

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



WORKSHOP ALIFAX

Introduzione di *Sidecar* nel laboratorio di Microbiologia: ricadute organizzative e prospettive future

Dott. Stefano Grandesso
SSD Microbiologia
Dipartimento Patologia Clinica
Ospedale dell'Angelo - Mestre
Azienda ULSS 12 Veneziana

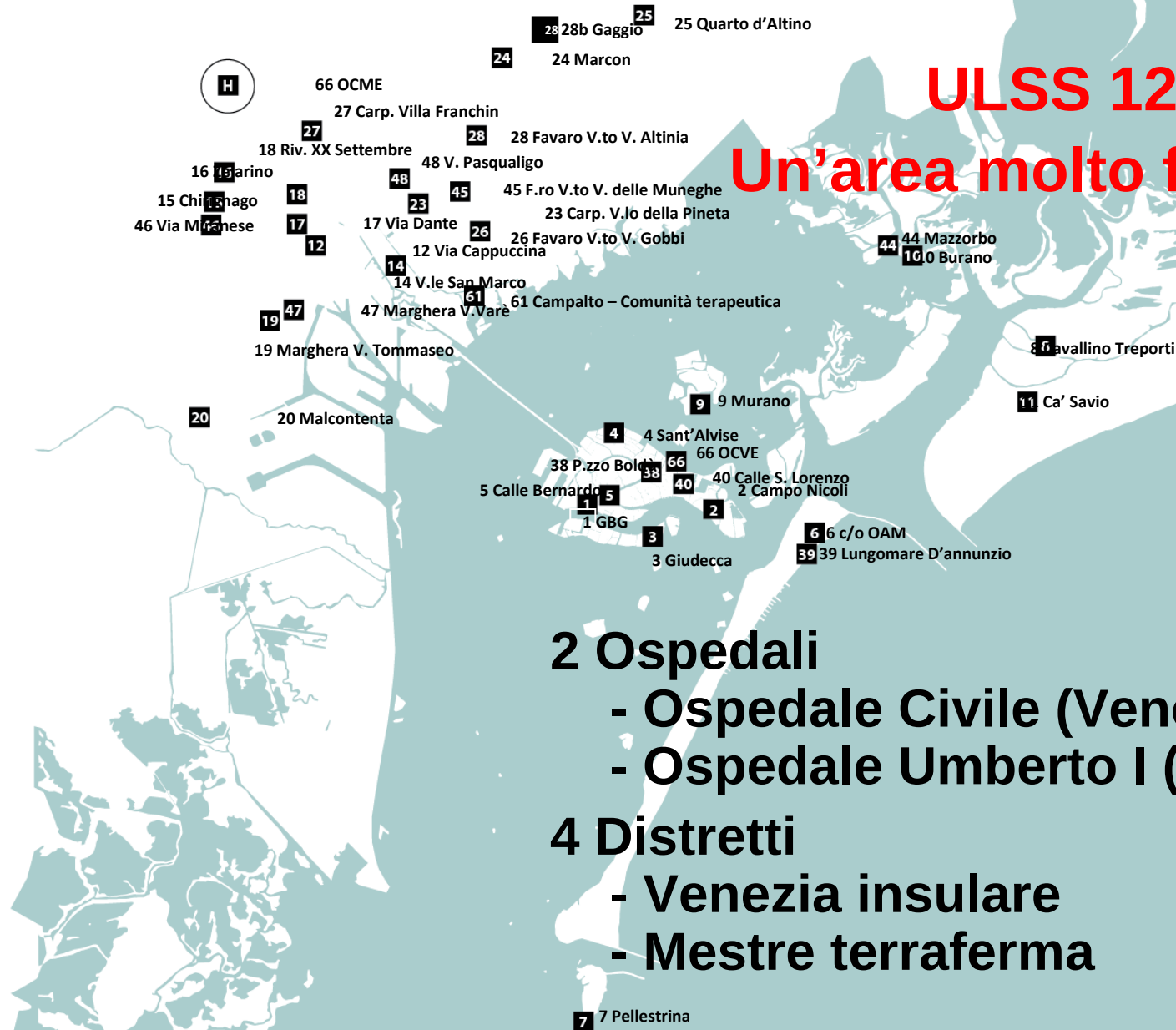


....The need for speed: il laboratorio di Microbiologia e le Urgenze Infettive



ULSS 12 Veneziana

Un'area molto frammentata





Situazione 2007

• Venezia

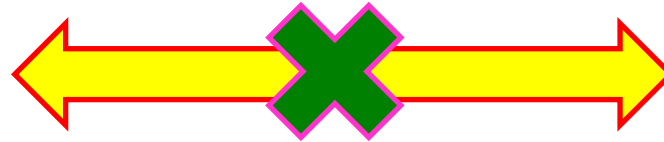
• Mestre

1 Dirigente

3 Dirigenti

3 TSLB

6 TSLB



136375 esami

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Ospedale dell'Angelo - Mestre



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



2008 :

Nuovo Ospedale di Mestre

- ***Nuovo sistema informatico***
- ***Nuova strumentazione***
- ***Nuova “location”***
- ***...***



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Orario di apertura



- da Lunedì a Venerdì : 8.00 - 17.30
- Sabato : 8.00 - 14.00



Scelta della strumentazione

- ***Tariffario regionale***
- ***Letteratura scientifica***
- ***Storico esami eseguiti + epidemiologia***

3° CONGRESSO NEWMICRO
 ...The need for speed: il
 laboratorio di Microbiologia e le
 Urgenze Infettive



Tariffario regionale

(in vigore 21.04.2008)

Allegato 1 Elenco Prestazioni Vigenti con tariffa

Nota:	Codice:	Descrizione:	Tariffa:
	90.89.3	CHLAMYDIE DA CULTURA IDENTIFICAZIONE MICROSCOPICA (Col. Iodio, Giemsa).	€ 3,45
	90.89.4	CHLAMYDIE DA CULTURA IDENTIFICAZIONE (I.F.).	€ 3,65
	90.89.5	CHLAMYDIE ESAME CULTURALE.	€ 25,70
	90.90.1	CHLAMYDIE RICERCA DIRETTA (E.I.A.).	€ 7,90
	90.90.2	CHLAMYDIE RICERCA DIRETTA (I.F.).	€ 14,30
	90.90.3	CHLAMYDIE RICERCA DIRETTA (mediante ibridazione).	€ 27,25
	90.90.4	CLOSTRIDIUM DIFFICILE DA CULTURA IDENTIFICAZIONE BIOCHIMICA.	€ 11,60
	90.90.5	CLOSTRIDIUM DIFFICILE ESAME CULTURALE.	€ 11,65
	90.91.1	CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOSSINA NELLE FECI RICERCA DIRETTA (E.I.A.).	€ 5,95
	90.91.2	CRYPTOSPORIDIUM ANTIGENI NELLE FECI RICERCA DIRETTA (E.I.A.).	€ 3,45
	90.91.3	CRYPTOSPORIDIUM ANTIGENI NELLE FECI RICERCA DIRETTA (I.F.).	€ 5,25
	90.91.4	E. COLI ENTEROPATOGENI NELLE FECI ESAME CULTURALE.	€ 2,10
	90.91.5	E. COLI PATOGENI DA CULTURA IDENTIFICAZIONE BIOCHIMICA.	€ 8,30
	90.92.1	E. COLI PATOGENI DA CULTURA IDENTIFICAZIONE SIEROLOGICA.	€ 6,30
	90.92.2	ECHINOCOCCO [IDATIDOSI] ANTICORPI (E.I.A.).	€ 7,90
	90.92.3	ECHINOCOCCO [IDATIDOSI] ANTICORPI (Titolazione mediante I.H.A.).	€ 8,20
	90.92.4	ENTAMOEBA HISTOLYTICA ANTICORPI (E.I.A.).	€ 16,25
	90.92.5	ENTAMOEBA HISTOLYTICA ANTICORPI (Titolazione mediante emoagglutinazione passiva).	€ 6,30
IR	90.92.6	ENTAMOEBA HISTOLYTICA RICERCA ANTIGENE SU FECI (E.I.A.).	€ 41,55
IR	90.92.7	ENTAMOEBA HISTOLYTICA RICERCA ANTICORPI TITOLAZIONE (I.F.).	€ 26,45
	90.93.1	ENTAMOEBA HISTOLYTICA NELLE FECI ESAME CULTURALE (Cultura xenica).	€ 7,80
	90.93.2	ENTEROBIUS VERMICULARIS [OSSIIURI] RICERCA MICROSCOPICA. Nelle feci [materiale perianale] su cellophan adesivo (scotch test)	€ 3,10
	90.93.3	ESAME CULTURALE CAMPIONI BIOLOGICI DIVERSI. Ricerca completa microrganismi e lieviti patogeni	€ 6,80
	90.93.4	ESAME CULTURALE CAMPIONI APPARATO GENITOURINARIO. Ricerca completa microrganismi e lieviti patogeni Escluso: Neisseria gonorrhoeae	€ 6,30
	90.93.5	ESAME CULTURALE CAMPIONI CAVITA' ORO-FARINGO-NASALE. Ricerca completa microrganismi e lieviti patogeni Escluso: Neisseria meningitidis	€ 6,30
I	90.93.6	ESAME CULTURALE DELL'URINA [URINOCULTURA] RICERCA COMPLETA MICROORGANISMI E RICERCA COMPLETA MICROORGANISMI E LIEVITI PATOGENI - SOSTITUISCE PREST. 90.94.2. Incluso: conta batterica e saggio di inibizione della crescita	€ 11,60

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Scelta della strumentazione Tariffario regionale

Urinocoltura : es. culturale + PAR test



Refertazione negativi nel pomeriggio con firma elettronica,
scaricabili via internet a domicilio del paziente il giorno stesso

3° CONGRESSO NEWMICRO
 ...The need for speed: il
 laboratorio di Microbiologia e le
 Urgenze Infettive



APPENDICE B: TABELLE DI CARICA

**Tempo
 analisi/
 carica
 batteri
 ca**

TEMPO (minuti)	CARICA BATTERICA (UFC/ml) STANDARD / ACIDO BORICO	CARICA BATTERICA (UFC/ml) FAST
5	100 milioni/ml	100 milioni/ml
10	100 milioni/ml	100 milioni/ml
15	100 milioni/ml	90 milioni/ml
20	100 milioni/ml	70 milioni/ml
25	100 milioni/ml	50 milioni/ml
30	100 milioni/ml	40 milioni/ml
35	100 milioni/ml	30 milioni/ml
40	100 milioni/ml	20 milioni/ml
45	90 milioni/ml	15 milioni/ml
50	70 milioni/ml	10 milioni/ml
55	50 milioni/ml	7 milioni/ml
60	40 milioni/ml	5 milioni/ml
65	30 milioni/ml	3 milioni/ml
70	20 milioni/ml	2 milioni/ml
75	15 milioni/ml	1 milione/ml
80	12 milioni/ml	500 mila/ml
85	10 milioni/ml	400 mila/ml
90	7 milioni/ml	300 mila/ml
95	5 milioni/ml	200 mila/ml
100	4 milioni/ml	150 mila/ml
105	3 milioni/ml	120 mila/ml
110	2 milioni/ml	100 mila/ml
115	1.5 milioni/ml	70 mila/ml
120	1 milione/ml	50 mila/ml
125	700 mila/ml	40 mila/ml
130	500 mila/ml	30 mila/ml
135	400 mila/ml	20 mila/ml
140	300 mila/ml	15 mila/ml
145	200 mila/ml	10 mila/ml
150	150 mila/ml	9 mila/ml
155	120 mila/ml	7 mila/ml
160	100 mila/ml	5 mila/ml
165	70 mila/ml	4 mila/ml
170	50 mila/ml	3 mila/ml
175	40 mila/ml	2 mila/ml
180	30 mila/ml	1 mila e 500/ml
185	20 mila/ml	1 mila/ml
190	15 mila/ml	800/ml

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



2009

- **Criticità a Venezia**

Trasferimento a Mestre il 15 gennaio

+1 Dirigente ad Aprile (3)



Campioni da altre sedi

- **Fase pre-analitica**
- **Trasporti**
- **Sistema informatico**
- **Risposte**

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Trasporti
Venezia -
Mestre





Trasporti da Venezia

	Lunedì	Martedì	Mercoledì	Giovedì	Venerdì	Sabato
1 Partenza da Laboratorio VENEZIA	8,30	8,30	8,30	8,30	8,30	
Arrivo a Laboratorio ODA	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	
2 Partenza da Laboratorio VENEZIA	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	
Arrivo a Laboratorio ODA	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	
3 Partenza da Laboratorio VENEZIA	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Arrivo a Laboratorio ODA	13,15	13,15	13,15	13,15	13,15	13,00
4 Partenza da Laboratorio VENEZIA	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	
Arrivo a Laboratorio ODA	16,15	16,15	16,15	16,15	16,15	

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



2010

- Arrivo a gennaio diagnostica dall'Ospedale S. Raffaele Arcangelo (Fatebenefratelli) di Venezia
- Arrivo a febbraio diagnostica dall'Ospedale di Chioggia
(un solo trasporto quotidiano
alle 14 da lun a ven
alle 12 il sabato)

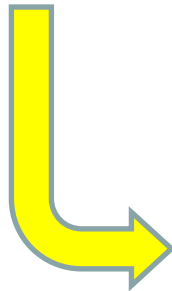
3° CONGRESSO NEWMICRO
....The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Microbiologia MULTI-LAB



**Ospedale SS.
Giovanni e Paolo
Venezia
450 pl**



**Ospedale Fatebenefratelli
Venezia
Privato – Convenzionato
150 pl**



**Ospedale di
Chioggia
Az. ULSS 14
250 pl**





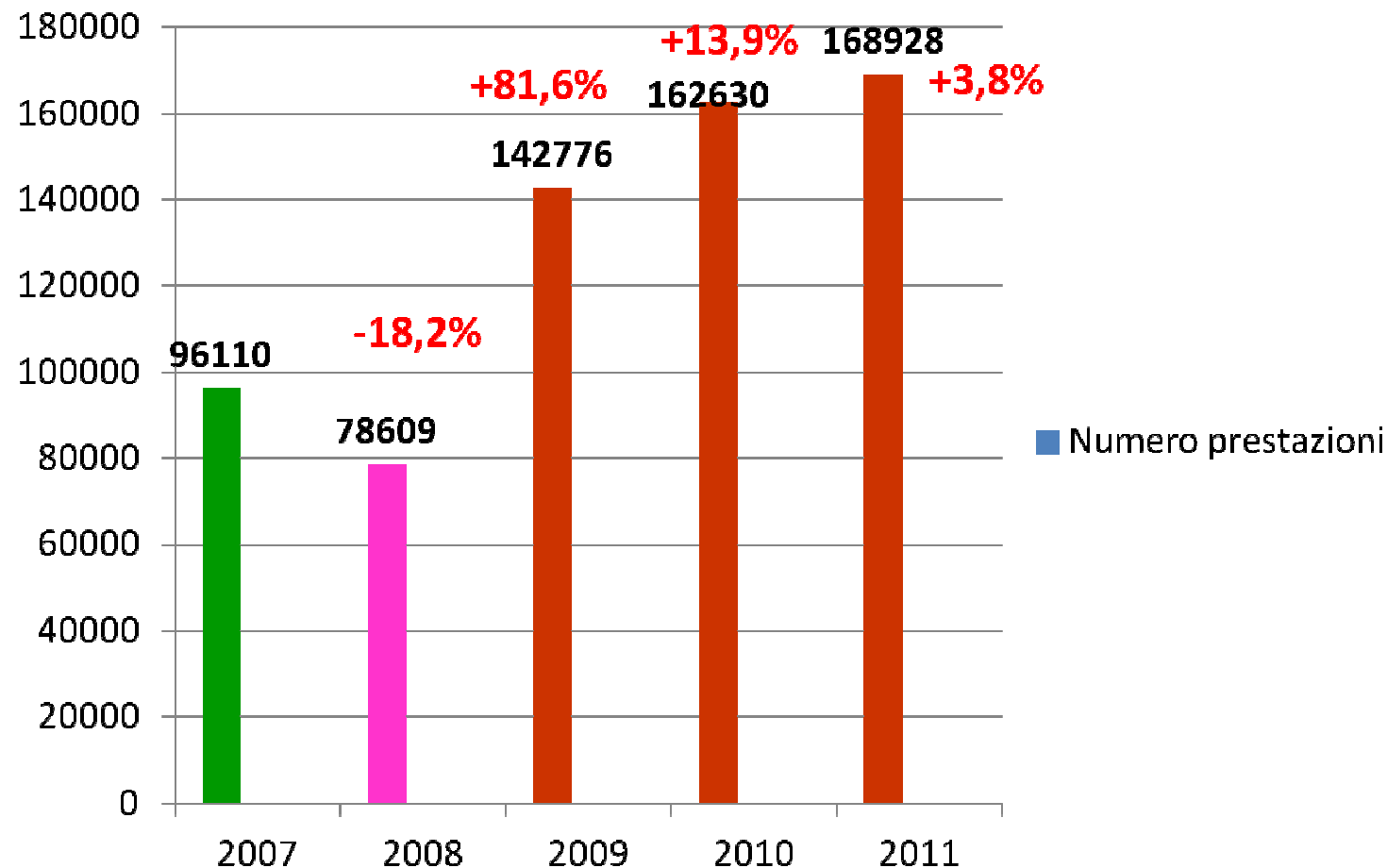
Turnover TSLB 2013

2009 :	+1 TSLB a febbraio (7) +1 TSLB a settembre (8)
2010:	+1 TSLB a maggio (8) -1 TSLB a settembre (7)
2011:	+ 1 TSLB ad aprile (8) + 1 TSLB a luglio (9) - 1 TSLB a settembre (8)
2012:	+ 1 TSLB ad aprile (9) - 1 TSLB a maggio (8) + 1 TSLB a settembre (9) + 1 TSLB a settembre 10) - 1 TSLB a settembre (9)
2013:	- 1 TSLB a marzo (gravidanza: 8)

8, di cui un part-time 30 h con 2 l. 104 (- 6 gg/mese)



Numero prestazioni eseguite





UF-1000 vs. ALFRED

	UF-1000 pos	UF-1000 neg
Alfred pos	229	235
Alfred neg	7	401

873 campioni
(nov 2011 - genn 2012)

Soglia : WBC 25/ μ l e/o Bact 125/ μ l

Sensibilità:	97%
Specificità:	63%
VPP:	49%
VPN:	98%



Short communication

Evaluation of the Sysmex UF1000i flow cytometer for ruling out bacterial urinary tract infection

Rita De Rosa ^{*}, Shamanta Grosso, Graziano Bruschetta, Manuela Avolio, Paola Stano, Maria Luisa Modolo, Alessandro Camporese

Microbiology and Virology Department, Azienda Ospedaliera S. Maria degli Angeli, Via Montereale 24, 33170 Pordenone, Italy

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 June 2009

Received in revised form 22 March 2010

Accepted 22 March 2010

Available online 30 March 2010

Keywords:

Urine culture

Urinary tract infections (UTI)

Bacteriuria screening

Flow cytometer

Urinalysis

ABSTRACT

Background: Urine culture is one of the most frequently requested tests in microbiology, and it represents the gold standard for the diagnosis of UTIs. Considering the high prevalence of negative results and the long TAT of the culture test, the use of a rapid and reliable screening method is becoming more and more important, as it reduces the workload, the TAT of negative results, and above all, unnecessary antibiotic prescription.

Methods: The Sysmex UF1000i is a new urine flow cytometry analyzer capable of quantifying urinary particles, including BACT, WBCs, and YLCs. To evaluate the analytical performance of the UF1000i as a method for ruling out UTIs, we examined 1349 urine samples and compared the UF1000i results with standard urine culture results.

Results: With instrument cut off values of $170 \text{ BACT} \times 10^6/\text{L}$ and $150 \text{ WBCs} \times 10^6/\text{L}$, we obtained a sensitivity of 98.8%, a specificity of 76.5%, a NPV of 99.5%, and four false negative results (1.2%), avoiding the culture of 57.1% of samples.

Conclusion: The Sysmex UF1000i was capable of improving the efficiency of a routine microbiology laboratory by processing 100 samples/h and providing negative results in a few minutes, thus reducing unnecessary testing with an acceptable number of false negative results. In addition, the preliminary evaluation of B_FSC and B_FLH parameters from bacteria histograms seems to be useful for the distinction of bacterial strains detected (Gram negatives versus Gram positives). In fact when B_FSC was less than 30 ch, it allowed the distinction of Gram negative bacteria in 97% of the samples.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

PPV: 76.9%-37.7% (su batteri)
59.2%-56.0% (su WBC)

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



2014

- **Gennaio :**

rinnovo strumentazione !!!

3° CONGRESSO NEWMICRO
The need for speed: il
 laboratorio di Microbiologia e le
 Urgenze Infettive



Tariffario Regione Veneto 2011



Allegato alla dgr
 n. 59 del 21 GIU. 2011

Allegato 1 - Elenco Prestazioni Vigenti con tariffa

Nota regionale Tariffa vigente ai fini del ticket : Tariffa ai fini della remunerazione soggetti erogatori

16. ALTRE PRESTAZIONI DIAGNOSTICHE E TERAPEUTICHE (87-99)

90-91. PRESTAZIONI DI LABORATORIO

Nota: Codici Descrittivi

90.94.2	ESAME CULTURALE DELL' URINA [URINOCOLTURA] - PRESTAZIONE SOSTITUITA DA REGIONALE 90.93.6. Ricerca completa microrganismi e lieviti patogeni. Incluso: conta batterica	N	11,60	12,55
90.94.3	ESAME CULTURALE DELLE FECI [COPROCOLTURA]. Ricerca Salmonelle, Shigelle e Campylobacter Escluso: E.coli enteropatogeni, Yersinia, Vibrio cholerae	N	9,30	10,40
90.94.4	HELICOBACTER PYLORI ANTICORPI (E.I.A.).	N	11,20	12,10
90.94.5	HELICOBACTER PYLORI IN MATERIALI BIOLOGICI ESAME CULTURALE.	N	4,55	4,95
90.94.6	GIARDIA LAMBLIA RICERCA ANTIGENE SU FECI (E.I.A.).	g	36,35	39,30
90.94.7	GIARDIA ANTIGENI RICERCA DIRETTA NELLE FECI (Metodi immunologici).	g	22,85	24,70
90.95.1	HELICOBACTER PYLORI UREASI NEL MATERIALE BIOPTICO (Saggio mediante prova biochimica).	N	6,30	6,80

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Urinocolture





Urinoculture : perché ...

COMBINATION OF MODERN TECHNOLOGY FOR RAPID BACTERIA GROWTH DETECTION
WITH CLASSICAL CULTURE ON PETRI DISH FOR
A COMPLETE AUTOMATION OF THE BACTERIOLOGY WORKFLOW

- Fast automated Urine and Human Biological Liquids bacterial culture in liquid media
- Real time growth curves detection and quantitative bacterial count (CFU/ml) report in 3 hours
- Automatic positive sample subculture on Petri dish plates with overnight incubation
- Dedicated incubator at 37°C for 240 plates
- Automated plate barcode labelling
- Automated Antibiotic Susceptibility Testing in 3 hours on positive bacteria culture, isolated colonies and positive hemoculture
- Fast bacteria yield production for identification by mass spectrometry

Coming soon:

- MRSA rapid screening tests from swab
- Streptococcus agalactiae rapid screening test from swab
- Swab multipurpose testing
- New media for anaerobic bacteria rapid culture

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



**S
i
d
e
c
a
r**



Sidecar a Mestre

- Arrivo : lunedì 10 settembre 2012
- Operazioni di montaggio e allestimento
- Prime urine testate giovedì 13 settembre
- 60 urine/die
- Problematiche emerse:

*quelle che “normalmente”
possono avvenire in ogni avvio di
nuova strumentazione “sul campo”*

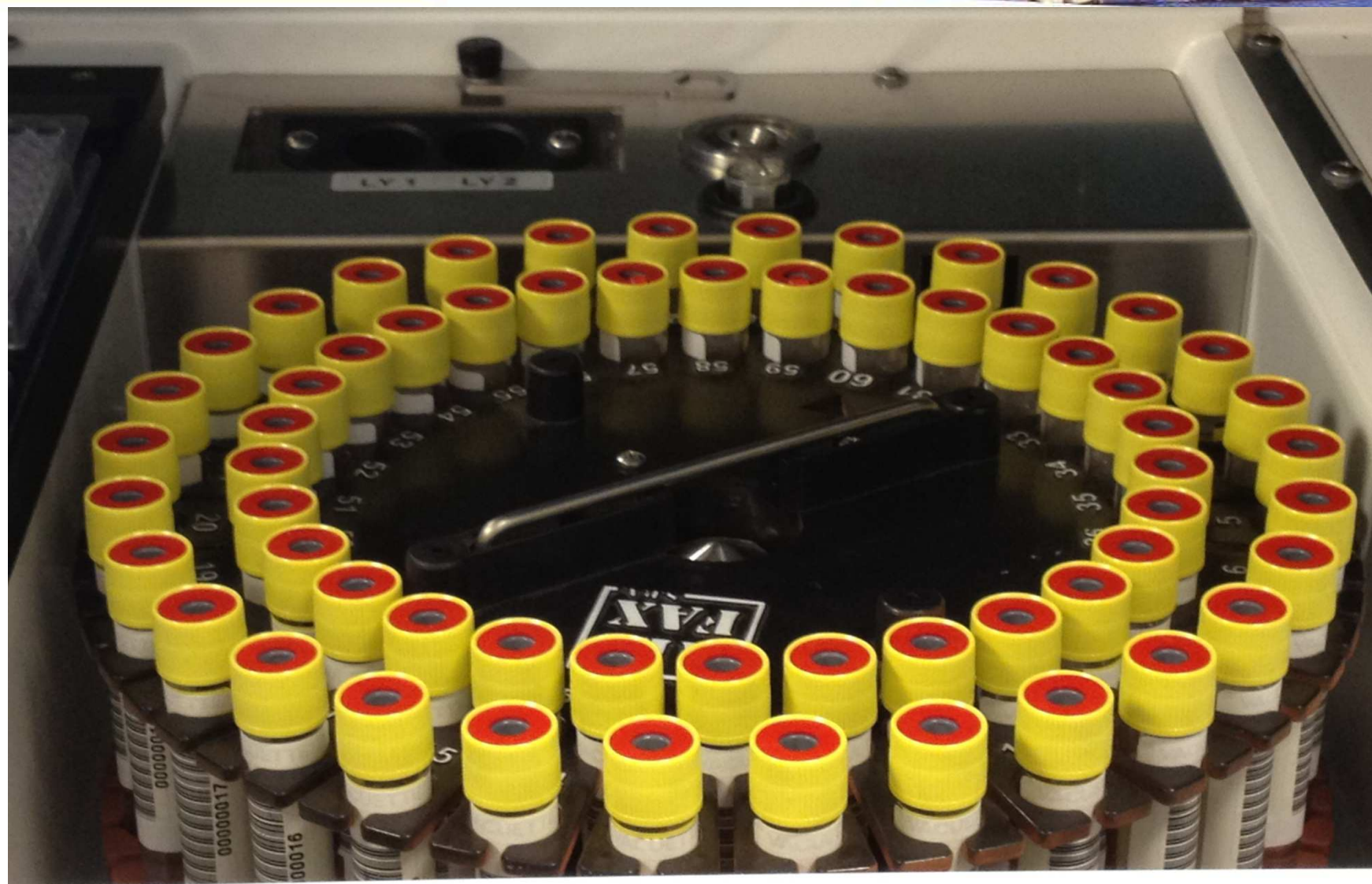
3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



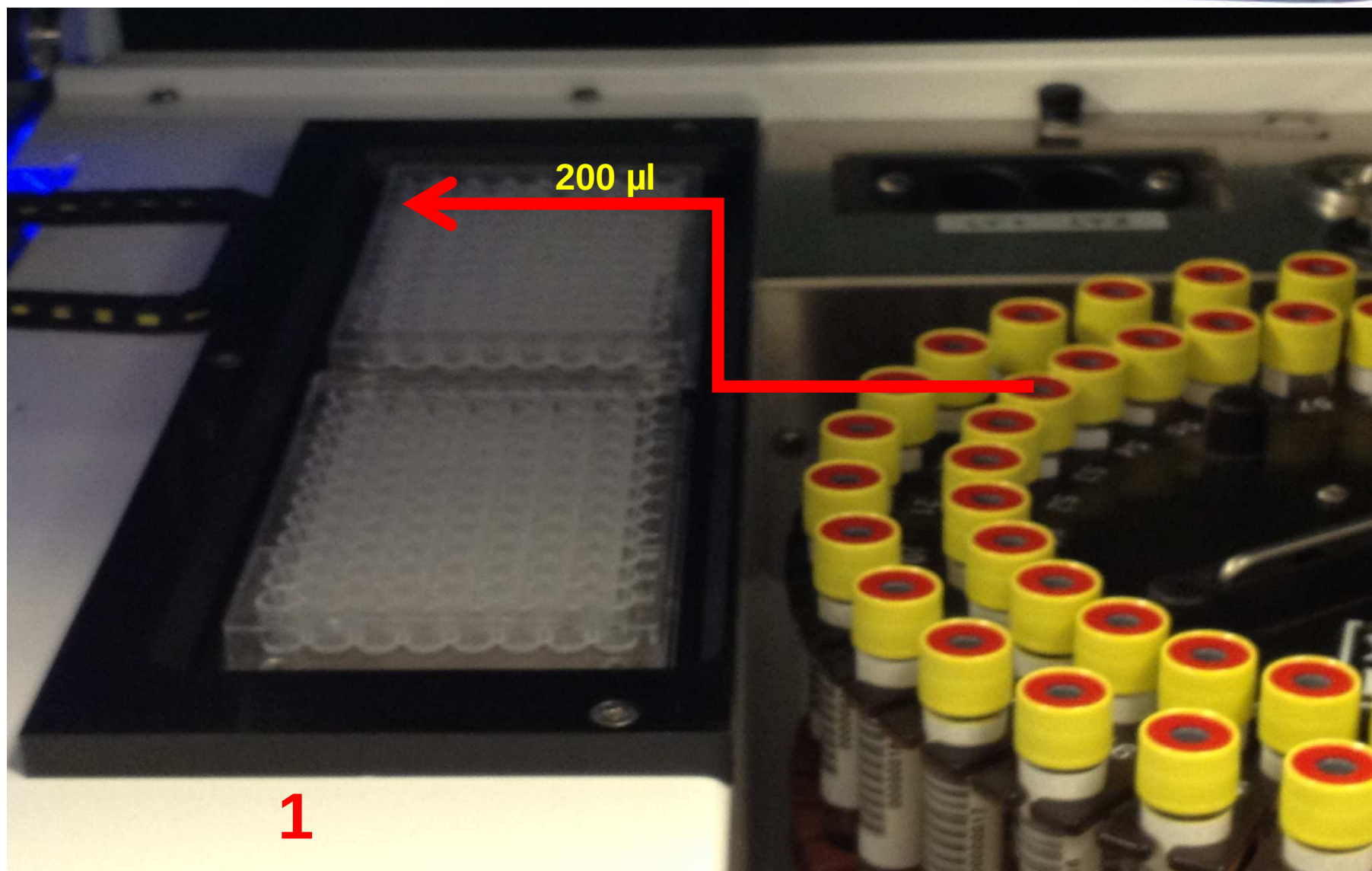
3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



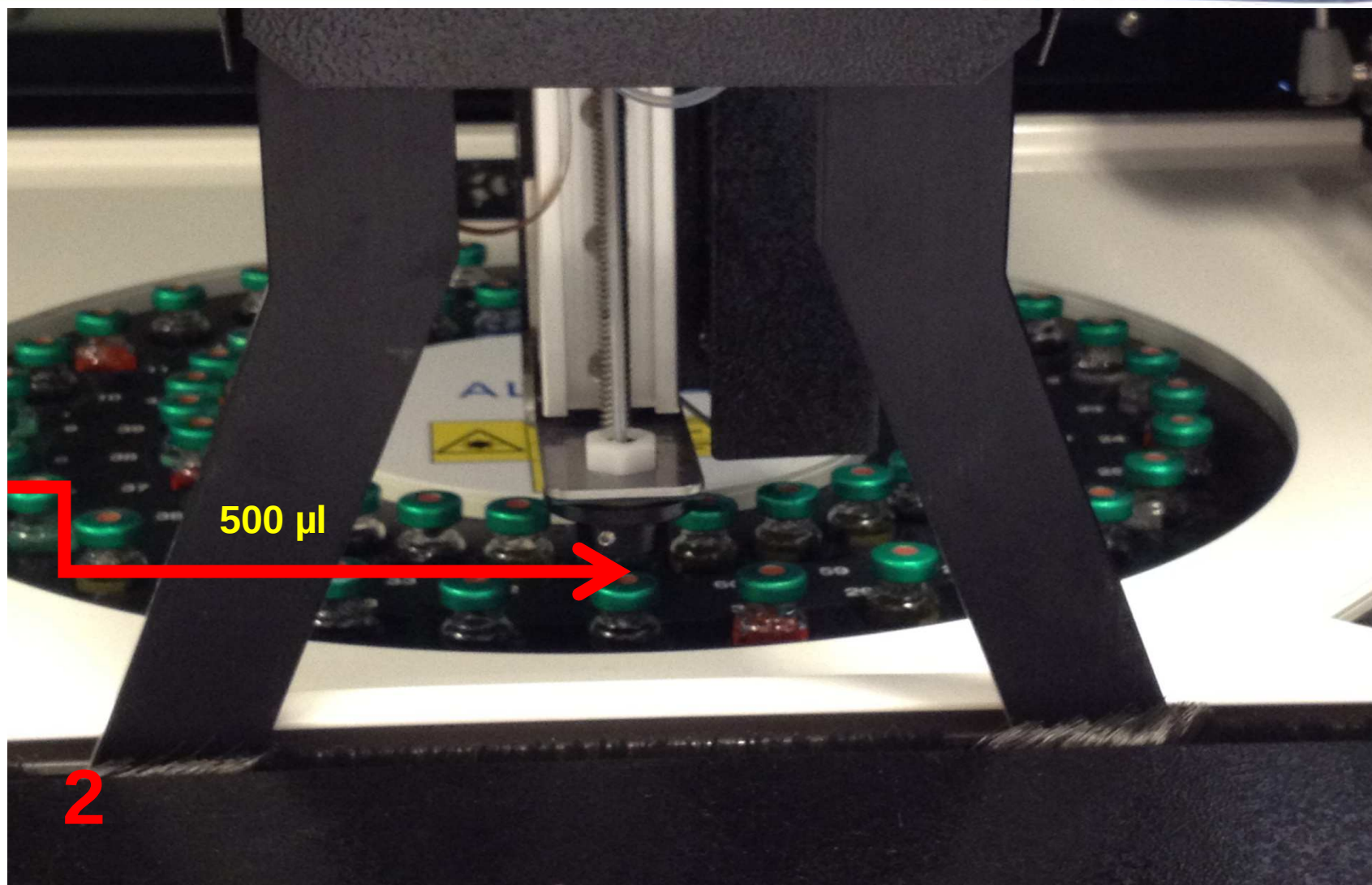
3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



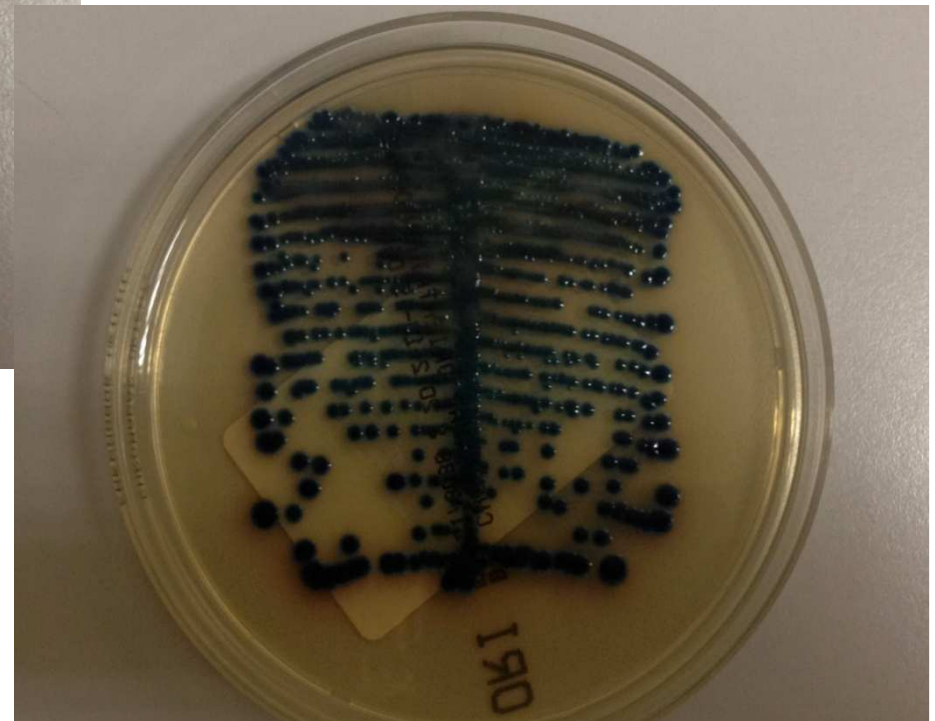
3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



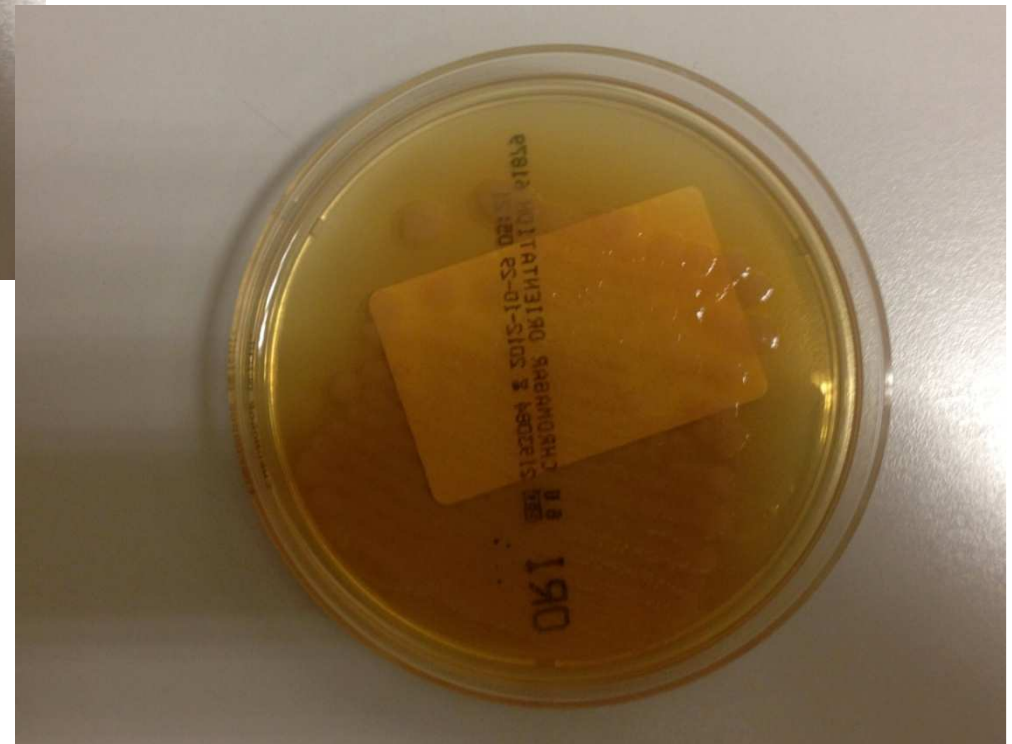
*Klebsiella
pneumoniae*



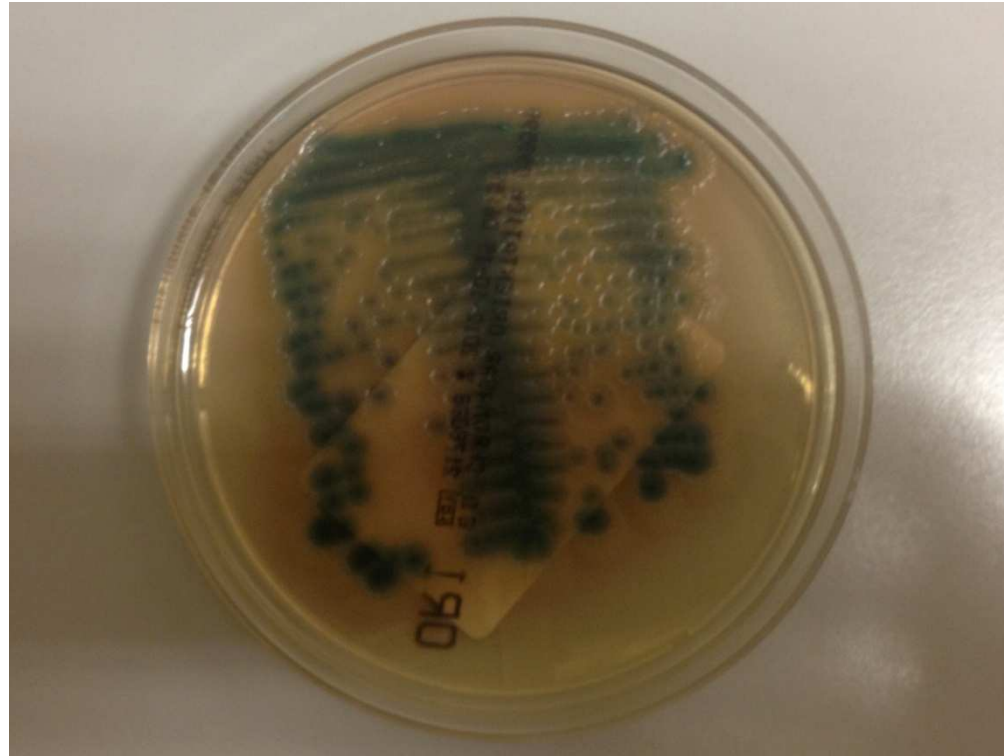
3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



*Proteus
mirabilis*



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive

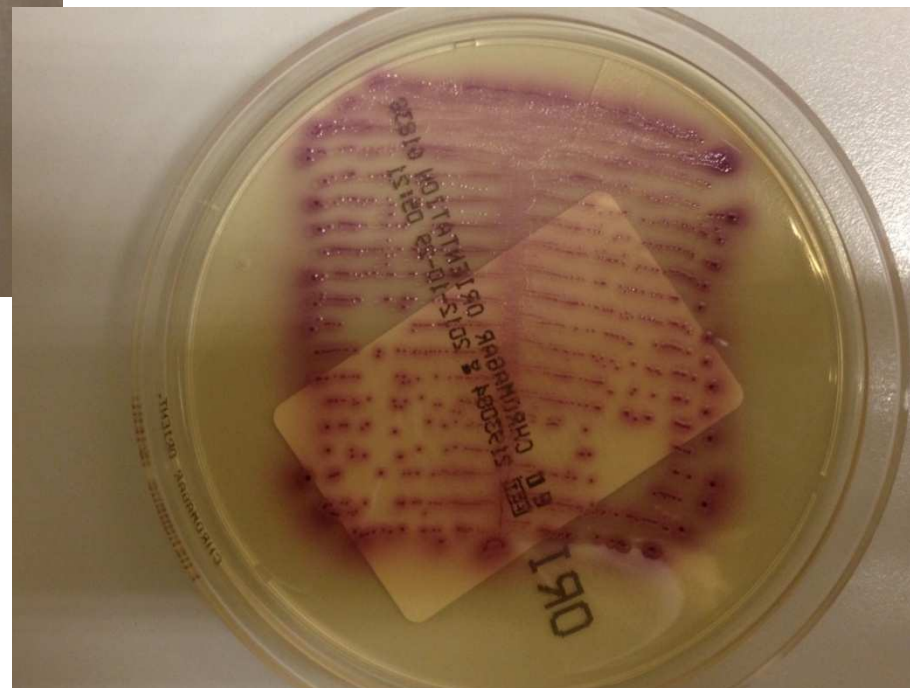


Pseudomonas aeruginosa

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



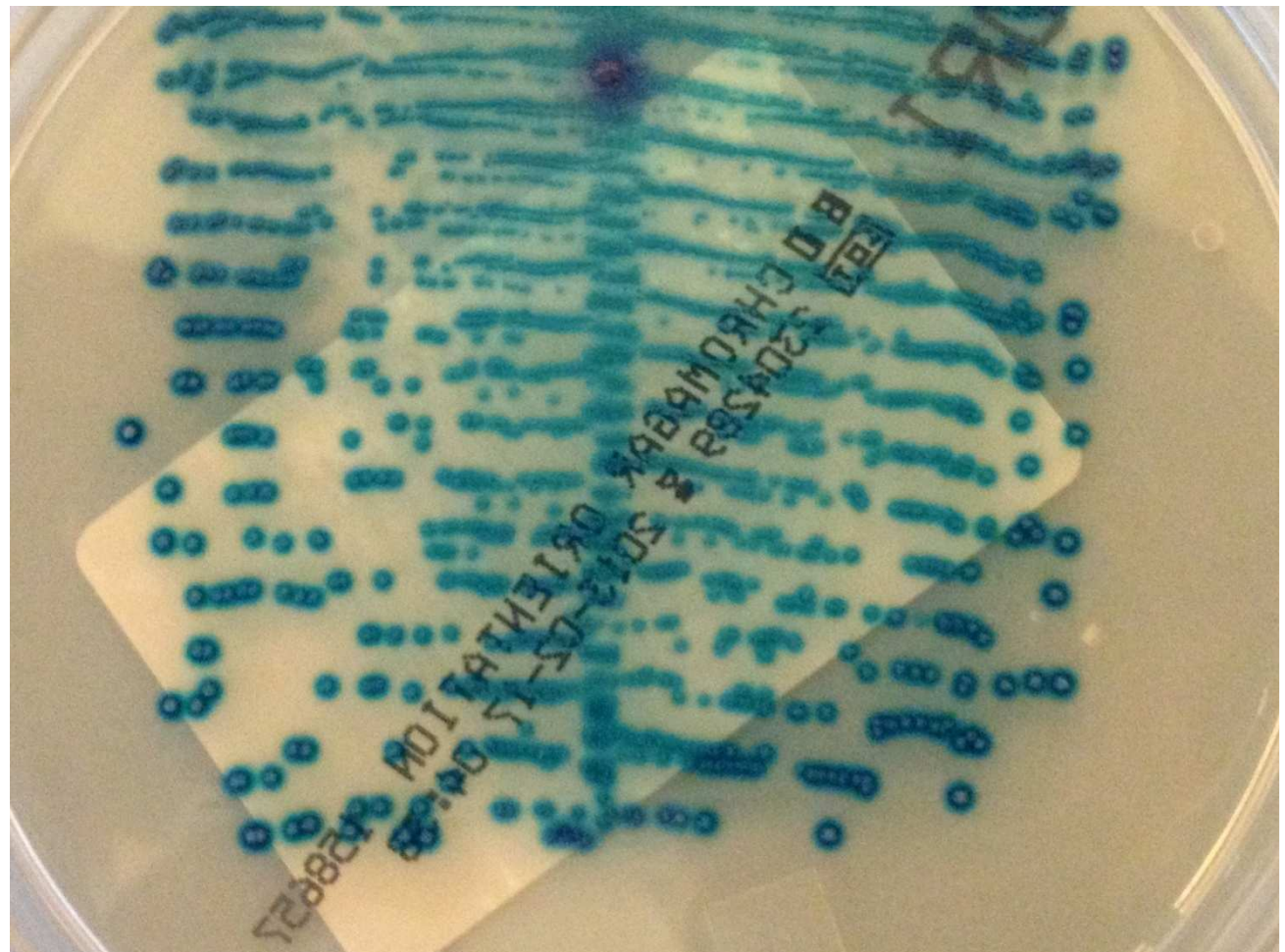
*Escherichia
coli*



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



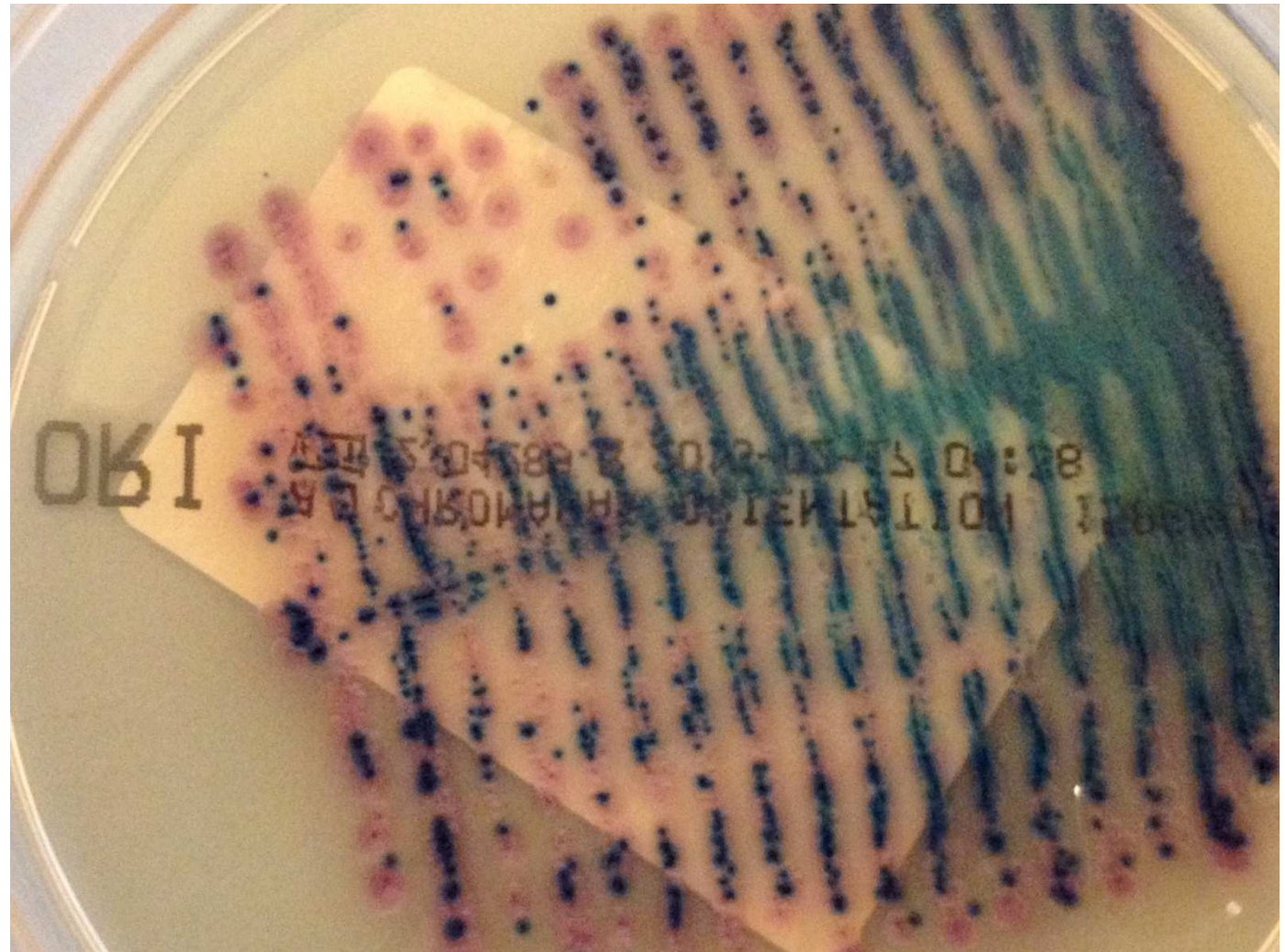
Enterococcus faecalis



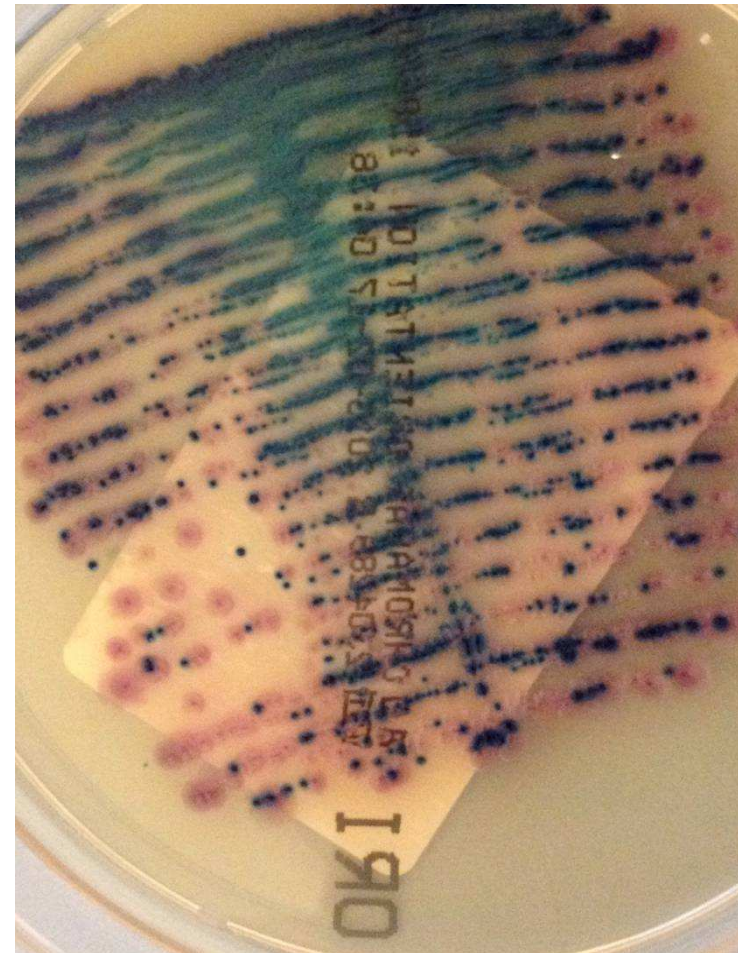
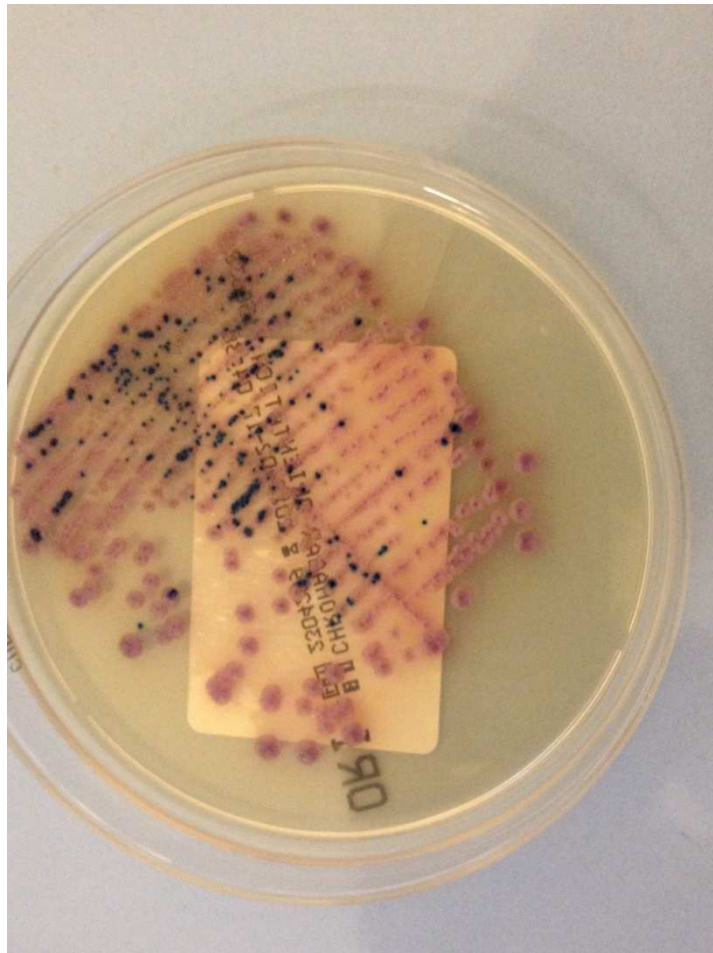
3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Escherichia coli + *Enterococcus faecalis*



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Escherichia coli + *Enterococcus faecalis*



Alfred & es. completo dell'urina

- Analisi di 84 giorni (26.09.2012 → 28.02.2013)
- 7719 urine
- Media 92/die
- Positive 2522 (32.6%)
- Crescita mista 414 (16.4% delle positive, 5.3% del totale)



Alfred & es. completo dell'urina

Esame chimico-fisico dell'urina con sedimento		Esame colturale				
		<i>Positive</i>	<i>Gram neg</i>	<i>Gram pos</i>	<i>Cresc.mista</i>	<i>Lieviti</i>
	Positivo	1455			132	
	Non eseguito	609			57	
	Negativo (Ospedal.)	104	23	17	42	22
	Negativo (Esterni)	354	127	43	183	1
	TOTALE	2522			414	



Vantaggi

- Semina certa di tutte le urocolture positive della giornata (media 2 / die seminate il giorno dopo)
- Risparmio di circa due ore al giorno di impegno per i tecnici ($0.82 \times 120 \times 5 \times 52 = 17160$ euro)
- Standardizzazione delle semine



Sidecar come seminatore

- **Materiali diversi da urine**
- **Dopo lunghe e perigliose prove...**
- **Stremati dai tentativi ...**
- **Siamo arrivati alla meta che solo pochi di voi hanno visto ...**



Tamponi (fase liquida)

- Copan



- MWE
Σ-Transwab



- Alifax

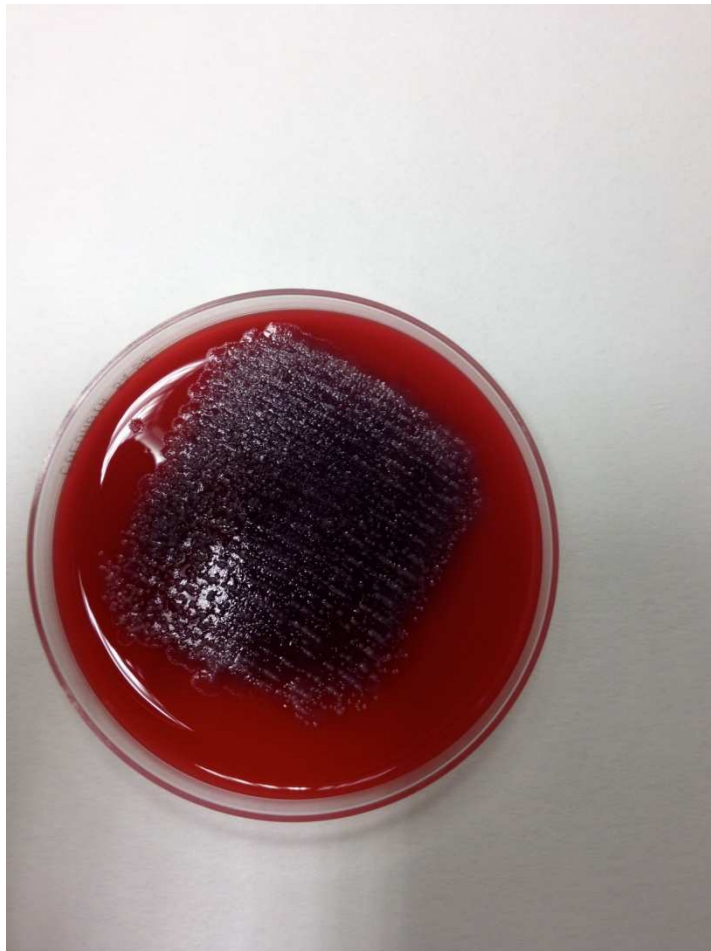
?

- **Sonicazione per 10' (tamponi in terreno solido)**

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Tampone cutaneo



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



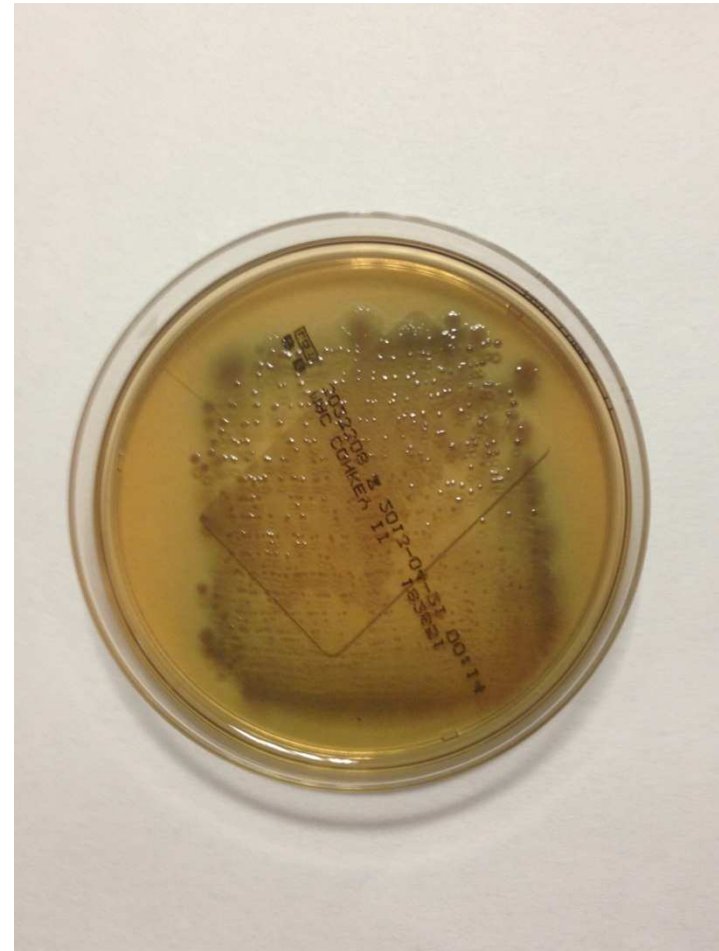
Tampone cutaneo



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



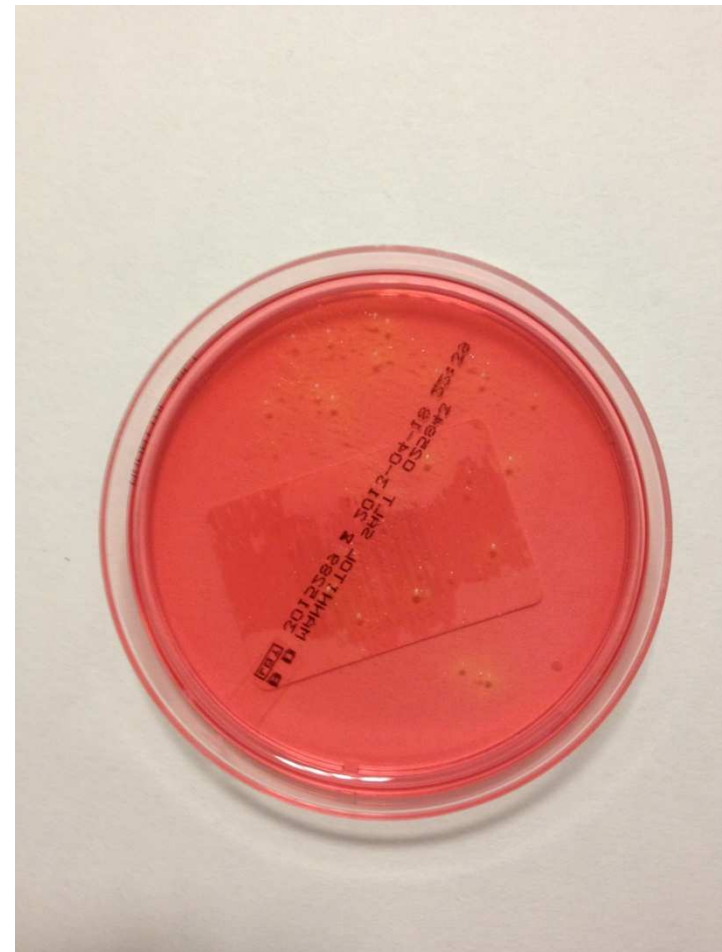
Tampone cutaneo



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Tampone cutaneo



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Tampone vagino-rettale





FBOV: HB&L vs. Bactec

	HB&L +	HB&L -
BACTEC +	Staphylococcus spp. (46) Enterococcus spp. (22) Streptococcus spp. (3) Kocuria kristinae (4) Pseudomonas aeruginosa (6) Acinetobacter baumannii (5) Escherichia coli (4) Stenotrophomonas maltophilia (4) Proteus mirabilis (2) Achromobacter xylosoxidans (1) Brevundimonas diminuta (2) Candida spp. (33) Saccharomyces cerevisiae (1) Trichosporum asahii (1) TOTAL: 134 microorganisms (in 127 samples)	Fusarium spp. (3) Bacteroides thetaiotaomicron (2) Aspergillus fumigatus (1) TOTAL: 6 microorganisms
BACTEC -	Staphylococcus spp. (13) Candida albicans (1) TOTAL: 14 microorganisms	TOTAL: 10508

Sensitivity = 95.5
 Specificity = 99.8

Positive predictive value (PPV) = 90.1
 Negative predictive value (NPV)= 99.9

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Bernardo Bellotto
Campo Santi Giovanni e Paolo
1741



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Thank you!

