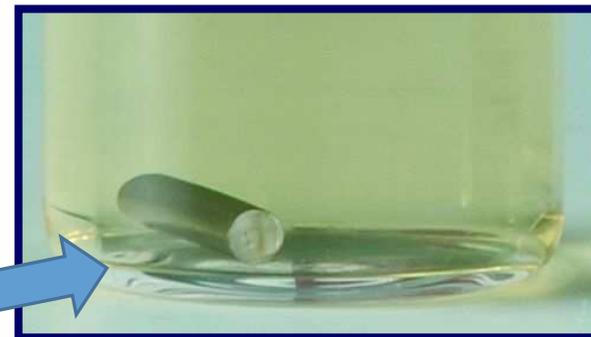
- Unità di incubazione e lettura con 60-120 posti
- Personal computer
- Fornito di collegamento bidirezionale con LIS
- Stampante

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

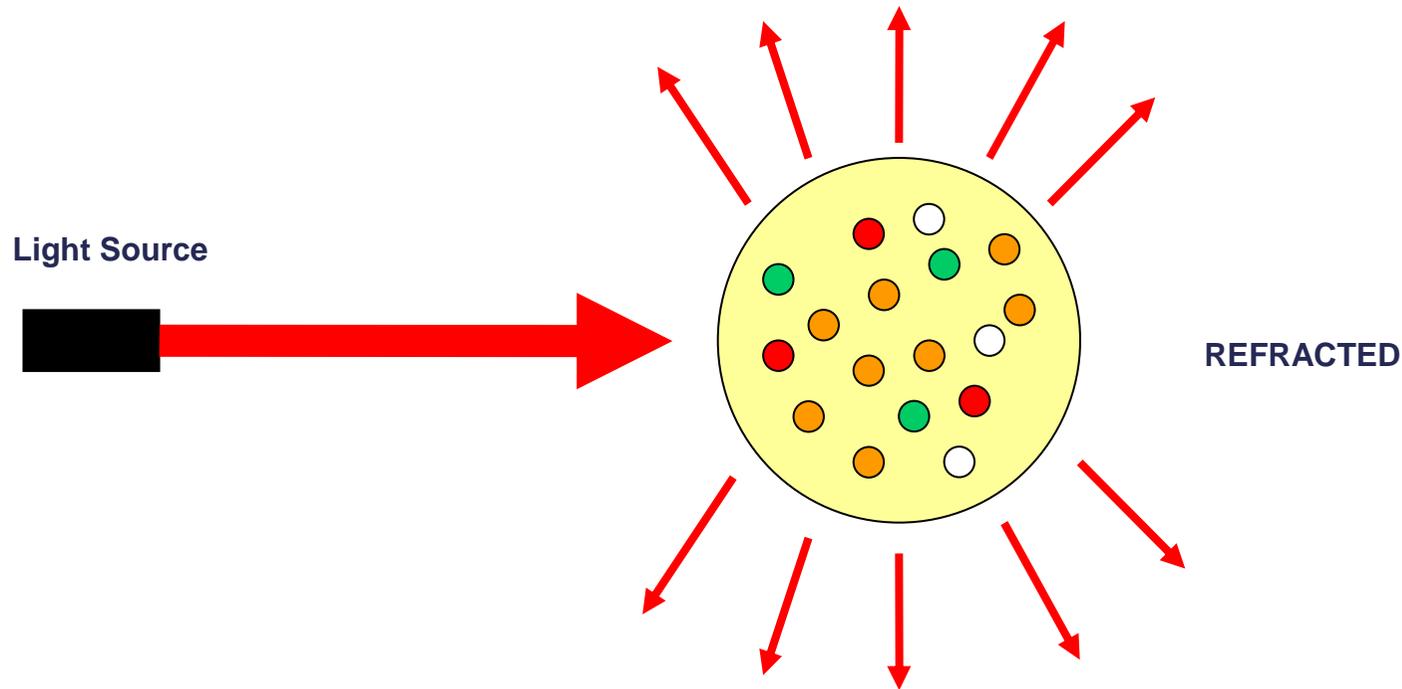


# ***Principio: crescita batterica in brodo eugonico***

- 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



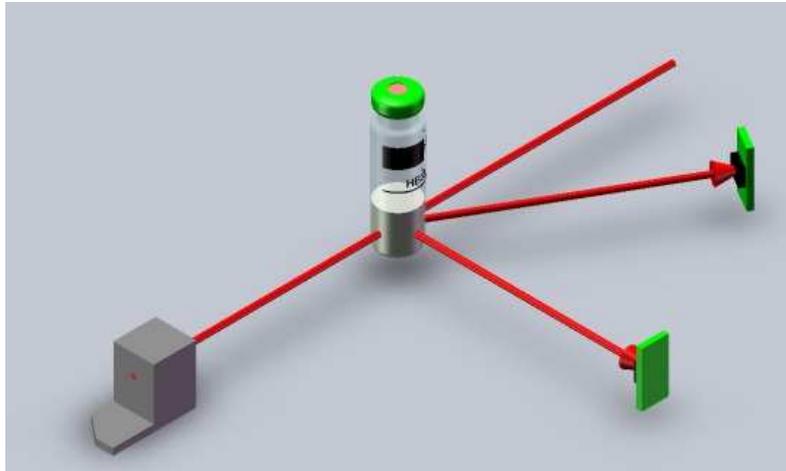
Scattering Signal = f ( N, D,  $RI_M$ ,  $RI_P$ ...)

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

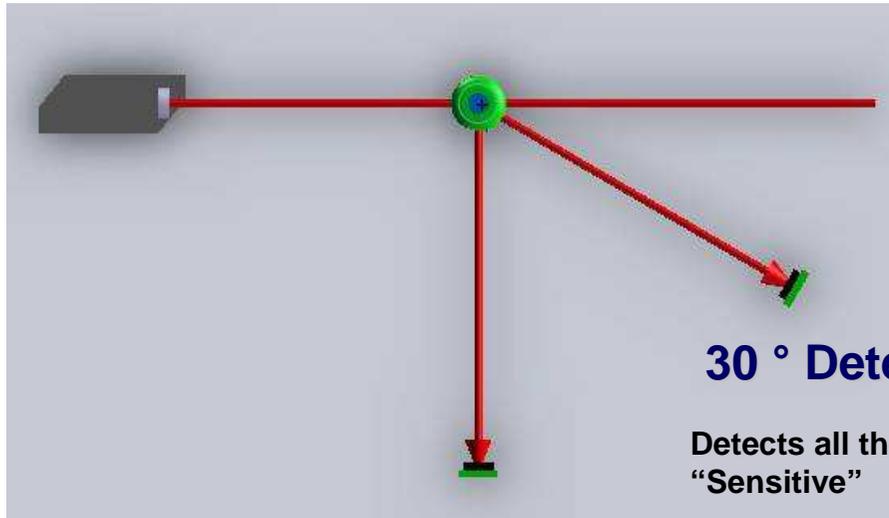
N= number of particles  
D= dimension of particles  
 $RI_M$  =refraction index of media  
 $RI_P$  =refraction index of particles

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





# ***Laser Light Scattering***

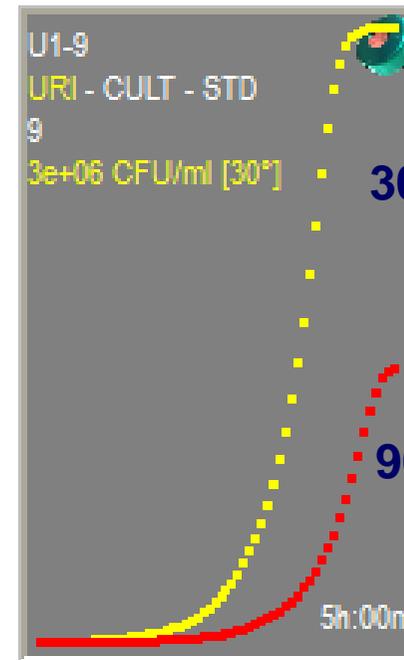


**30 ° Detector**

Detects all the particles  
"Sensitive"

**90 ° Detector**

Selective for Size and Shape  
of particles  
"Specific"



**30 ° Signal**

**90 ° Signal**



U1-9

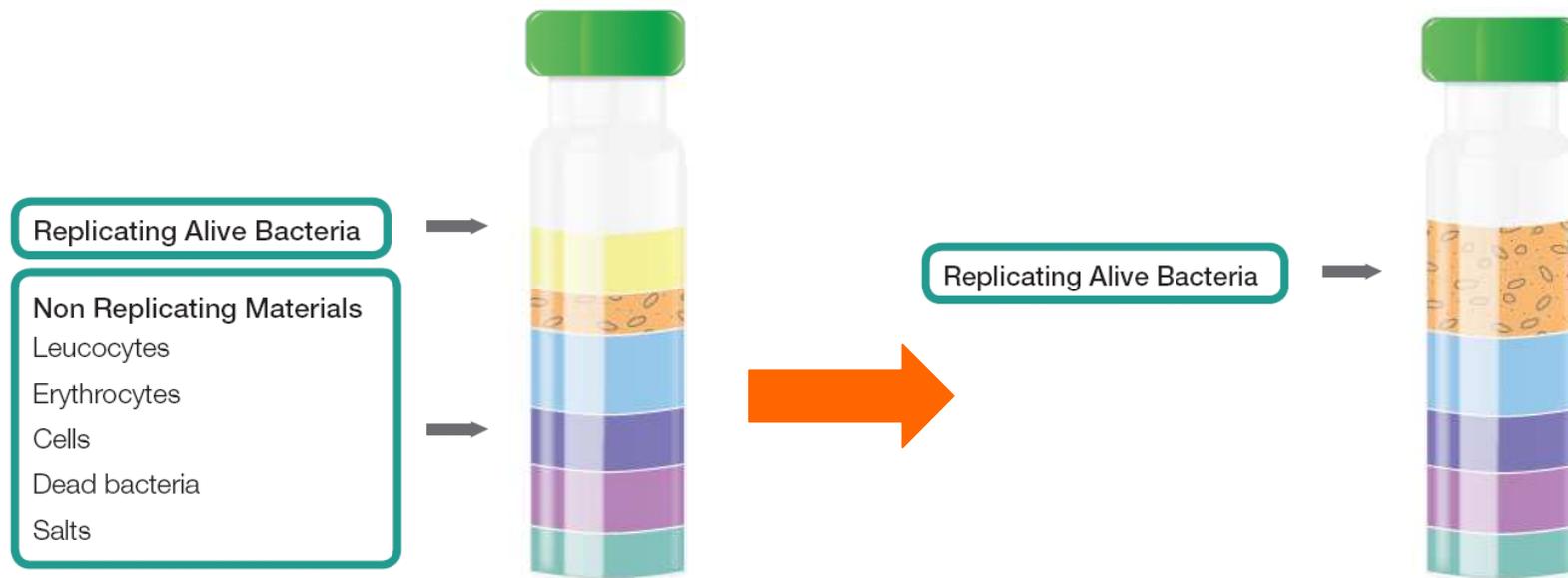
URI - CULT - STD

9

3e+06 CFU/ml [30°]

5h:00m

# ***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

**NUMERO INIZIALE DEI MICRORGANISMI**

**RITMO DI REPLICAZIONE**

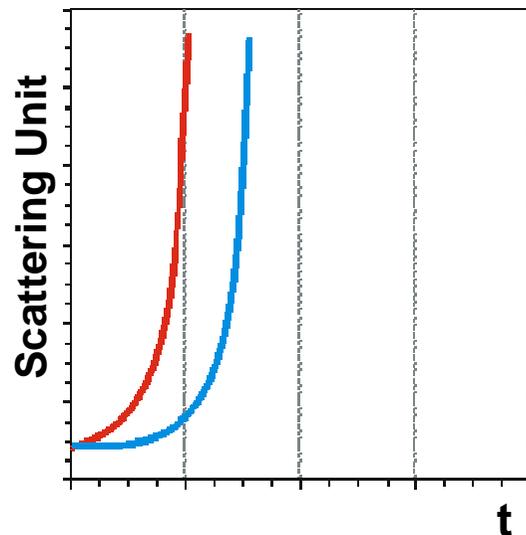


# Visualizzazione grafica delle curva di crescita

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

## GRAM-

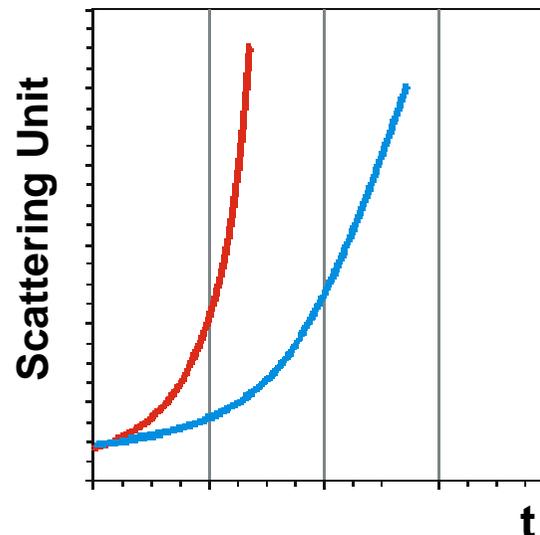
Enterobacteriaceae  
(E.coli, Proteus, Klebsiella, etc.)



Tipologia di crescita  
VELOCE

## GRAM+

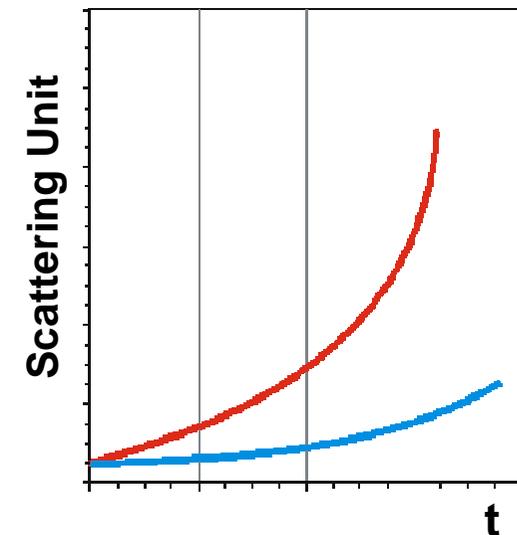
(Streptococcus, Staphylococcus,  
Enterococcus)



Tipologia di crescita  
MEDIO-LENTA

## LIEVITI

Candida, G- NF



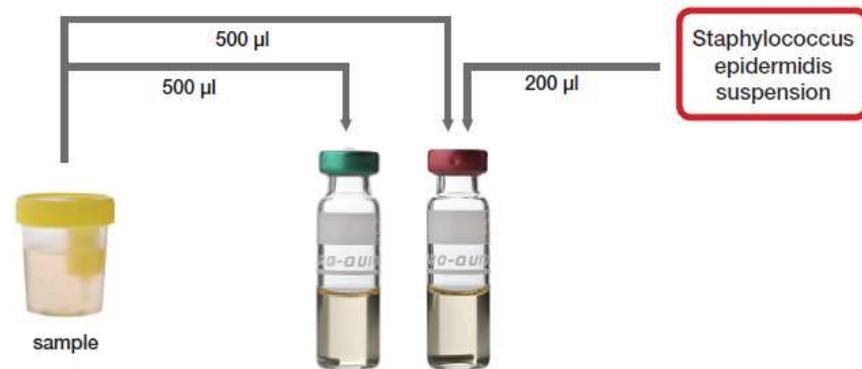
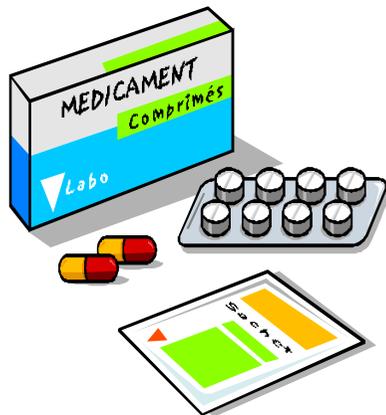
Tipologia di crescita  
LENTA



# 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***

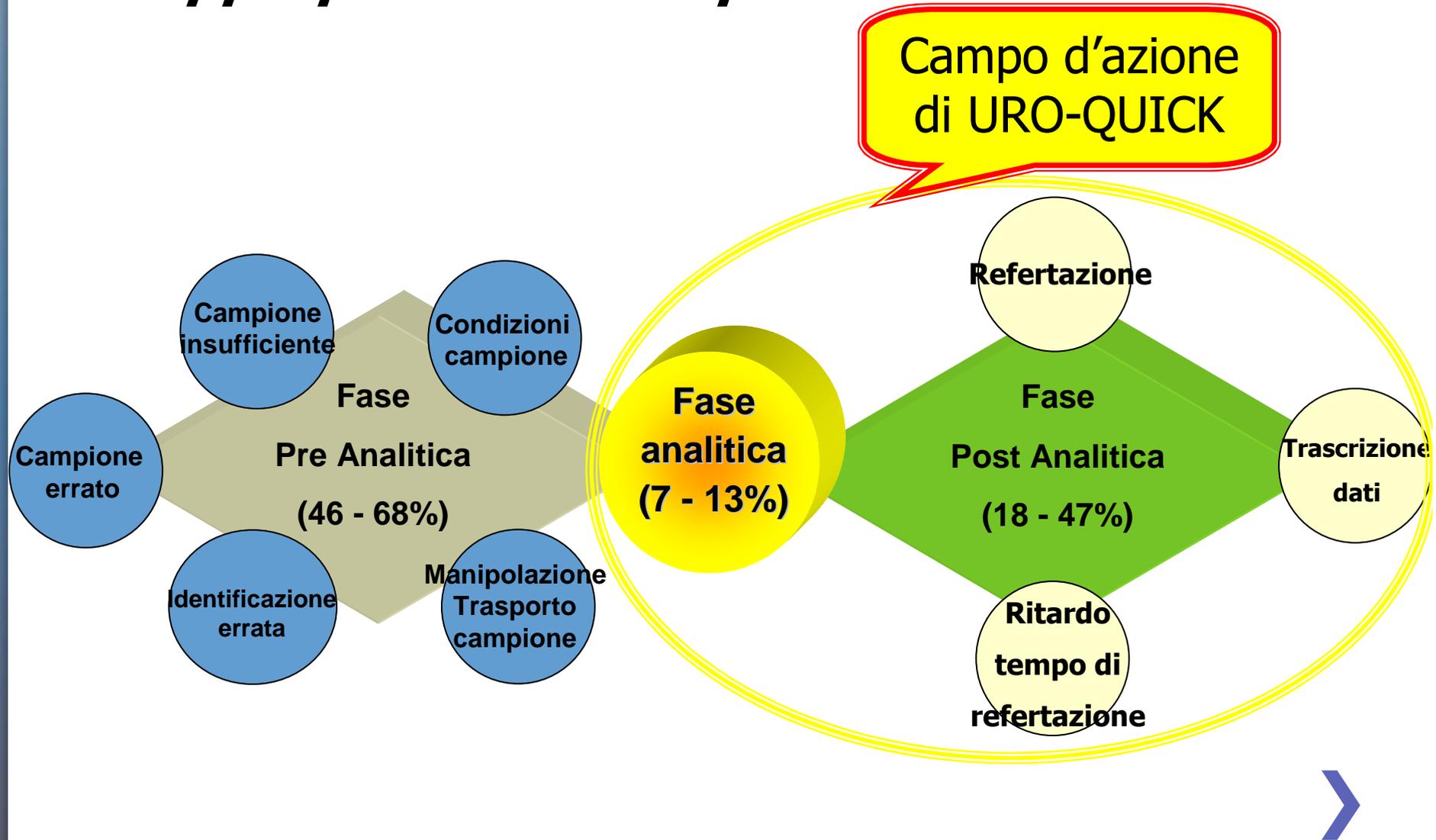
## ***Screening automatico urine***

### **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



# ***Impatto tecnologia ALIFAX sull'appropriatezza del processo analitico***



# 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



# 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 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





# 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**

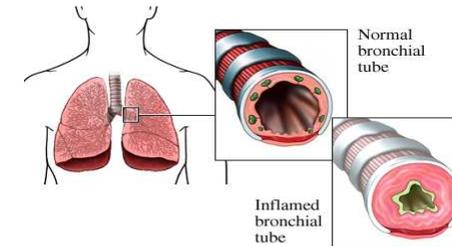
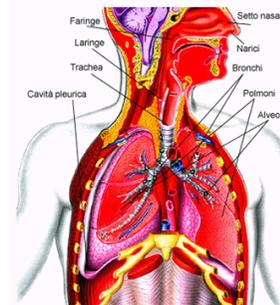


# CE Marked Applications

**Non sterile**

CE Marked

Bronchoalveolar lavage  
 Orotracheal Aspirates  
 Expectorates



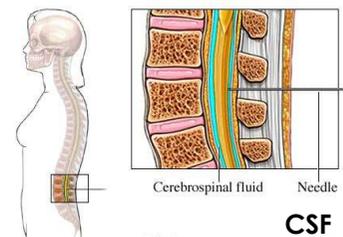
**Sterile**

CE Marked

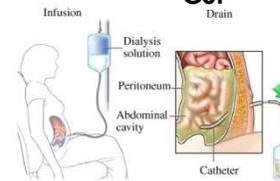
CSF  
 Synovial Fluid  
 Pleural Fluid  
 Ascitic Fluid  
 Peritoneal Fluid



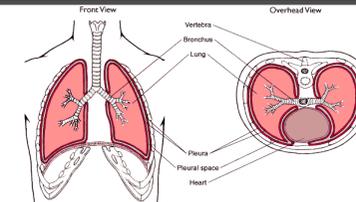
Synovial Fluid



CSF



Peritoneal Fluid



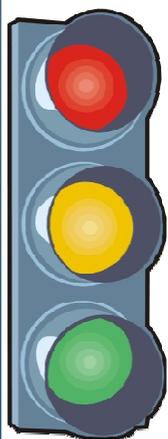
Pleural Fluid

Ascitic Fluid

Increased amount of fluid between abdominal structures

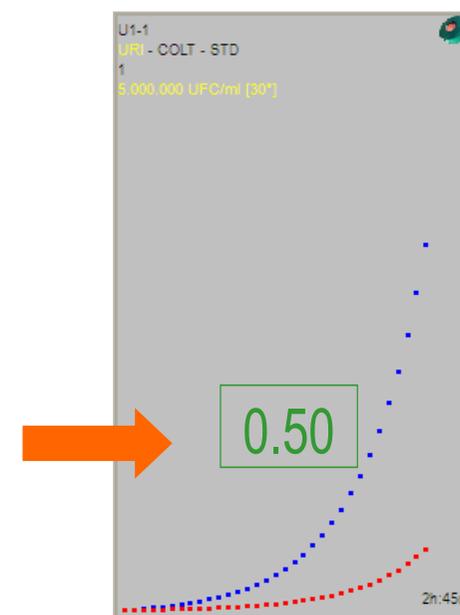


# McFarland Monitor



» **McFarland Monitor** è un nuovo strumento in grado di monitorare in tempo reale il valore di torbità legato allo sviluppo dei batteri durante lo screening

» Un suono e un segnale luminoso avvisano l'operatore quando viene raggiunto lo **0.5 McFarland** necessario per l'esecuzione dell'antibiogramma diretto



# ANTIBIOGRAMMA ALIFAX

L'antibiogramma Alifax può essere eseguito partendo da campione di:

- Crescita batterica rapida
- Colonie isolate
- Emocolture positive



# ANTIBIOGRAMMA PER EMOCOLTURE POSITIVE

L'antibiogramma diretto con il kit Alifax riduce in modo consistente il Turnaround Time (TAT) rispetto ai metodi tradizionali.

1. POSITIVE SAMPLE SELECTION AND MICROSCOPE EVALUATION



2. DILUTION 1:10 OF POSITIVE BLOOD CULTURE BROTH IN SALINE SOLUTION



3. 500 µl SUSPENSION DILUTION IN A HB&L™ CULTURE VIAL + DEB SUPPLEMENT UNTIL THE 0.5 MCFARLAND



4. ALIFAX AST with a customized antibiotic panel following:

- Gram indication
- Administered drug information
- Therapeutic protocols data and guide line



5. RESULTS IN 3 HOURS



# ***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



From 1992 more than 60 scientific publications on Alifax technology.

Anno	N° Campioni	Sensibilità %	Specificità %	VPP%	VPN %	Concordanza
1995	1126	96,3	99,7	99,4	98,1	98,6
1997	642	93,24	98,76	98,76	99,11	98,28
2008	755	98,5	97,5	97,09	98,78	98,01

PERFORMANCE OF URO-QUICK, A NEW AUTOMATED  
METHOD FOR THE DETECTION OF BACTERIURIA

O. Soro, M. Raggi, G.C. Schito, Institute of Microbiology, University of Genoa - Italy

**EVALUATION OF AUTOMATED BACTERIURIA SCREENING SYSTEM  
IN SAMPLES COLLECTED IN THE PRESENCE OF BACTERIOSTATIC SUBSTANCES**

*I. Russo, E.M. Magliano, Microbiology Laboratory,  
NIGUARDA HOSPITAL, Milan, Italy*

## Urine culture automation new diagnostic and organizational paths

Presentation of Dr. Ricci L.

A.O. S.M. Nuova Microbiology Laboratory of Reggio Emilia (Italy)



# ANTIBIOGRAMMA

## Antibiotic Susceptibility Tests Directly on Urine Samples Using Uro-Quick, A Rapid Automated System

S. ROVETA - A. MARCHESE - E.A. DEBBIA

Institute of Microbiology, C.A. Romanzi, DISCAT- University of Genoa - Largo Rosanna Benzi 10 -16132 Genoa, Italy.

- » **12.579 urine samples** collected from in-patients (9906) and out-patients (2673), June 2003 - March 2004. Positive samples were processed for antimicrobial susceptibility tests by **standard disk-diffusion method**.
- » Globally **1590 gram-negative** and **358 gram-positive** pathogens were isolated. Polymicrobial samples (3.5%) were excluded from the study.
- » **The present findings demonstrate and confirm, on a large number of bacteria, that Uro-Quick system performs efficiently in the determination of the antibiotic susceptibility patterns of Gram- and Gram+ bacteria representing the most important community acquired and nosocomial urinary tract pathogens with an agreement > 90% with the standard disk-diffusion method”.**

# COLTURE DI LIQUIDI BIOLOGICI UMANI

Received: 2007.08.14

Accepted: 2008.06.03

Published: 2009.02.01

## Authors' Contribution:

- A** Study Design
- B** Data Collection
- C** Statistical Analysis
- D** Data Interpretation
- E** Manuscript Preparation
- F** Literature Search
- G** Funds Collection

## A novel culturing system for fluid samples

Carla Fontana<sup>1,2A,B,C,D,E,F,G</sup>, Marco Favaro<sup>1B,C,D,F</sup>, Silvia Minelli<sup>2B,D</sup>, Maria C. Bossa<sup>2B,D</sup>,  
Anna Altieri<sup>2B,D</sup>, Cartesio Favalli<sup>1,2G</sup>

<sup>1</sup> Department of Experimental Medicine and Biochemical Sciences, "Tor Vergata", University of Rome, Rome, Italy

<sup>2</sup> Clinical Microbiology Laboratories, Polyclinic of Tor Vergata, Rome, Italy

**Source of support:** Departmental sources



# ANTIBIOGRAMMA IN EMOCOLTURE POSITIVE

MICROBIOLOGIA MEDICA, Vol. 25 (1), 2010

RAPID ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY TESTS

## Preliminary indications for antibiotic susceptibility tests in less than six hours in positive blood cultures

**Vesselina Kroumova, Elisa Gobbato, Paola Macaluso, Sabrina Tamburelli, Francesca Marini, Marcella Perone, Stefania Orlandi, Morena Viviani, Giacomo Fortina**

*Laboratorio di Microbiologia e Virologia Azienda Ospedaliera Universitaria "Maggiore della Carità", Novara*

**European Society of Intensive Care Medicine (ESICM)  
Annual Congress**

**Barcellona 9-13 Ottobre 2010**



Olivieri C, Vaschetto R, Kroumova V, Boggiato E, Guido S, Della Corte F, Navalesi P, Fortina G

**Valutazione rapida dell'antibiogramma in emocolture positive**

# COLTURE DI PROTESI E TESSUTI OSTEO ARTICOLARI

MICROBIOLOGIA MEDICA, Vol. 25 (2), 2010

OSTEOARTICULAR SAMPLE CULTURE IN LIQUID BROTH (HB&L SYSTEM)

## Evaluation of the HB&L system for the culture of prosthetic and osteoarticular origin samples

**Agostina Ronca<sup>1</sup>, Sabrina Brenci<sup>1</sup>, Giuliana Carrega<sup>2</sup>, Gianni Riccio<sup>2</sup>, Luisa Santoriello<sup>1</sup>**

*1 Unità Dipartimentale Semplice di Microbiologia-ospedale Santa Corona - Asl 2-Pietra ligure (SV)*

*2 Unità Complessa di Malattie Infettive-Ospedale Santa Corona - Asl2 Pietra Ligure (SV)*



**Abstract: O538**

Citation: Clinical Microbiology and Infection. Volume 16 Supplement No. 2, Page S120

## **Speeding up identification of bacteria from urine by the use of an Alifax HB&L Uroquattro incubator followed by Maldi Biotyper identification**

M. Kostrzewa, C. Boogen, J. Maier, U. Weller

*(Bremen, Cologne, DE)*

**Conclusion:** This protocol enables reliable bacterial identification together with a bacterial count in few more than 3 hours in cases of mono-bacterial infection using the standard protocol of the HB&L. Ongoing improvement to the MBT identification algorithms will resolve the problem of poly-bacterial infections. Further extension of this approach to usually sterile body fluids, tracheal secretions and pleural aspirates also here may lead to a dramatic reduction in turnaround time of microbiological labs for identification and subsequent AST-testing.

**ORAL COMMUNICATION ECCMID 2010** 

## Rapid Identification of Bacteria from Urine using the ALIFAX HB&L Uroquattro incubator followed by MALDI Biotyper identification

<sup>2</sup>Markus Kostrzewa, <sup>1</sup>Christiane Boogen, <sup>1</sup>Julia Maier, and <sup>1</sup>Ulrich Weller

<sup>1</sup>Labor Dr. Boogen, Hauptstr. 71-73; Cologne, Germany  
<sup>2</sup>Bruker Daltonik GmbH, Fahrenheitstr. 4, Bremen, Germany

### Introduction

Direct identification of bacteria from infected urine by the MALDI Biotyper has been shown previously. To enable quantification as well as identification, which is necessary for routine diagnostic, we have tested the combination of an automated quantification system, the Uroquattro (ALIFAX HB&L), with the MALDI-TOF workflow.



Fig.1: General workflow of MALDI-TOF MS microbial identification

### Methods

322 urine samples from routine diagnostic of out patients were analyzed in parallel.

*Standard workflow in Laboratory Dr. Boogen:*

- Quantitative culture, over night (16h)
- Potentially isolation of pure colonies for 6-16h
- Identification with MALDI Biotyper (minutes)
- Merlin Micronaut AST (6-16h)

*Workflow for the proof of concept study:*

A 500 µl aliquot was transferred into a 2ml HB&L tube with nutrient broth and stirrer, placed into the Uroquattro instrument for 3h at 37°C and the CFU value was read. Thereby, the quantification of bacteria was performed and, in parallel, the bacteria were amplified to a number which is well suitable for MALDI-TOF analysis. After incubation, 1ml aliquots from the positive vials were harvested by centrifugation (5 min at 15000 g in a 1.5 ml Eppendorf cup). Supernatant was discarded and the pellet resuspended in 1 ml deionized

water and re-centrifuged in the same manner. The supernatant was discarded again and part of pellet transferred onto a MALDI target, air dried, overlaid with matrix solution (HCCA), again air dried and subjected to identification by mass spectrometry. Profile mass spectra were acquired in the linear positive mode (2000-20000 Dalton) and subjected to analysis with the MALDI Biotyper 2.0 software (database with 1857 species).

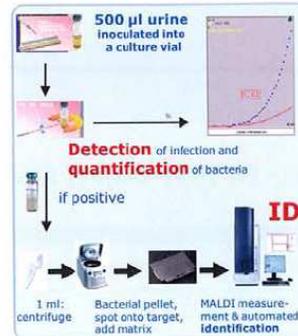


Fig. 2: Novel workflow combining the Uroquattro system with the MALDI Biotyper identification.

### Results

In a prospective proof-of-concept study with 322 urines 145 samples were found to be culture-positive over a period of 4 weeks. These samples were found to have a bacterial count over 10<sup>4</sup> by both the standard workflow of the laboratory and the automated quantification in the Uroquattro system.

Monoinfections were found in 127 cases (87.5%), both by the standard method and the new workflow with total agreement of results. The following species were detected:

*E. coli* (67), *P. mirabilis* (12), *E. faecalis* (8), *K. pneumoniae* (8), *P. aeruginosa* (6), *R. ornithinolytica* (6), *M. morgani* (6), *S. aureus* (4), *E. aerogenes* (3), *C. koseri* (2), *K. oxytoca* (2), *S. marcescens* (2), and *S. enterica* (1)

18 samples (12,5%) were found to be infected by more than one microorganism. In these cases the novel method did not come to a conclusive result (no reliable identification score).

ASM 2010, San Diego  
C-1587

### Conclusions:

More than 80% of samples in Laboratory Boogen are mono-infections. Currently, more than 90% of these infections can be identified by the HB&L Uroquattro and MALDI Biotyper.

Following growth in the HB&L and identification by the MALDI Biotyper, the residual samples are used for AST (Merlin Micronaut), McFarland continuously measured by the HB&L.

The whole procedure can be completed in a working day.

### Perspectives

MALDI Biotyper and Uroquattro:

- Automated analysis of mixed cultures is being developed
- Extension of procedure to primary sterile body fluids, tracheal secretions and pleural aspirates

MALDI Biotyper

## Assessment of a light-scattering system in the culture screening of biological fluid samples

**Paolo Lanzafame**<sup>1</sup>, **Maira Zoppelletto**<sup>2</sup>, **Marina Gaino**<sup>1</sup>, **Patrizia Ober**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>U.O. Microbiologia e Virologia, Ospedale S. Chiara - Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari Provincia Autonoma di Trento - Trento  
<sup>2</sup>S.C. laboratorio Analisi Ospedale di Bassano del Grappa - ULSS 3 Bassano del Grappa (VI)

2011 Trends in microbiology

### Summary

The diagnosis of invasive infections is commonly based on the cultures of pathogenic microorganisms; the morphological and biochemical identification is followed by several types of antimicrobial susceptibility tests.

Early identification and rapid antimicrobial susceptibility testing of microorganisms, particularly in the case of serious infections, represent high priorities in clinical microbiology. Our study aimed at evaluating a semiautomated system (HB&L by Alifax S.p.A., Padova, Italy) for the recovery of microorganisms from sterile body fluids other than traditional cultural methods.

HB&L offers the possibility for the culture of an additional 5.8% samples, if compared with the reference cultures. The two methods showed good concordance (85%), with high sensitivity (97.87%) and specificity (86.3%) and very good negative predictive value (94.83%) and a positive predictive value (82.14%).

The microbial counts showed excellent agreement in the results between HB&L and traditional methods.





UTILITA' DELLA COLTURA BATTERICA RAPIDA AUTOMATIZZATA ASSOCIATA A ESAME CHIMICO FISICO E DEL SEDIMENTO URINARIO: REFERTAZIONE IN GIORNATA DEI NEGATIVI, RIDUZIONE DEL CARICO DI LAVORO E DEI TEMPI PER L'IDENTIFICAZIONE E L'ANTIBIOGRAMMA DEI POSITIVI

Carpi D., Granero V., Guglielmet A., Peyronel E., Rovella D., Cavallo M.R.

Struttura Complessa Laboratorio Analisi Ospedali Riuniti di Pinerolo ASL TO3, Via Brigata Cagliari 39, Pinerolo (TO)

Abstract N° 010
XLI AMCLI
13-16 novembre 2012
Rimini 2012

ABSTRACT

Introduzione Il sistema automatico Alfred60 si avvale della coltura batterica in terreno liquido e consente di identificare in 3 ore le urinocolture negative e quantificare la carica batterica delle positive. Questa ricerca ha valutato l'impatto dell'introduzione del sistema Alfred60 nella corretta refertazione dell'urinocoltura e del relativo carico di lavoro.
Metodi Nel periodo di Giugno-Luglio 2012 sono stati analizzati 1500 campioni di urina in doppio su Alfred60 e piastra cromogena. Per ciascun campione è stato effettuato il test del potere antibatterico residuo, l'esame urine chimico-fisico e sedimento e sono state associate tutte le informazioni clinico-anamnestiche disponibili. I risultati ottenuti con Alfred60 e quelli ottenuti dalla coltura classica in piastra sono stati confrontati con l'esito finale dell'esame, considerato in questo studio il "gold standard". Il brodo dei campioni positivi è stato analizzato al microscopio e subcolturato. Il pellet batterico, ottenuto mediante centrifugazione, di 100 campioni monomicrobici all'osservazione microscopica, selezionati casualmente, è stato utilizzato per l'identificazione e l'antibiogramma diretto.
Risultati: 579 campioni risultano positivi su Alfred60 (230.000 CFU/ml) e 858 negativi, mentre, in piastra 485 positivi e 952 negativi.
Alfred60 ha fornito in sole 3 ore i risultati con una sensibilità del 99.8 % un valore predittivo negativo del 99.9 % dal confronto sia con la piastra che verso il "gold standard". Inoltre, rispetto alla coltura classica, Alfred60 ha permesso di recuperare 17 campioni che sarebbero risultati falsamente negativi in piastra.
L'associazione della valutazione dei dati anamnestici e dell'esame urine chimico fisico e sedimento ha permesso di evidenziare i campioni risultati positivi su Alfred60 che non necessitano di ulteriori approfondimenti.
Conclusioni La valutazione congiunta dei risultati ottenuti da Alfred60 e dell'esame chimico-fisico riduce notevolmente il carico di lavoro consentendo di refertare in giornata i campioni negativi, selezionando solo i reali positivi sui quali eseguire identificazione ed antibiogramma. La possibilità di utilizzare la brodocoltura monomicrobica per ulteriori indagini diagnostiche come ID e AST riduce di 24 ore il TAT.

Tabella 2 Alfred60 vs Piastra

Table with 2 columns: Metric and Value. Rows include SENSIBILITA' (99.8%), SPECIFICITA' (90.0%), VPN (99.9%), VPP (83.6%), and Concordanza (93.3%).

Tabella 3 Alfred60 vs Gold Standard

Table with 2 columns: Metric and Value. Rows include SENSIBILITA' (99.8%), SPECIFICITA' (87.1%), VPN (99.9%), VPP (78.1%), and Concordanza (91.1%).

Tabella 4 Piastra vs Gold Standard

Table with 2 columns: Metric and Value. Rows include SENSIBILITA' (96.2%), SPECIFICITA' (95.0%), VPN (98.2%), VPP (89.9%), and Concordanza (94.1%).



Received: 29 March 2011

Revised: 26 May 2011

Accepted: 26 May 2011

Published online in Wiley Online Library

*Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2011, 25, 2247–2249  
(wileyonlinelibrary.com) DOI: 10.1002/rcm.5113

## Direct identification of bacteria in blood culture by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: a new methodological approach

Vesselina Kroumova<sup>1\*</sup>, Elisa Gobbato<sup>1</sup>, Elisa Basso<sup>2</sup>, Luca Mucedola<sup>1</sup>, Tommaso Giani<sup>3</sup>  
and Giacomo Fortina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Microbiology and Virology, Azienda Ospedaliero Universitaria 'Maggiore della Carità', Corso Mazzini 18, Novara 28100, Italy

<sup>2</sup>Bruker Daltonik, S.r.l., Via Cluentina 26/r, Macerata 62100, Italy

<sup>3</sup>Department of Biotechnology, Section of Microbiology, University of Siena, Viale Bracci 2, Siena 53100, Italy





## STUDIO COMPARATIVO TRA TECNOLOGIA LIGHT SCATTERING E COLTURA IN PIASTRA PER LA DETERMINAZIONE DELLA BATTERIURIA



Pesce D., Cirillo G., Tivalotti S.

*AUSL FR – Ospedale “S. Scolastica” di Cassino, Laboratorio di Analisi Cliniche e Microbiologiche, via San Pasquale snc, 03043 Cassino.*

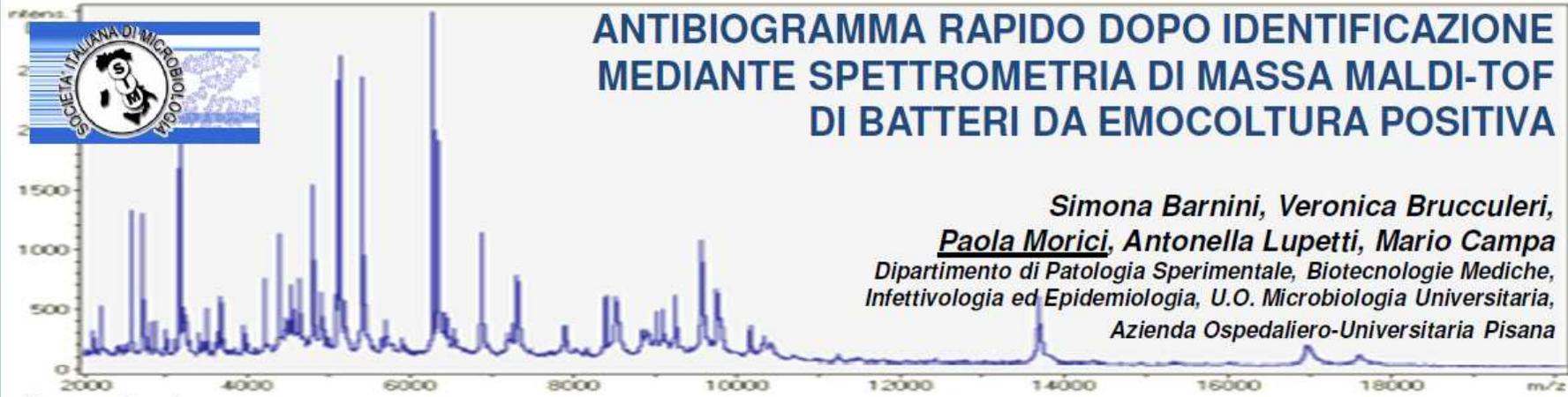
I risultati su 1364 urine mostrano una concordanza tra i due metodi pari al 98%.

La valutazione del metodo ha permesso di evidenziare un valore predittivo positivo (VPP) del 95,8% e un valore predittivo negativo (VPN) del 98,8%, una sensibilità di HB&L pari al 97,6% e una specificità pari al 97,8%.

### CONCLUSIONI

L'alto VPN (98.8%) e i pochi falsi negativi (0,8%) permettono di considerarlo un ottimo metodo per refertare rapidamente le urinocolture negative. Il P.A.R. test permette, inoltre, di evidenziare possibili falsi negativi e di individuare alcune situazioni in cui la terapia antibiotica in atto è inefficace. Alla luce di queste considerazioni possiamo confermare l'utilità, anche per il clinico, in termini sia di rapidità di risposta che di approccio terapeutico nella cura del paziente.





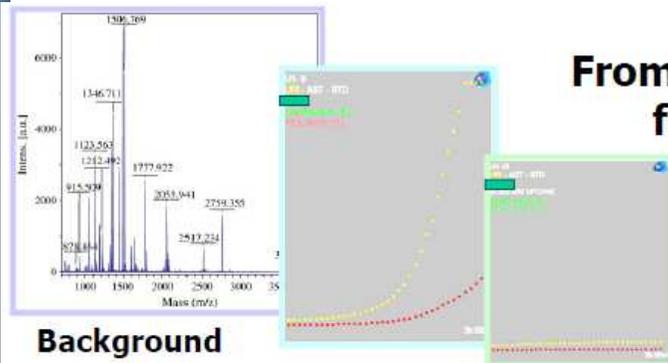
## ANTIBIOGRAMMA RAPIDO DOPO IDENTIFICAZIONE MEDIANTE SPETTROMETRIA DI MASSA MALDI-TOF DI BATTERI DA EMOCOLTURA POSITIVA

*Simona Barnini, Veronica Brucculeri,  
Paola Morici, Antonella Lupetti, Mario Campa*  
Dipartimento di Patologia Sperimentale, Biotecnologie Mediche,  
Infettivologia ed Epidemiologia, U.O. Microbiologia Universitaria,  
Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana

### Introduzione

La tempestività nel trattamento chemioterapico del paziente settico è la migliore arma nelle mani del clinico. La scelta della terapia, però, avviene quasi sempre in assenza di dati circa la specie microbica e la suscettibilità ai farmaci, poiché il referto del laboratorio di microbiologia clinica giunge dopo alcuni giorni, a suffragare o a smentire l'appropriatezza delle cure intraprese. In questo studio l'identificazione di batteri a partire da emocoltura positiva mediante spettrometria di massa MALDI-TOF (Bruker Daltonics), realizzabile in pochi minuti mediante due protocolli di purificazione (Gram negativi e Gram positivi), è stata associata all'esecuzione dell'antibiogramma mediante il sistema HB&L (Alifax SpA), in grado di fornire rapidamente un risultato in termini di sensibilità o resistenza.

2012 SIM e ISF



### From positive blood culture to microbiological diagnosis in four hours by MALDI-TOF mass spectrometry bacterial identification and rapid antibiogram

S. Barnini, V. Brucculeri, P. Morici, A. Lupetti, M. Campa  
Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Microbiology Unit, Pisa, Italy

### Background

Time is precious for patients and clinicians facing septic events. In the recent past years, many efforts have been done to develop rapid and reliable tests, especially by molecular methods, which still have several limits in determining antimicrobial susceptibility. Microbiological diagnosis of sepsis is still based on blood culture, which allows isolation, identification and determination of antibiotic susceptibility. Nowadays, MALDI-TOF mass spectrometry (MS) allows almost instantaneous bacterial identification, even directly, from positive blood cultures, but antibiotic susceptibility results are usually delayed by 24-48 hours, compared to the timing of microorganism identification. Since inadequate initial antimicrobial treatment is associated with worse outcomes for patients, in this study attention was paid on tuning a rapid susceptibility test, which could give reliable answers in few hours, after bacterial identification obtained from positive blood cultures by means of two short methods applied to MALDI-TOF MS.

# PUNTE DI CATETERE VENOSO CENTRALE

## Improved diagnosis of central venous catheter-related bloodstream infections using the HB&L UROQUATTRO™ system

C. Fontana • M. Favaro • M. C. Bossa • S. Minelli •  
A. Altieri • M. Pelliccioni • F. Falcione • L. Di Traglia •  
O. Cicchetti • C. Favalli

[Eur J Clin Microbiol Infect Dis.](#) 2012 Nov;31(11):3139-44.  
doi: 10.1007/s10096-012-1676-9. Epub 2012 Jun 27





## MISURA DELL'ATTIVITA' ANTIBATTERICA DI GEL-PIASTRINICI OMOLOGHI E DEL SINERGISMO ANTIBIOTICO SU SISTEMA HB&L, ALIFAX PROTOCOLLO D'UTILIZZO IN CHIRURGIA ORTOPEDICA

Taglioretti M.J.<sup>\*</sup>, Pozzoni A.<sup>°</sup>, Cassani M.R.<sup>°</sup>, Maltagliati S.<sup>°</sup>, Colombo L.<sup>°</sup>, Contato V.<sup>°</sup>, Gambalunga C.<sup>°</sup>, Vincenzi A.<sup>°</sup>, Vismara L.<sup>°</sup>, Osnaghi B.<sup>°</sup>  
<sup>°</sup>-Sezione Microbiologia - U.O. Laboratorio Analisi, Ospedale "G. Fornaroli", Via al Donatore di Sangue 50, 20013 Magenta, A.O. Ospedale Civile di Legnano.  
<sup>\*</sup>- Clinica Ortopedica C.T.O.-I.C.P.-Milano

Abstract N° 187

XLI AMCLI

13-16 novembre 2012

Rimini 2012

### ABSTRACT

**INTRODUZIONE** L'attività antibatterica del gel piastrinico autologo (GPA) è stata descritta dalla letteratura in questi ultimi anni attraverso la misura dell'alone d'inibizione verso ceppi batterici e attraverso l'efficacia mediante l'utilizzo in vivo.

I meccanismi mediante i quali il GPA esplica i suoi benefici effetti non è del tutto noto. Tuttavia sono legati al lento e costante rilascio locale dei fattori di crescita contenuti nei granuli alfa delle piastrine e all'azione di mediatori chimici normalmente presenti nell'organismo come PDGF, TGF- $\beta$ , IGF I e II, EGF e FGF $\beta$ .

**SCOPO** Lo scopo del presente lavoro è stato quello di evidenziare e misurare l'attività antibatterica del GPA e la sinergia con l'aggiunta di molecole antibiotiche al fine clinico di redigere una posologia terapeutica.

**MATERIALI E METODI** Per lo studio sono stati utilizzati colture di ceppi batterici ATCC di *Staphylococcus aureus* (25923) ed *E. coli* (25922) per verificare l'azione batteriostatica di 20 campioni di GPA e sinergica del gel con le molecole antibiotiche Cefoxitina, Gentamicina, Vancomicina. Sono state analizzate le variabili numeriche discrete e continue, quali la carica batterica in UFC/ml, il tempo e l'indice di rifrazione con sistema automatico HB&L Alifax, che utilizza brodi in fase liquida per la crescita batterica.

**RISULTATI** Mentre per lo *S. aureus* è stata evidenziata un'azione batteriostatica da parte del GPA, con manifesta azione sinergica in presenza di molecole antibiotiche, per *E. coli* i risultati dimostrano solo un'azione batteriostatica e nessuna azione sinergica con il farmaco.

**CONCLUSIONI** L'aver definito tempo e durata d'azione batteriostatica del GPA consente di esprimere la posologia di utilizzo anche a dosi seriali; la prevenzione, l'identificazione del tempo e durata d'azione batteriostatica permetterebbe di farli collimare con la fase critica dell'adesività batterica impedendo la formazione del biofilm e pertanto sia in chirurgia di elezione (protesica e non) che in Traumatologia l'utilizzo del GPA potrebbe svolgere la duplice funzione di accelerare l'osteointegrazione degli impianti e di proteggerli dalle infezioni.

# ALTRE APPLICAZIONI



*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

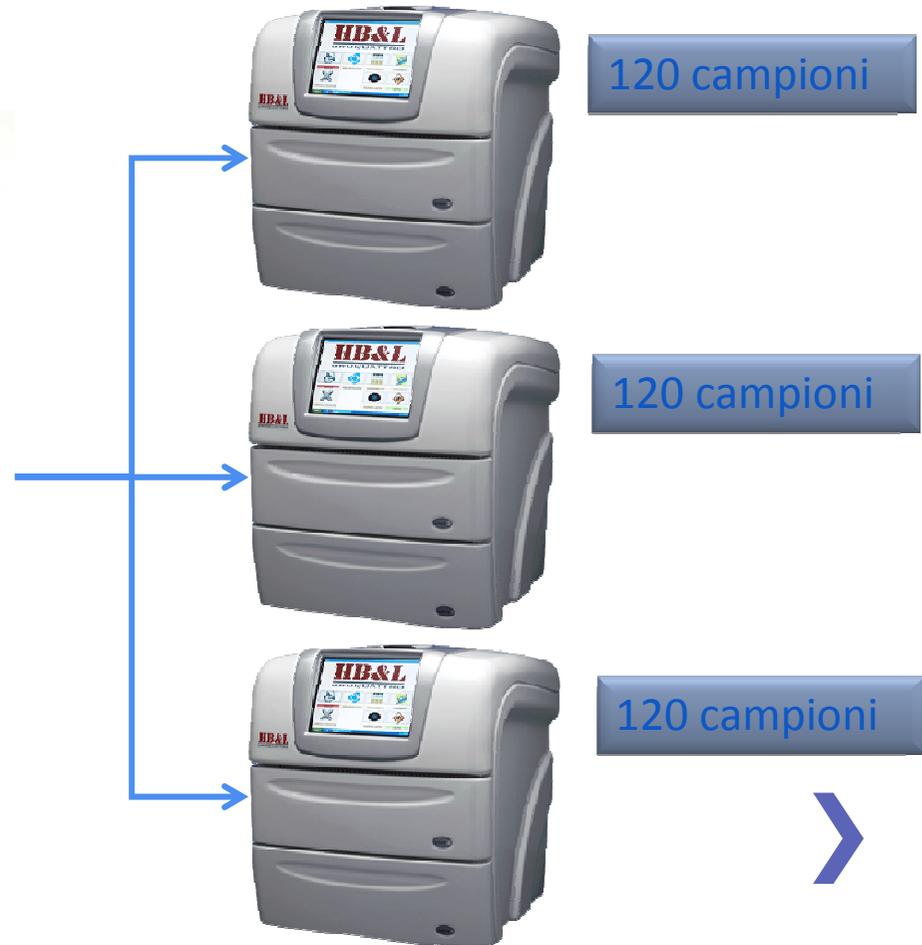


# Modalità di lavoro

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 inocolo in vial



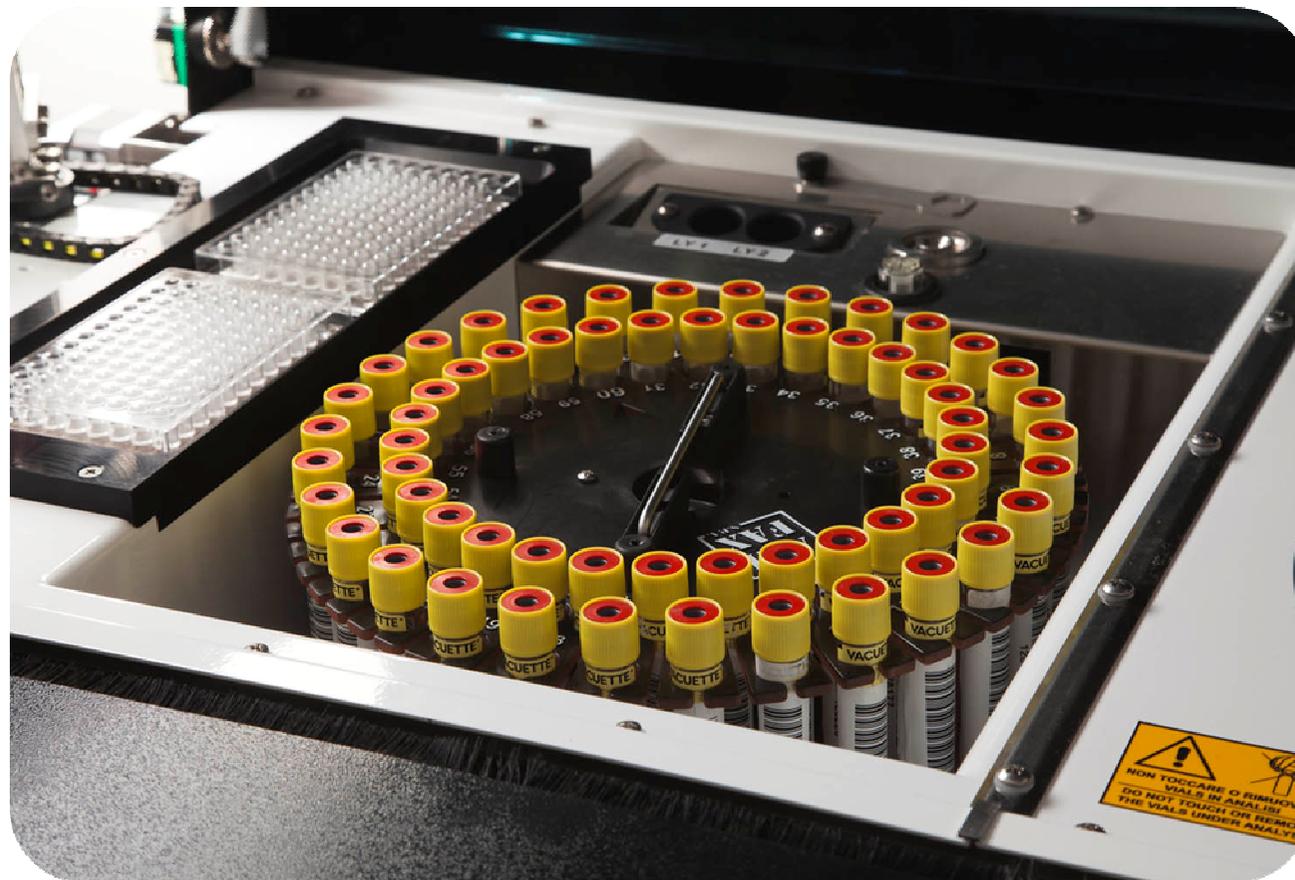
# *Connessione ad HB&L per aumentare la produttività*



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

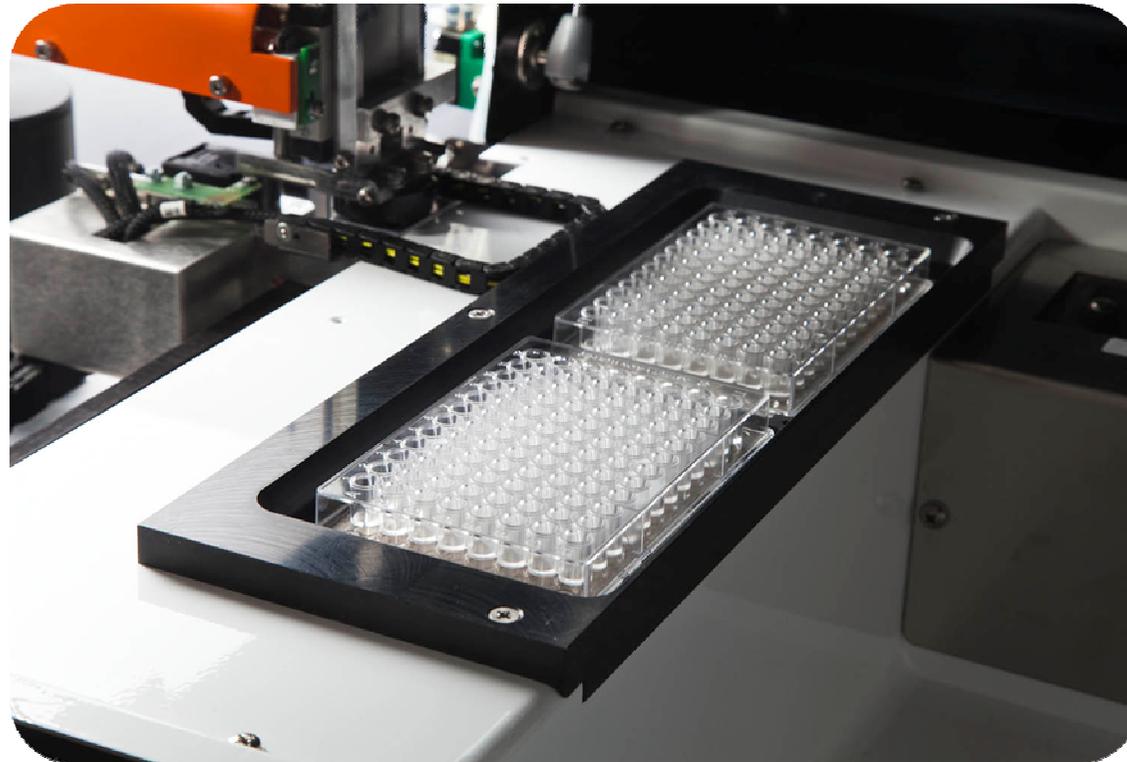


# ***Lettura del Bar-code dei campioni primari***

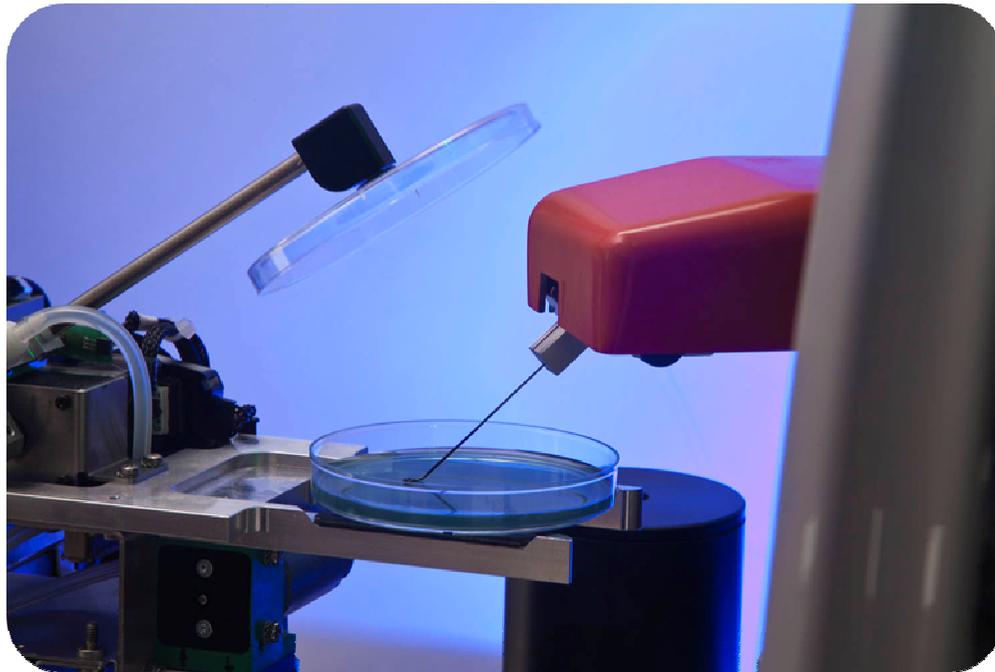


**Dispensazione di 200  $\mu$ l di tutti i campioni primari  
in area refrigerata: 192 pozzetti (2 x 96)**

Ogni posizione viene mappata dal software

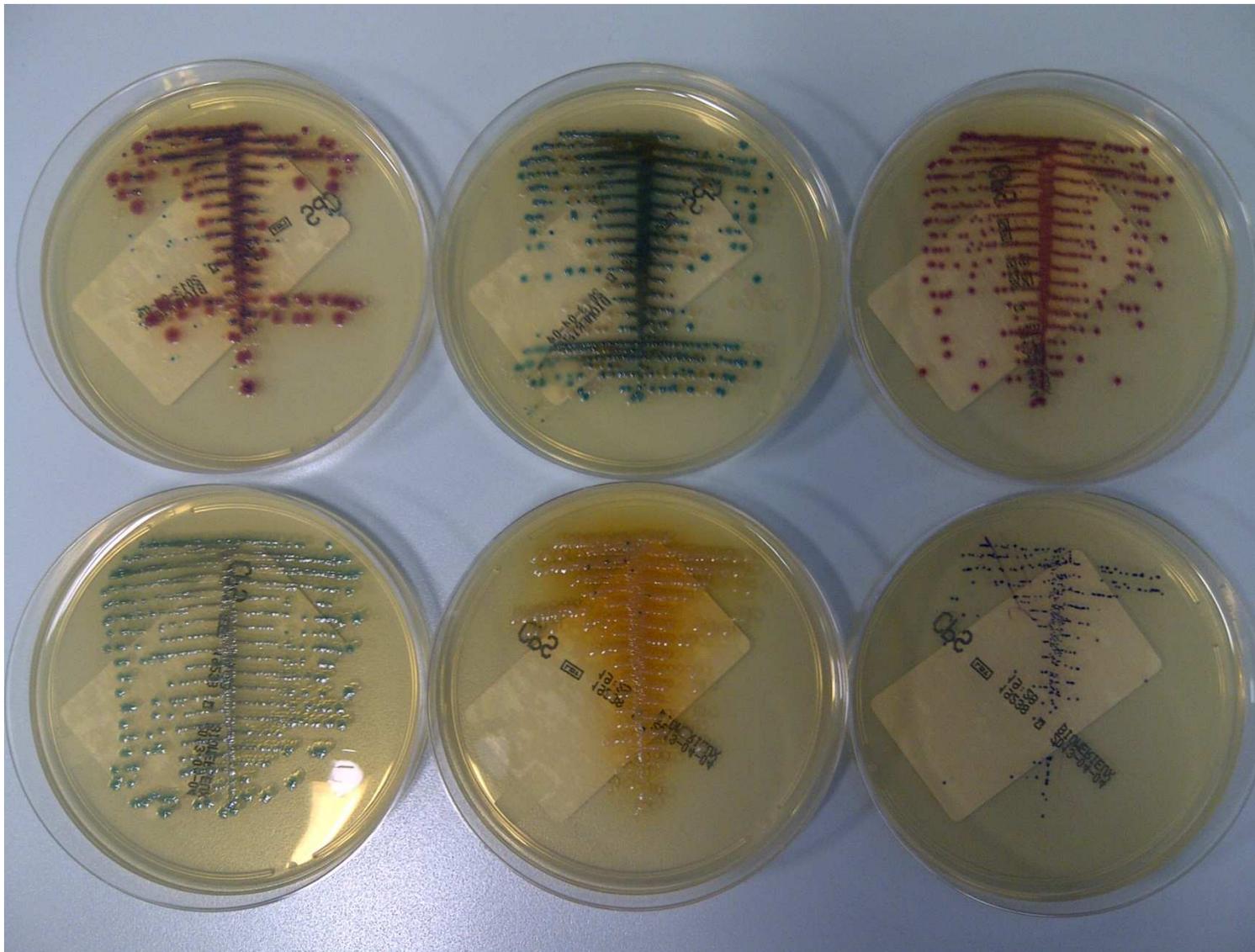


# ***Semina automatica su Piastre Petri***



**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



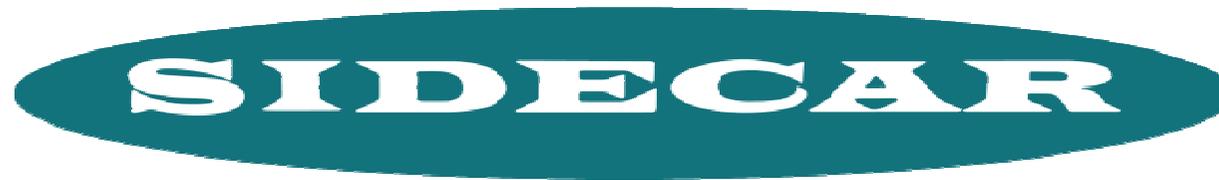


**Nuovo Arcispedale S. Anna  
Cona-Ferrara anno 2013**









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

