

II SESSIONE

Metodi per la ricerca di patogeni nelle emocolture e le modalità di refertazione

Patrizia Cambieri
UOC Microbiologia e Virologia
IRCCS Policlinico San Matteo Pavia

JAMA The Journal of the
American Medical Association

[Home](#) [Current Issue](#) [All Issues](#) [Online First](#) [Collections](#) [CME](#) [Multimedia](#) [Contact Us](#)

February 23, 2016, Vol 315, No. 8 >

[< Previous Article](#) [Next Article >](#)

 Special Communication | February 23, 2016
 CARING FOR THE CRITICALLY ILL PATIENT

The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) FREE

Mervyn Singer, MD, FRCP¹; Clifford S. Deutschman, MD, MS²; Christopher Warren Seymour, MD, MSc³; Manu Shankar-Hari, MSc, MD, FFICM⁴; Djillali Annane, MD, PhD⁵; Michael Bauer, MD⁶; Rinaldo Bellomo, MD⁷; Gordon R. Bernard, MD⁸; Jean-Daniel Chiche, MD, PhD⁹; Craig M. Coopersmith, MD¹⁰; Richard S. Hotchkiss, MD¹¹; Mitchell M. Levy, MD¹²; John C. Marshall, MD¹³; Greg S. Martin, MD, MSc¹⁴; Steven M. Opal, MD¹⁵; Gordon D. Rubenfeld, MD, MS¹⁶; Tom van der Poll, MD, PhD¹⁷; Jean-Louis Vincent, MD, PhD¹⁸; Derek C. Angus, MD, MPH^{19,20}

[\[+\] Author Affiliations](#)

JAMA. 2016;315(8):801-810. doi:10.1001/jama.2016.0287.

Text Size: [A](#) [A](#) [A](#)

Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock

JAMA
 [Iscriviti](#) 1.282

18.743 visualizzazioni

Disfunzione di organi, causata da una risposta abnorme dell'ospite all'infezione che mette in pericolo la vita

fattore tempo risulta cruciale **per il miglioramento della prognosi**, come in altre patologie tempo-dipendenti, quali l'infarto miocardico acuto e l'ictus o il trauma.

- Intended to
 - Diagnose bloodstream infection (BSI)
 - Identify the causative agent
 - Guide antimicrobial therapy
- Lifethreatening infections

Death rate

Stage	BC positivity
Septic shock	69%
Sepsis	16%

26%
Sepsis61%
Septic
Shock

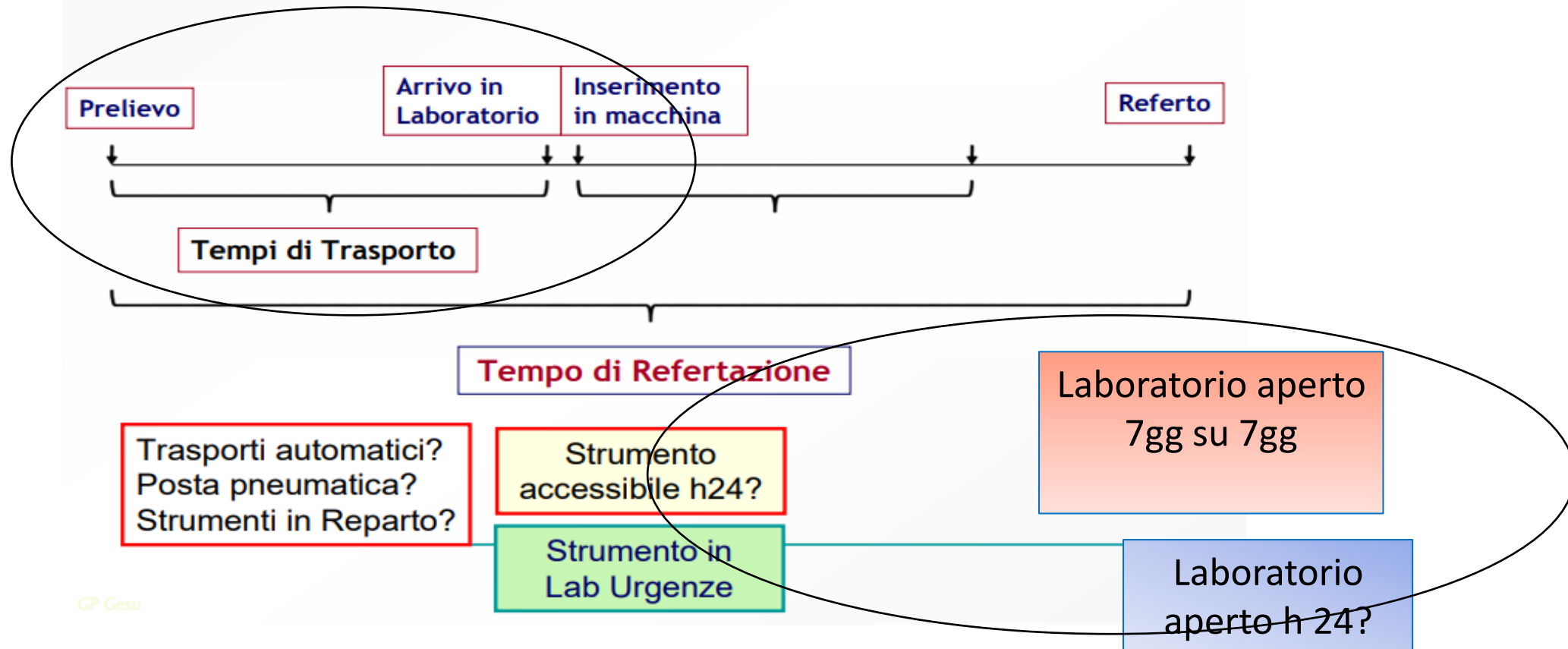
gold standard
first line tool
for detecting
BSIs.

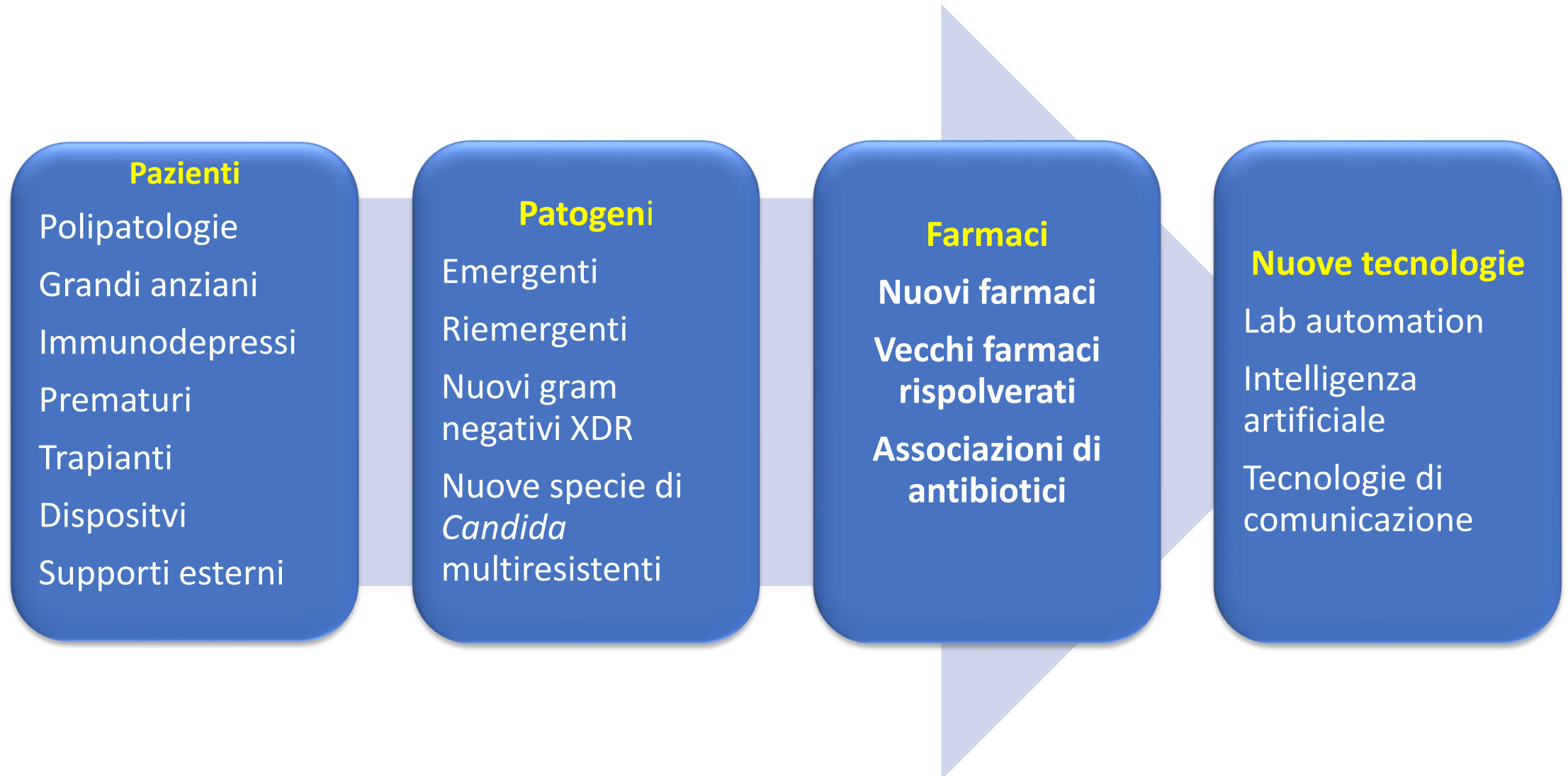
vera urgenza in laboratorio

sensibile specifica

Emocolture

Timeline e Impatto organizzativo







Spettrometria di massa
con tecnologia
MALDI-TOF



Incubazione
Immagini digitali

Inoculo automatico
dei terreni



Incubazione e
lettura
emocolture



Biologia molecolare
per ID e AST
molecolare



Antibiogramma

**STANDARDIZZAZIONE
TRACCIABILITA'
AUTOMAZIONE
BIOSICUREZZA**

LA MICROBIOLOGIA CHE VERRÀ: DALL'ERA COVID AL POST COVID



INTEGRAZIONE

- Conventional microbiology

OLD BUT

GOLD



- Molecular/omic microbiology

Diagnostic stewardship (gestione della diagnostica)

Risultati clinicamente rilevanti rapidi e accurati, al fine di influire il più positivamente possibile sull'outcome del paziente.

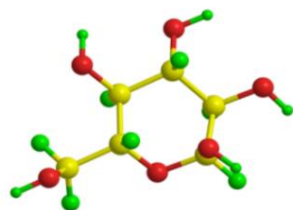
- Necessarie maggiori competenze cliniche
- Una maggiore sensibilità epicritica
- Migliore comunicazione
- Percorso diagnostico ottimizzato



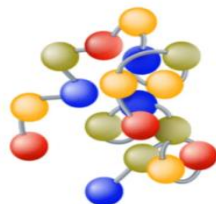
- ☐ Scelta del test
- ☐ Selezione del sistema più appropriato
- ☒ **Organizzazione laboratorio-revisione flussi organizzativi**
- ☐ Ridefinizione attività professionali
- ☐ Report epidemiologici aggiornati e condivisi
- ☐ Consulenza microbiologica: prelievi, interpretazione dei risultati, procedure, correzioni
- ☐ Impatto sulla stewardship antibiotica

Microbiologia di precisione

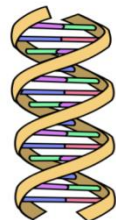
Targets



polisaccaridi



proteine



acidi
nucleici



Maggiore **sensibilità** (patogeni non/difficilmente
coltivabili/visualizzabili, patogeni non vitali)

Maggiore rapidità
Maggiore sensibilità
Maggiore accuratezza

Indipendente dalla necessità di
isolare il patogeno in coltura /
visualizzarlo al microscopio

Informazioni diverse/complementari non in contrasto con
le metodiche tradizionali

Limiti che devono essere conosciuti, e diverso significato
delle informazioni

NAAT : ricerca solo alcuni patogeni / meccanismi di R

NAAT : possibile sovrastima resistenze (geni non espressi)

Informazioni prevalentemente sulle resistenze

No informazioni sulla MIC

ATB MOLECOLARE

Run Summary	
Sample ID:	SDY_9621_LED_50_6
Organisms Detected:	Enterobacteriaceae Klebsiella pneumoniae
Applicable Antimicrobial Resistance Genes:	
Result Summary - Interpretations	
Antimicrobial Resistance Genes	
✓ Detected	KPC (carbapenem-resistance gene)
⊗ N/A	mecA (methicillin-resistance gene)
⊗ N/A	vanA/B (vancomycin-resistance genes)
NOTE: Antimicrobial resistance can occur via multiple mechanisms. A Not Detected result for the FilmArray antimicrobial resistance gene assays does not indicate antimicrobial susceptibility. Subculturing is required for species identification and susceptibility testing of isolates.	
Gram Positive Bacteria	
Not Detected	Enterococcus
Not Detected	Listeria monocytogenes
Not Detected	Staphylococcus
Not Detected	Staphylococcus aureus
Not Detected	Streptococcus
Not Detected	Streptococcus agalactiae (Group B)
Not Detected	Streptococcus pneumoniae
Not Detected	Streptococcus pyogenes (Group A)
Gram Negative Bacteria	
Not Detected	Acinetobacter baumannii
✓ Detected	Enterobacteriaceae
Not Detected	Enterobacter cloacae complex
Not Detected	Escherichia coli
Not Detected	Klebsiella oxytoca
✓ Detected	Klebsiella pneumoniae
Not Detected	Proteus
Not Detected	Serratia marcescens
Not Detected	Haemophilus influenzae
Not Detected	Neisseria meningitidis
Not Detected	Pseudomonas aeruginosa
Yeast	
Not Detected	Candida albicans
Not Detected	Candida glabrata
Not Detected	Candida krusei
Not Detected	Candida parapsilosis
Not Detected	Candida tropicalis

Geni resistenza:
CTX-M negativo
KPC positivo
VIM negativo
OXA-48 negativo
NDM negativo

ID MOLECOLARE

Presunta resistenza ai
betalattamici e ai
carbapenemi

Probabile sensibilità a
Ceftazidime/avibactam o
Meropenem/vaborbactam

Nessuna informazione sulla
sensibilità/resistenza ad
altre molecole
No MIC

Klebsiella pneumoniae Antibiogramma fenotipico

Antibiotico	MIC mg/L
Amikacina	
Amoxi/Clav	
Cefotaxime	
Ceftazidime	
Cefepime	
Gentamicina	1 S
Ciprofloxacina	>2
Colistina	0.25 S
Fosfomicina	
Ertapenem	>2 R
Imipenem	
Meropenem	
Tigeciclina	1
Ceftaz/avibact.	2 S



M47-Ed2

Table 3. Technologies for Identifying Organisms Directly From Positive Blood Culture Broths

Technology	Approximate Turnaround Time From Positive Culture, hours
FISH	0.5–1.5
Nested PCR	1
Real-time PCR	1
MALDI-TOF MS	1–2 ^a
DNA hybridization and electrochemical detection	1.5
Microarray	2.5
Real-time PCR and microarray	≈ 4.5

Abbreviations: DNA, deoxyribonucleic acid; FISH, fluorescence *in situ* hybridization; MALDI-TOF MS, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; PCR, polymerase chain reaction.

^a Directly from positive blood cultures. Time may be longer for rapid incubation protocols, as described in Subchapter 5.4.

Pancholi P, Carroll KC, Buchan BW, et al. Multicenter evaluation of the Accelerate PhenoTest BC Kit for rapid identification and phenotypic antimicrobial susceptibility testing using morphokinetic cellular analysis. *J Clin Microbiol.* 2018;56(4):e01329-17.

Mestas J, Polanco CM, Felsenstein S, Dien Bard J. Performance of the Verigene Gram-positive blood culture assay for direct detection of Gram-positive organisms and resistance markers in a pediatric hospital. *J Clin Microbiol.* 2014;52(1):283-287.

Huang TD, Melnik E, Bogaerts P, Evrard S, Glupczynski Y. Evaluation of the ePlex blood culture identification panels for detection of pathogens in bloodstream infections. *J Clin Microbiol.* 2019;57(2):e01597-18.

Schoy A, Noël A, Boeras A, et al. Evaluation of the Bruker® MBT Sepsityper IVD module for the identification of polymicrobial blood cultures with MALDI-TOF MS. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37(11):2145-2152.

Payne M, Champagne S, Lowe C, Leung V, Hinch M, Romney MG. Evaluation of the FilmArray Blood Culture Identification Panel compared to direct MALDI-TOF MS identification for rapid identification of pathogens. *J Med Microbiol.* 2018;67(9):1253-1256.

PNA FISH

Ibridazione fluorescente in situ

In presenza di segnalata positività del flacone di emocoltura, si sceglie lo specifico kit di sonda sulla base delle informazioni riguardanti il germe patogeno, ottenute dall'esame batterioscopico, dopo colorazione di Gram, e si procede all'allestimento dei vetrini per l'ibridazione fluorescente in situ

MALDI-TOF

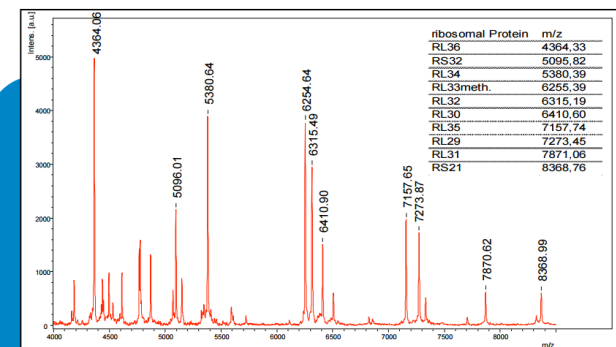
Determinazione della composizione elementare di un campione.

misurazione del rapporto massa-carica di composti chimici, previa loro ionizzazione.

La tecnica consiste **nell'assorbire il campione su una matrice**. Il campione, introdotto nella apparecchiatura, viene colpito da un laser, che provoca l'eiezione dei peptidi dalla piastrina sotto forma di un **gas ionizzato**, in cui ciascuna molecola porta una o più cariche positive. I peptidi ionizzati sono poi accelerati in un campo elettrico e volano verso il rilevatore. Il tempo necessario perché raggiungano il rilevatore è determinato dalla loro massa e dalla loro carica. Gli ioni giungono così in tempi differenti al detector, e vengono mostrati dallo strumento stesso attraverso **spettri di massa**, in cui ogni **picco rappresenta la quantità di uno stesso ione**, disposti sull'asse delle ascisse in base al loro rapporto massa/carica.

Profilo MALDI

Identificazione basata su proteine ribosomiali
Spettri di massa specifici per famiglia, genere e specie



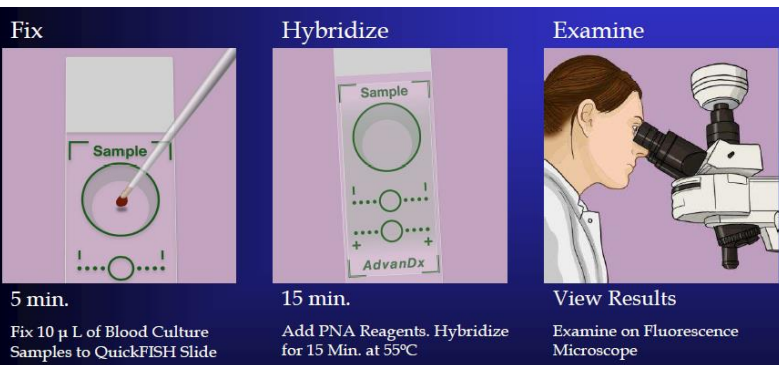
Escherichia coli

Infectious Diseases

Evaluation of QuickFISH and maldi Sepsityper for identification of bacteria in bloodstream infection

Helena Enroth, Karolina Retz, Sofie Andersson, Carl Andersson, Kristina Svensson, Lars Ljungström, Diana Tilevik & Anna-Karin Pernestig

To cite this article: Helena Enroth, Karolina Retz, Sofie Andersson, Carl Andersson, Kristina Svensson, Lars Ljungström, Diana Tilevik & Anna-Karin Pernestig (2019) Evaluation of QuickFISH and maldi Sepsityper for identification of bacteria in bloodstream infection, Infectious Diseases, 51:4, 249-258, DOI: [10.1080/23744235.2018.1554258](https://doi.org/10.1080/23744235.2018.1554258)



An International, Prospective, Multicenter Evaluation of the Combination of AdvanDx *Staphylococcus QuickFISH BC* with *mecA* XpressFISH for Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from Positive Blood Cultures

H. Salimnia,^a M. R. Fairfax,^a P. Lephart,^a M. Morgan,^b J. J. Gilbreath,^c S. M. Butler-Wu,^c K. E. Templeton,^d F. J. Hamilton,^d F. Wu,^a R. Buckner,^e D. Fuller,^f T. E. Davis,^g A. M. Abdelhamed,^g M. R. Jacobs,^g A. Miller,^h B. Pfommer,^h K. C. Carroll^h
^aDetroit Medical Center University Laboratories, Detroit, Michigan, USA; ^bCedars Sinai Medical Center, Los Angeles, California, USA; ^cUniversity of Washington, Seattle, Washington, USA; ^dRoyal Infirmary, Edinburgh, United Kingdom; ^eColumbia University Medical Center, New York, New York, USA; ^fIndiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana, USA; ^gCase Western Reserve University and University Hospitals Case Medical Center, Cleveland, Ohio, USA; ^hJohns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, USA

LA MICROBIOLOGIA CHE VERRÀ: DALL'ERA COVID AL POST COVID



The Most Comprehensive BCID Panels

ePlex.

Gram-Positive Targets

Bacillus cereus group
Bacillus subtilis group
Corynebacterium
Cutibacterium acnes
Enterococcus
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium
Lactobacillus
Listeria
Listeria monocytogenes
Micrococcus
Staphylococcus
Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus lugdunensis
Streptococcus
Streptococcus agalactiae (GBS)
Streptococcus anginosus group
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes (GAS)

Resistance Genes

mecA
mecC
vanA
vanB

Pan Targets

Pan Gram-Negative
Pan-Candida

Gram-Negative Targets

Acinetobacter baumannii
Bacteroides fragilis
Citrobacter
Cronobacter sakazakii
Enterobacter (non-cloacae complex)
Enterobacter cloacae complex
Escherichia coli
Fusobacterium nucleatum
Fusobacterium necrophorum
Haemophilus influenzae
Klebsiella oxytoca
Klebsiella pneumoniae group
Morganella morganii
Neisseria meningitidis
Proteus
Proteus mirabilis
Pseudomonas aeruginosa
Salmonella
Serratia
Serratia marcescens
Stenotrophomonas maltophilia

Resistance Genes

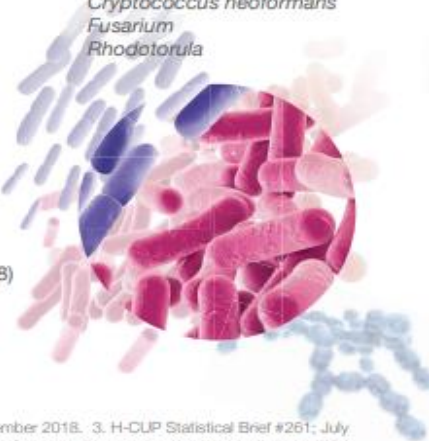
CTX-M NDM
IMP OXA (groups 23 and 48)
KPC VIM

Pan Targets

Pan Gram-Positive
Pan-Candida

Fungal Targets

Candida albicans
Candida auris
Candida dubliniensis
Candida famata
Candida glabrata
Candida guilliermondii
Candida kefyr
Candida krusei
Candida lusitanae
Candida parapsilosis
Candida tropicalis
Cryptococcus gattii
Cryptococcus neoformans
Fusarium
Rhodotorula



REFERENCES: 1. Rudd KE, et al. *Lancet*. 2020;395(10219):200-211. 2. Cancer, World Health Organization, 12 September 2018. 3. H-CUP Statistical Brief #261; July 2020. Agency for Healthcare Research and Quality, Rockville, MD. 4. H-Cup Statistical Brief #204; May 2016. 5. Gadre SK, et al. *Chest*. 2019;155(3):483-490. 6. IDSA: Better Tests Better Care, The Promise of Next Generation Diagnostics, January 2015. 7. Kumar A, et al. (2006) *Crit Care Med*. 34 (6): 1589-1596. 8. Based on ePlex panel inclusivity compared to 7 geographically diverse datasets, not intended as sensitivity/performance claims. 9. Box MJ, et al., (2015) *Pharmacotherapy*. 35 (3): 269-276. 10. Timbrook T, et al. (2017) *Clin Infect Dis*. 64 (1): 15-23. 11. Karino S, et al. (2016) *Antimicrob Agents Chemother*. 60(6): 3743-50. 12. Schreier DJ, et al. (2019) *Clin Infect Dis*. 68 (9): 1456-62. 13. Seddon MM, et al. (2019) *Clin Infect Dis*. 69 (3): 414-20. 14. Teshome BF, et al. (2019) *Pharmacotherapy*. 39(3): 261-70. 15. Zilberberg MD, et al. Inappropriate empiric antifungal therapy for candidemia in the ICU and hospital resource utilization: a retrospective cohort study. *BMC Infect Dis*. 2010 Jun 3;10:150. 16. Skoglund E, et al. Estimated Clinical and Economic Impact through Use of a Novel Blood Collection Device To Reduce Blood Culture Contamination in the Emergency Department: a Cost-Benefit Analysis. *J Clin Microbiol*. 2019 Jan 2;57(1):e01015-18. 17. Kiforos A, et al. The clinical impact of implementing GenMark ePlex blood culture panels for around-the-clock blood culture identification; a prospective observational study. *Infectious Diseases*, 2020.

diagnostica molecolare basata su tecnologia PCR multiplex per l'identificazione degli acidi nucleici

Luminex.

VERIGENE® Bloodstream Infection Testing Panels

NewMicro 
Network di Microbiologia e Virologia del Nord Est



VERIGENE® BC-GP

Species

Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus lugdunensis
Streptococcus anginosus Group
Streptococcus agalactiae
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium

Genus

Staphylococcus spp.
Streptococcus spp.
Listeria spp.

Resistance

mecA (methicillin)*
vanA (vancomycin)**
vanB (vancomycin)**

*The assay detects the presence of the *mecA* gene in a sample, but does not determine which *Staphylococcus* species (*S. aureus* and/or *S. epidermidis*) contained the gene.

**The assay detects the presence of the *vanA* or *vanB* gene in a sample, but does not determine which *Enterococcus* species (*E. faecalis* and/or *E. faecium*) contained the gene.

VERIGENE® BC-GN

Species

*Escherichia coli**
Klebsiella oxytoca
Klebsiella pneumoniae
Pseudomonas aeruginosa

Genus

Acinetobacter spp.
Citrobacter spp.
Enterobacter spp.
Proteus spp.

Resistance

CTX-M (ESBL)
IMP (carbapenemase)
KPC (carbapenemase)
NDM (carbapenemase)
OXA (carbapenemase)
VIM (carbapenemase)

*BC-GN will not distinguish *Escherichia coli* from *Shigella* spp. (*S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*, and *S. sonnei*).

Il sistema Verigene® utilizza la tecnologia brevettata delle probes oligonucleotidiche associate a nanoparticelle d'oro per rilevare i targets di acido nucleico batterico presenti nelle aliquote di emocolture positive per mezzo dell'ibridazione agli oligonucleotidi sonda di cattura legati a un microarray.

LA MICROBIOLOGIA CHE VERRÀ: DALL'ERA COVID AL POST COVID



Gram-positive bacteria	Enterobacteriales	Non-fermenting bacteria	Fungi	Resistance	Gene
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Capsule negative staphylococci</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes/dysgalactiae</i> <i>Enterococcus spp.</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Citrobacter freundii/koseri</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter cloacae</i> complex <i>Klebsiella aerogenes (E. aerogenes)</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella varicola</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Senftenella marcescens</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i> complex <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Aspergillus spp.</i> <i>Candida spp.</i> <i>Candida albicans</i> <i>Candida dubliniensis</i> <i>Candida glabrata</i> <i>C. orientalis (C. krusei)</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida tropicalis</i>	<i>Amphotericin</i> <i>Mechanism:</i> <i>Eucosin</i> <i>Quazitin</i> <i>Vincristin</i> <i>2nd generation Cephalosporins</i>	<i>aac(II)/aac(IV)</i> <i>aacA1</i> <i>emrA</i> <i>emrA</i> <i>emrC</i> <i>vanA</i> <i>vanB</i> <i>cat-B1</i>
Corynebacteriaceae		Anaerobic bacteria			<i>apc</i> <i>hly</i> <i>adp</i> <i>cat-23</i> <i>cat-26/28</i> <i>cat-38</i> <i>cat</i>
<i>Corynebacterium spp.</i>		Other Gram-negative bacteria	Mycobacteriaceae	<i>Ceftazidime</i>	
		<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Mycobacterium spp.</i>		

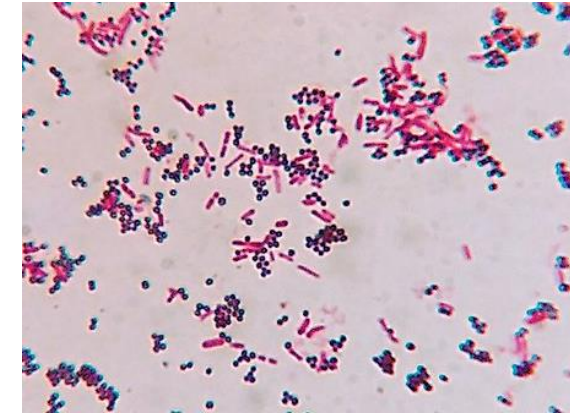
Gram+ Bacteria	Gram- Bacteria
<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus lugdunensis</i> <i>Streptococcus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus- baumannii complex</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Enterobacterales</i> <i>Enterobacter cloacae complex</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae group</i> <i>Proteus</i> <i>Salmonella</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Yeast	Antibiotic Resistance
<i>Candida albicans</i> <i>Candida auris</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	Carbapenemases IMP KPC OXA-48-like NDM VIM Colistin Resistance <i>mcr-1</i> ESBL CTX-M Methicillin Resistance <i>mecA/C</i> <i>mecA/C</i> and MREJ (MRSA) Vancomycin Resistance <i>vanA/B</i>

nested multiplex PCR (nmPCR) che consiste in una prima reazione di amplificazione con una coppia di primer “esterni” ad ampio range complementari a domini proteici conservati presenti nei batteri di interesse, a cui segue una seconda PCR che impiega come stampo l’amplificato diluito della prima reazione e una coppia di primer specie-specifica di una regione interna all’amplicone prodotto dalla prima PCR

5.5.3 Recommended Practices for Rapid Methods of Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing

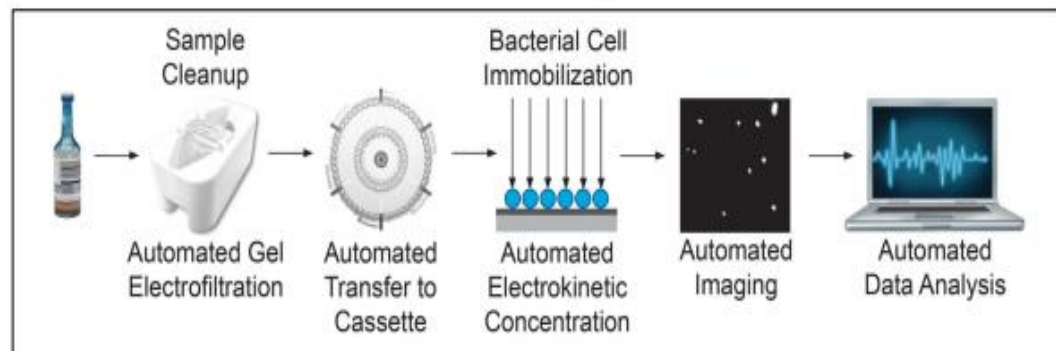
As indicated in Subchapter 5.4, rapid ID and AST are the standard of care for laboratories that test blood cultures. To ensure that rapid testing results are accurate and have the optimum effect on patient care, laboratories should:

- Perform a Gram stain, either before or in tandem with rapid testing, in order to:
 - Optimize sample pretreatment for MALDI-TOF MS (eg, by removing interfering substances, such as cells).¹⁸²
 - Identify polymicrobial infections, which should not be tested by MALDI-TOF MS or direct disk diffusion and for which molecular methods may be suboptimal.
 - Corroborate subsequent ID results with Gram stain results.
 - Any discrepancies should be immediately investigated by repeating both test methods.
 - **NOTE:** If Gram stain results are negative, rapid testing should not be performed, even if the growth curve indicates bacterial or fungal growth.
- Perform subculture(s) in tandem with rapid ID and/or AST methods, in order to:
 - Identify organisms that are below the LoD of the rapid ID test or that are not targeted by the rapid ID panel.¹⁸³
 - Corroborate ID results with colony morphology.



Rodríguez-Sánchez B, Sánchez-Carrillo C, Ruiz A, et al. Direct identification of pathogens from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(7):O421-O427.

Gray TJ, Thomas L, Olma T, Mitchell DH, Iredell JR, Chen SCA. Rapid identification of Gram-negative bacteria from blood culture broth using MALDI-TOF mass spectrometry. *J Vis Exp.* 2014;(87):51663.



Ibridazione in situ
+ analisi
morfocinetica
cellulare

tecnologia del light-scattering monitoraggio
della crescita batterica in un terreno molto
ricco di nutrienti
registrazione continua della torbidità del
campione
possibilità di creare una curva di crescita
che consente di dedurre la sensibilità o la
resistenza del patogeno a vari antibiotici

Quantitative Identification

- › Universal detection and polymicrobial capability

Fast Antimicrobial Susceptibility

- › MIC results and SIR interpretation

Direct from Sample

- › First Assay Kit: Accelerate PhenoTest™ BC
Positive Blood Culture

- › Future Assay Kits: BAL, Wound Swabs & More

Fully Automated

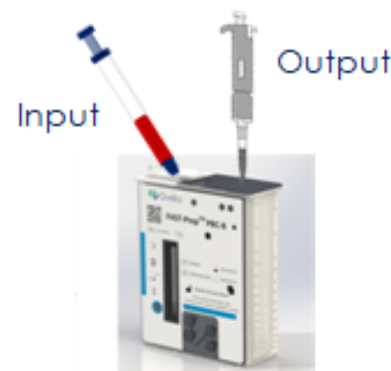
- › Scalable, sample to answer automation

US: For research use only. Not for use in diagnostic procedures.

Identification for 19 bacteria and yeast targets from
positive blood cultures

Phenotypic susceptibility results

TAT about 5 hours



Boland et al. *BMC Infectious Diseases* (2019) 19:989
<https://doi.org/10.1186/s12879-019-4623-x>

Hindawi
BioMed Research International
Volume 2018, Article ID 6976923, 13 pages
<https://doi.org/10.1155/2018/6976923>

VII CONGRESSO NEWMICRO

LA MICROBIOLOGIA CHE VERRÀ:
DALL'ERA COVID AL POST COVID

Automated, rapid, reliable
AST results in ≈6 hours



Fully-automated analysis

- Provides random access load and go
- Large touchscreen interface aids walk away workflow
- Simple visual display indicates space availability
- Sample carousel guarantees controlled inoculum, dilution and growth medium adaptation

Rapid Phenotypic AST

- Direct from positive blood cultures
- Truly accurate MIC results within <6 hours
- Delivers phenotypic ISO 20776-1 equivalent rapid antibiotic susceptibility testing (rAST)
- Harnesses the power of digital imaging to standardize performance and accuracy

Comprehensive AST disc

- Provides results for 14 key Gram negative organisms, including *Haemophilus influenzae*
- 6-14 two-fold dilutions of 23 antimicrobials, covering 256 dilutions
- Results generated from broth microdilution (CAMHB and fastidious broth)

Rapid phenotypic AST

- Direct from positive blood culture
- MIC results in 6hrs
- Phenotypic ISO 20776-1 equivalent rAST
- Digital imaging standardizes performance and accuracy

Comprehensive AST disc

- 14 Key Gram negative organisms including *Haemophilus influenzae*
- 23 Antimicrobials 254 data points
- Results from broth microdilution (CAMHB and fastidious broth)

EUCAST RAST Breakpoint Tables version 5.1 (2022-05-02)

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Zone diameter breakpoint tables for rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST)
directly from blood culture bottles

Version 5.1, valid from 2022-05-02

This document should be cited as "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Zone diameter Breakpoint Tables for rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles. Version 5.1, 2022. <http://www.eucast.org>."

Content	Page	Additional information
Changes	1	
Notes	3	
Guidance on reading EUCAST RAST Breakpoint Tables	4	
Information on technical uncertainty	5	
<i>Escherichia coli</i>	6	Breakpoints for 4, 6, 8 and 16-20 h
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	Breakpoints for 4, 6, 8 and 16-20 h
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	Breakpoints for 6, 8 and 16-20 h
<i>Acinetobacter baumannii</i>	9	Breakpoints for 4, 6 and 8 h
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	Breakpoints for 4, 6, 8 and 16-20 h
<i>Enterococcus faecalis</i>	11	Breakpoints for 4, 6 and 8 h
<i>Enterococcus faecium</i>	12	Breakpoints for 4, 6 and 8 h
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	13	Breakpoints for 4, 6, 8 and 16-20 h

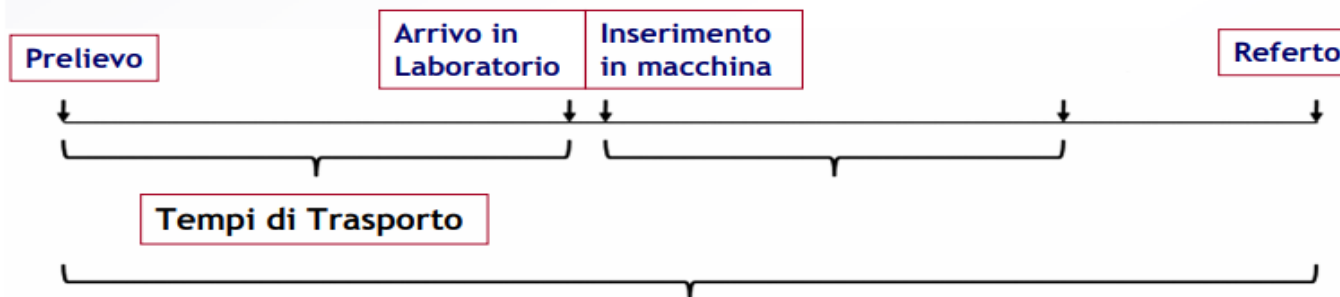


2013-2014

Emocolture Timeline e Impatto organizzativo

2015-2019

7/7 H12



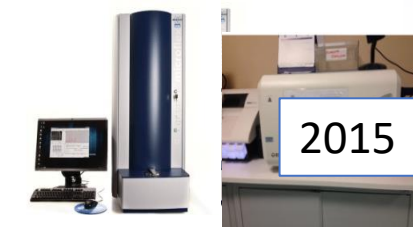
Tempo di Refertazione

Trasporti automatici?
Posta pneumatica?
Strumenti in Reparto?

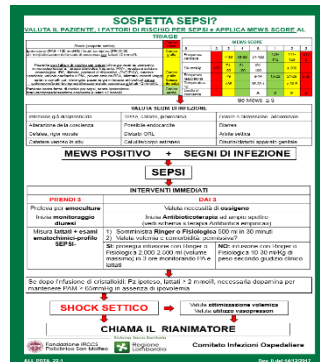
Strumento
accessibile h24?

Strumento in
Lab Urgenze

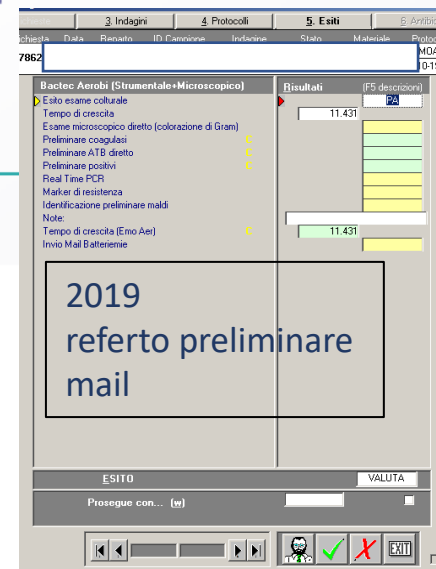
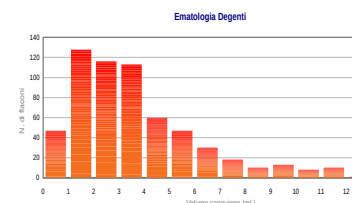
2020
7/7 H 24



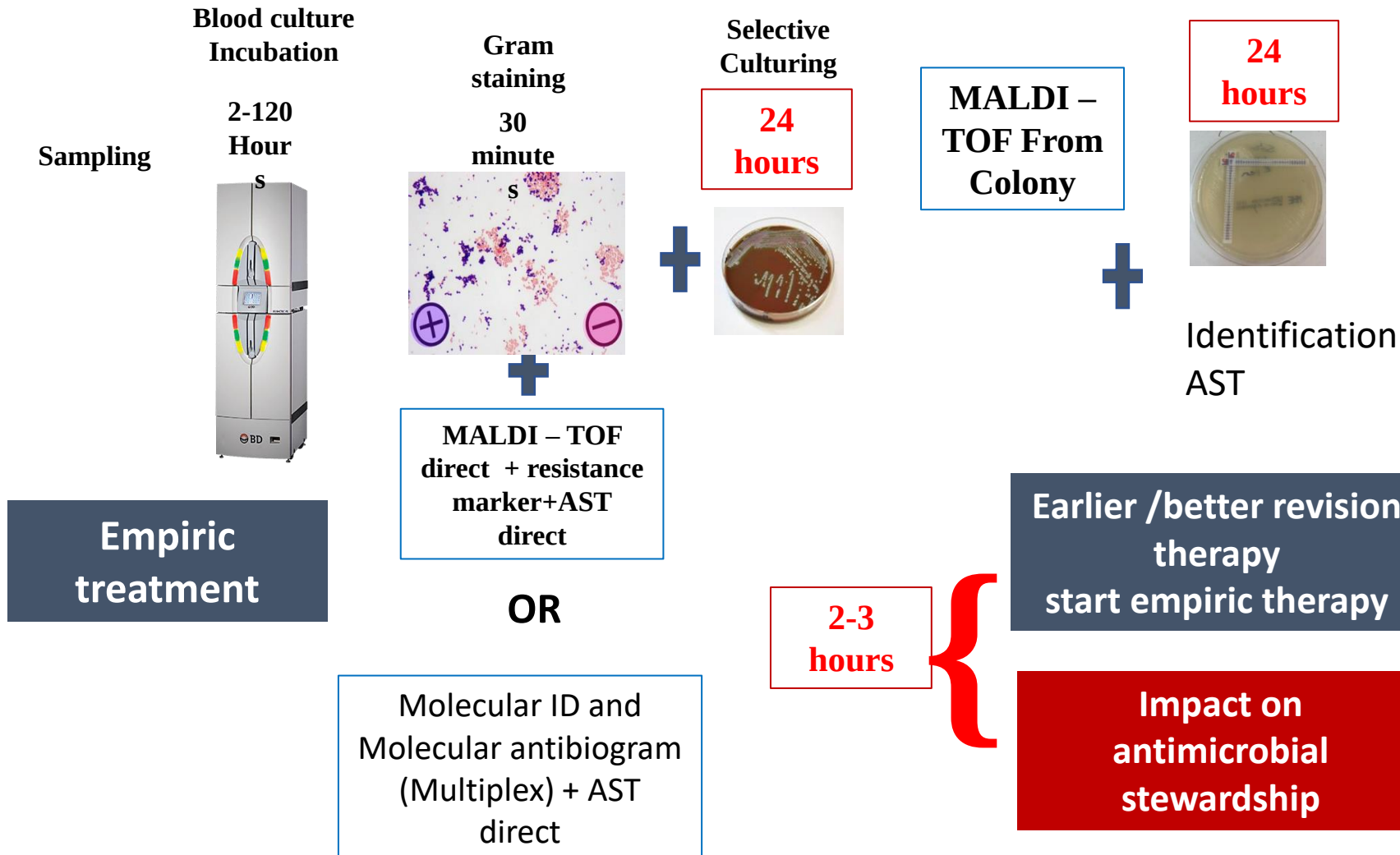
2015

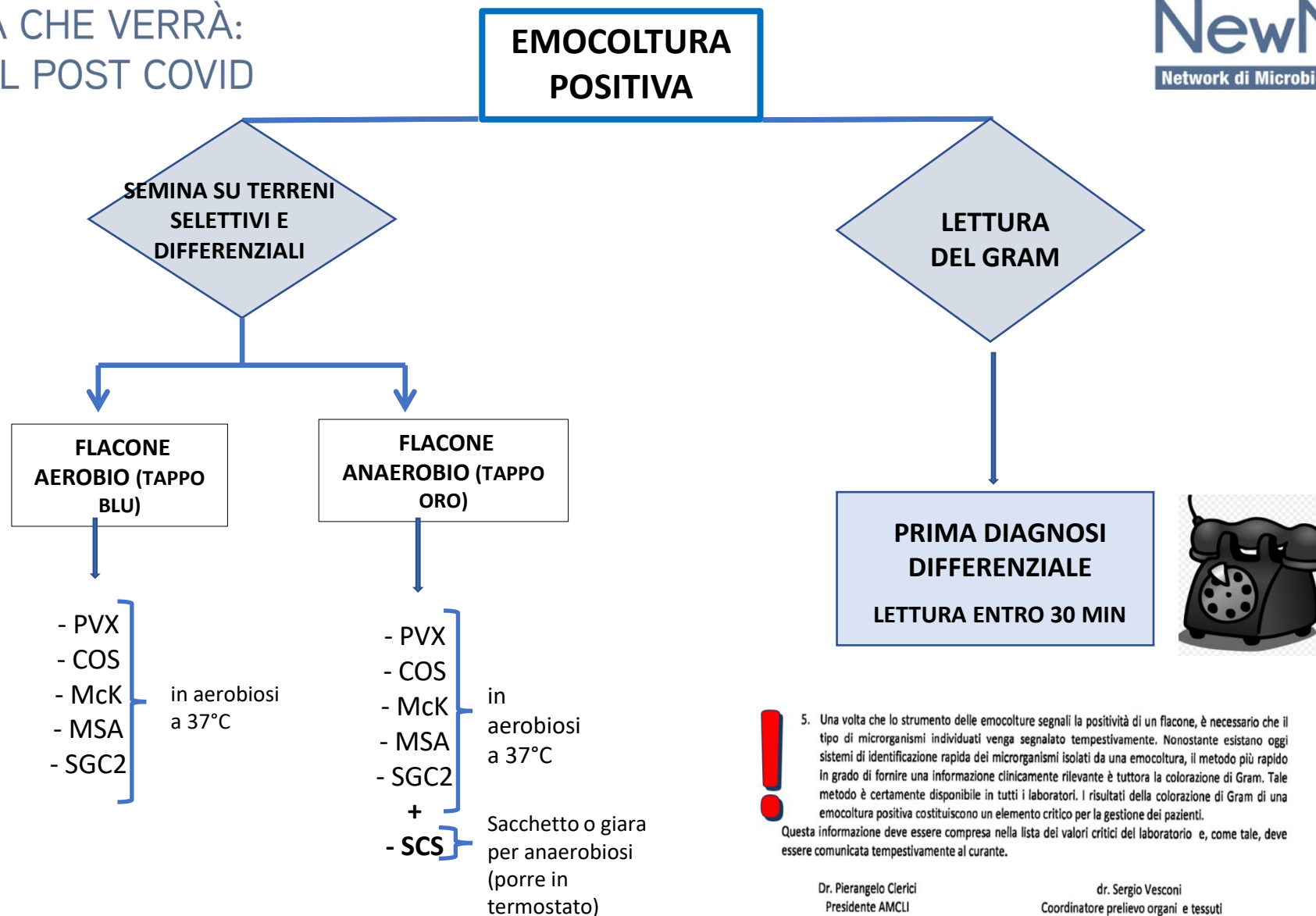


2013-
2018-
2022



Workflow bloodculture and antimicrobial stewardship



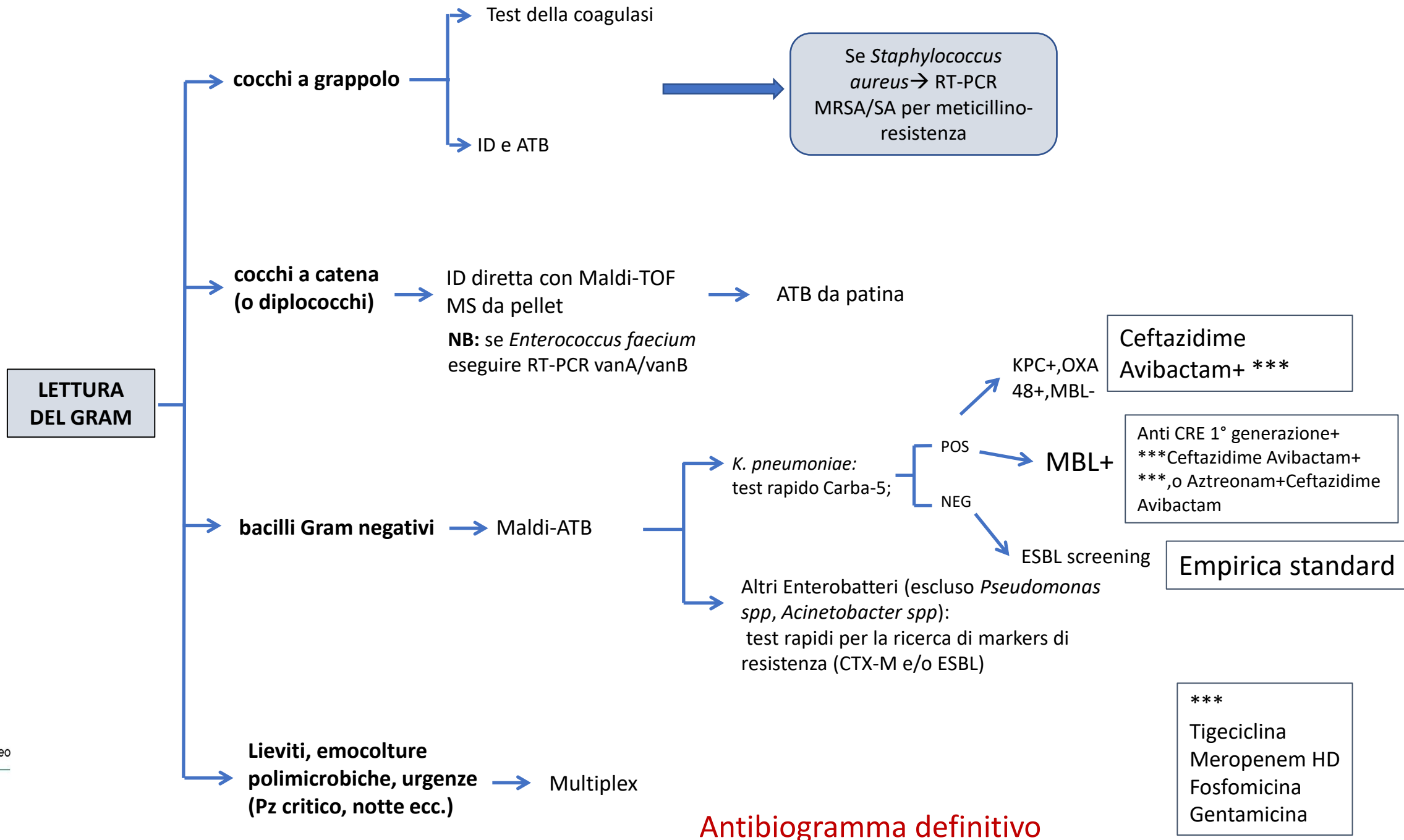


5. Una volta che lo strumento delle emocolture segnali la positività di un flacone, è necessario che il tipo di microrganismi individuati venga segnalato tempestivamente. Nonostante esistano oggi sistemi di identificazione rapida dei microrganismi isolati da una emocoltura, il metodo più rapido in grado di fornire una informazione clinicamente rilevante è tuttora la colorazione di Gram. Tale metodo è certamente disponibile in tutti i laboratori. I risultati della colorazione di Gram di una emocoltura positiva costituiscono un elemento critico per la gestione dei pazienti. Questa informazione deve essere compresa nella lista dei valori critici del laboratorio e, come tale, deve essere comunicata tempestivamente al curante.

Dr. Pierangelo Clerici
Presidente AMCLI

dr. Sergio Vesconi
Coordinatore prelievo organi e tessuti
Regione Lombardia

Milano 25.3.2013





6 Postexamination Activities

6.1 Monitoring of Contamination Rates

- ☐ Utilizzare un algoritmo interpretativo per riconoscere i contaminanti
- ☐ Ridurre al minimo l'identificazione dei contaminanti
- ☐ Non effettuare l'antibiogramma sui contaminanti /effettuarlo senza però riportare i risultati nel referto in modo da poterlo avere disponibile in caso di isolamento ripetuto dello stesso germe da altri set di emocoltura
- ☐ Conservare per alcuni giorni i ceppi per eventuali approfondimenti in caso di successivi isolamenti dello stesso germe

Kirn TD, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. CMI 2013;19:513-20.

Weinstein MP, Van Doern G. A Critical Appraisal of the Role of the Clinical Microbiology Laboratory in the Diagnosis of Bloodstream Infections. Journal of Clinical Microbiology 2011; 49:S26-S29.

NOTA al referto:

Probabile contaminante: antibiogramma non eseguito, disponibile su richiesta.

Valutare periodicamente i tassi di contaminazione

Diffondere annualmente, insieme ai dati sui patogeni, i tassi di contaminazione, suddivisi per reparto di provenienza

Il valore proposto come indicatore *Standard* è $\leq 3\%$ dei set, da emocoltura periferica, contaminati sul totale degli eseguiti

Indicatore	Valore target	Frequenza
Richiesta di emocolture		
Tasso di EMO vere positive	5-15%	mensile
numero di EMO ordinate/1.000 giornate di degenza	103-188	annuale
Prelievo delle emocolture		
Tasso di contaminazione delle EMO prelevate da vena periferica		mensile con report di feed-back ai reparti sopra gli standard
Tasso di EMO singole (adulti)	<2-3%	mensile o più lungo se non ci sono problemi
% di EMO prelevate solo da CVC e non accompagnate da EMO da VP	<5%	
% di EMO riempite con >2 ml di sangue sopra o sotto la quantità indicata		annuale, per un tempo limitato
troppe EMO richieste		sempre



6 Postexamination Activities

6.2 Results Reporting

Before they are reported, blood culture results must be verified as accurate. After verification, the results must be communicated to HCPs, according to well-documented, verified protocols. The laboratory reports should be legible and well-organized, so that results are clearly readable and easily understandable by the HCPs reviewing the report. Clear, standardized terminology should be used. Abbreviations should be avoided.

Whether positive or negative, blood culture results are critical to patient care. Therefore, blood culture results reporting should be effective and consistent throughout the culture process. The report should enable the HCP to quickly and accurately identify the status of an ordered blood culture, as well as any test results. Although different types of laboratories and health care systems have many reporting mechanisms, Subchapters 6.2.1 to 6.2.6 provide generic recommendations that are broadly applicable.

6.2.1 Specimen Status Reports

It is essential that HCPs be able to determine the status of a specimen quickly and efficiently. Specific information should be readily accessible to answer these questions:

- Has a test been ordered, and if so, which test?
- Has the specimen been collected?
- Has the specimen been received by the laboratory?
- Is the requested testing in progress?

As soon as a blood culture is ordered, a record should be created in the LIS. When the specimen status has changed, the relevant data should be entered into the record as soon as possible. Initial specimen status and updates should be promptly transmitted from the LIS to the HCP-facing EMR.

6.2.2 Culture Data Reports

Each record should include a result, as described in Subchapter 6.2.3. Culture data and other pertinent information should be verified as quickly as possible. Critical-risk results of Gram stain and resistance marker testing must be recorded and communicated as soon as possible (but no more than 60 minutes later). Noncritical culture information should also be entered into the culture record as soon as possible. All information about a culture should be recorded in a manner that is easily understandable.

**Risultati
Rapidi e accurati
di tutti i test**

Stato del campione

**Pz critico: risultati
del Gram e dei
MKS di resistenza
Registrati e
comunicati entro
60 min.**

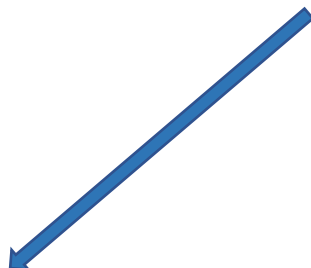


6.2.3 Preliminary Written Results

Examples of test results that should be provided in specimen status reports include:

- Testing in progress, no results to date
- No growth at 24 hours
- No growth at 48 hours
- Positive blood culture
- Gram stain results
- Results of preliminary testing, including nonculture-based molecular tests, as appropriate

!



Emoculture				
Emocoltura per Anaerobi su Sangue Cat. Arterioso	Esito coltura :	Positiva		
	Tempo di crescita	7.2		
	Esame microscopico diretto (colorazione di Gram) :	Presenza di Bacilli Gram negativi.		
	In corso :	Antibiogramma diretto		
	Marker di resistenza	Ceppo produttore di beta-lattamasi a spettro esteso(ESBL)		
	Identificazione preliminare maldi:	Escherichia coli		

6.2.4 Final Written Results

The final blood culture results report should include one of these descriptions:

- Test canceled
- No growth
- Positive blood culture

If an order for a blood culture is canceled, the final report should indicate the reason, according to facility policy. If a specimen is received for blood culture, but the test is canceled by the laboratory because the specimen failed to meet acceptance criteria, the final report should include the first and last name of the HCP who was notified of the cancellation. If no growth is detected in a blood culture, the final report should indicate the total incubation time.

For positive blood cultures, the final report should include the Gram stain results, ID, and AST results (if performed). In addition, when multiple specimens of the same type were received, results should be reported for the specimen that was actually tested. The test results should be cross-linked with other positive cultures in the same series. If a positive culture is cross-linked with another culture, the specific culture referred to should be identified. Critical-risk results reporting (as described in Subchapter 6.2.5) should be documented in the final report. The final report should also include significant changes to any preliminary values (eg, change in susceptibility pattern, change in ID, growth of a new organism).

Regardless of culture results, the final report should include any additional information that may affect the interpretation of the final test results. Examples include inadequate blood volume, prolonged transport time, and other factors described in Chapter 3.

6.2.5 Critical-Risk Results Reporting

A blood culture result that will affect patient care (eg, initial Gram stain results) should be reported to the patient's HCP as soon as possible, according to laboratory policy. The laboratory should collaborate with the facility's HCPs to ensure that these policies comply with applicable regulatory and accreditation requirements and the standard of care.²⁰²⁻²⁰⁴ Laboratory policies should be regularly reviewed and updated to include new HCPs and changes to laboratory procedures. Laboratorians should be familiar with such policies and be able to access them for reference.

VII CONGRESSO NEWMICRO

LA MICROBIOLOGIA CHE VERRÀ: DALL'ERA COVID AL POST COVID



Fondazione I.R.C.C.S Policlinico San Matteo - Pavia

S.C. MICROBIOLOGIA e VIROLOGIA

Laboratorio di Batteriologia e Micologia

Direttore : Prof. F. Baldanti

Tel. : 0382 - 502702



Richiesta: **74063255** Data prelievo: **17-09-2022** Data di accettazione: **17-09-2022**
Reparto di provenienza: **Chirurgia Generale 2 Degenti C**
Nosologico: **42034510** Medico richiedente:
Cognome e nome: **[REDACTED]** Sesso: **M**
Nato a: **RACALM** C.F.: **PNIRFL43D26H148M**
Data di stampa: **22-09-2022** **Referto Stampato Chiuso**

# Campione	Analisi / Indagine	Risultato	Unità di misura
Materiale	Metodica		(Valori di riferimento)

10031241 Emocultura per Aerobi

Data e ora raccolta: **17-09-2022 11:10** Progressivo flacone:

Sangue Vena Periferica

Tempo di crescita (hh.mm) 18,54 Iterazione n: Isolamento di: Carica batterica:

- 1 - **Enterobacter cloacae**

Il trattamento con Cefotaxime, Ceftriaxone e Ceftazidime in monoterapia può risultare inefficace e selezionare mutanti resistenti.

Nelle infezioni sistemiche gli aminoglicosidi devono essere utilizzati in combinazione con altri farmaci antiinfettivi.

ANTIBIOGRAMMA	- 1 -		BreakPoint	BreakPoint	BreakPoint
	RSI	MIC	sens		
Amikacina	S	<=4	<=8		
Amoxicillina clavulanato	R	>32/2	<=8		
Ampicillina	R	>8	<=8		
Cefepime	S	<=1	<=1		
Cefotaxime	S	<=1	<=1		
Ceftazidime	S	<=0,5	<=1		
Ciprofloxacina	S	<=0,25	<=0,25		
Ertapenem	S	<=0,25	<=0,5		
Fosfomicina	R	64	<=32		
Gentamicina	S	<=1	<=2		
Imipenem	S	0,5	<=2		
Levofloxacina	S	<=0,5	<=0,5		
Meropenem	S	<=0,125	<=2		
Piperacillina	S	<=4	<=8		
Piperacillina/Tazobactam	S	<=4/4	<=8		
Tobramicina	S	<=1	<=2		
Trimethoprim/Sulfametossazolo	S	<=1/19	<=2		

S=Sensibile a dosaggio standard, I=Sensibile ad aumentata esposizione al farmaco, R=Resistente, MIC=Concentrazione Minima Inibente
L'interpretazione viene effettuata secondo i criteri EUCAST 2021

10031242 Emocultura per Anaerobi



Fondazione I.R.C.C.S Policlinico San Matteo - Pavia

S.C. MICROBIOLOGIA e VIROLOGIA

Laboratorio di Batteriologia e Micologia

Direttore : Prof. F. Baldanti

Tel. : 0382 - 502702



Richiesta: **74061021** Data prelievo: **09-09-2022** Data di accettazione: **09-09-2022**
Reparto di provenienza: **Ematologia Degenti**
Nosologico: **42036269** Medico richiedente:
Cognome e nome: **[REDACTED]** Sesso: **M**
Nato a: **SIRACUSA** C.F.: **RNSVSV56A08I754W**
Data di stampa: **13-09-2022** **Referto Stampato Chiuso**

# Campione	Analisi / Indagine	Risultato	Unità di misura
Materiale	Metodica		(Valori di riferimento)

10030128 Emocultura per Aerobi

Data e ora raccolta: **09-09-2022 00:40** Progressivo flacone: **1a**

Sangue Cat. Venoso Centrale

Tempo di crescita (hh.mm) 9,12 Iterazione n: Isolamento di: Carica batterica:

- 1 - **Klebsiella pneumoniae**

Nelle infezioni sistemiche gli aminoglicosidi devono essere utilizzati in combinazione con altri farmaci antiinfettivi.

ANTIBIOGRAMMA	- 1 -		BreakPoint	BreakPoint	BreakPoint
	RSI	MIC	sens		
Amikacina	S	<=4	<=8		
Amoxicillina clavulanato	R				
Ampicillina	R	>8	<=8		
Cefepime	S	<=1	<=1		
Cefotaxime	S	<=1	<=1		
Ceftazidime	S	<=0,5	<=1		
Cefuroxime	I	4	<=8		
Ciprofloxacina	S	<=0,25	<=0,25		
Ertapenem	S	<=0,25	<=0,5		
Fosfomicina	S	<=16	<=32		
Gentamicina	S	<=1	<=2		
Imipenem	S	<=0,25	<=2		
Levofloxacina	S	<=0,5	<=0,5		
Meropenem	S	<=0,125	<=2		
Piperacillina	R	>16	<=8		
Piperacillina/Tazobactam	S	<=4/4	<=8		
Tobramicina	S	<=1	<=2		
Trimethoprim/Sulfametossazolo	R	>4/76	<=2		

S=Sensibile a dosaggio standard, I=Sensibile ad aumentata esposizione al farmaco, R=Resistente, MIC=Concentrazione Minima Inibente
L'interpretazione viene effettuata secondo i criteri EUCAST 2021

VII CONGRESSO NEWMICRO

LA MICROBIOLOGIA CHE VERRÀ: DALL'ERA COVID AL POST COVID

Tel. : 0382 - 502702

Richiesta: **74065274**

Data prelievo: **25-09-2022**

Data di accettazione: **25-09-2022**

Reparto di provenienza: **Ematologia Degenti**

Data di stampa: **27-09-2022**

Referto Stampato Chiuso

# Campione	Analisi / Indagine	Risultato	Unità di misura
Materiale	Metodica		(Valori di riferimento)
10032267	Screening Molecolare MRSA		
Sangue Vena Periferica	Real Time PCR		
	Esito S. aureus mecA	Non rilevato	Esito S. aureus Rilevato

Staphylococcus aureus Meticillino-sensibile

10032203 Emocultura per Aerobi

Data e ora raccolta: **25-09-2022** **06:12** Progressivo flacone:

Sangue Vena Periferica

Tempo di crescita (hh:mm) **10,11**

Iterazione n :

- 1 - **Staphylococcus aureus**

Carica batterica :

Fenotipo MLSb Inducibile di *Staphylococcus*

ANTIBIOGRAMMA	RSI	MIC	BreakPoint sens	BreakPoint sens	BreakPoint sens
Acido Fusidico	S	<=0,5	<=1		
Ampicillina	R				
Ceftarolina	S	0,25	<=1		
Ciprofloxacina	I	<=0,5	<=0,001		
Clindamicina	R	<=0,25	<=0,5		
Daptomicina	S	<=0,5	<=1		
Entromicina	R	>2	<=1		
Fosfomicina	S	<=16	<=32		
Gentamicina	S	<=1	<=1		
Linezolid	S	2	<=4		
Moxifloxacina	S	<=0,25	<=0,25		
Mupirocina	S	<=256	<=256		
Oxacillina	S	<=0,25			
Penicillina G	R	0,25			
Rifampicina		<=0,25	<=0,06		
Telcoplanina	S	<=0,5	<=2		
Tetraciclina	S	<=0,5	<=1		
Tigeciclina	S	<=0,25	<=0,5		
Trimethoprim/Sulfametossazolo	S	<=1/19	<=2		
Vancomicina	S	1	<=2		

S=Sensibile a dosaggio standard, I=Sensibile ad aumentata esposizione al farmaco, R=Resistente, MIC=Concentrazione Minima Inibente
L'interpretazione viene effettuata secondo i criteri EUCAST 2021

2019: organizzazione H 12 (reperibilità notturna), esistenza delle sole **emocolture 100**

2020

- **I semestre:** periodo di transizione tra H 12 e H 24, **introduzione delle emocolture 140**, loro processazione anche durante la fascia notturna, inizio della formazione per la processazione delle emocolture da parte di tutto il personale.
- **II semestre:** processazione durante l'orario 20-8 anche delle emocolture 100

2021: organizzazione H 24, termine della formazione del personale sia dirigente sia tecnico, processazione da parte di tutto il personale delle emocolture sia 140 sia 100, inserimento tempestivo e validazione del vetrino eseguito con colorazione Gram nel LIS del laboratorio. Ulteriori corsi di aggiornamento (dicembre 2021).

2022: organizzazione H24, 7/7

LA MICROBIOLOGIA CHE VERRÀ: DALL'ERA COVID AL POST COVID



PROGETTO SHOCK SETTICO EMO 140

Il percorso inizia nei reparti ad alta intensità di cura dove per i pazienti in shock settico il personale clinico può attivare, tramite il sistema di Order Entry aziendale, la richiesta del test **Emocoltura Urgente**, identificato nel LIS con una codifica dedicata.

Emocoltura aerobia urgente 140...

Emocoltura anaerobia urgente 140...

Emocoltura pediatrica urgente 140...



- U.O.C. Pronto Soccorso Accettazione Dea
- U.O.C. Pediatria – Pronto Soccorso
- U.O.C. Ostetricia e Ginecologia – Pronto Soccorso
- U.O.C. Anestesia e Rianimazione I e II
- U.O.C. Malattie infettive

- pratica n. 41030681

Selezione dat: 26/09/2022 al: 27/09/2022 ☒ Pregresso Ricerca

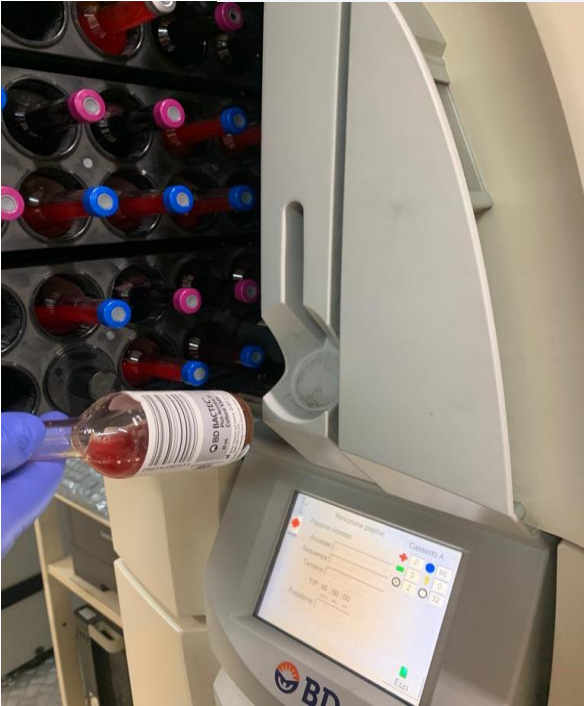
Data richiesta	Servizio erogatore	Codice	Prestazione
26/09/2022 09:26	VIROLOGIA LAB. BATTERIOLOGIA	4SCA	EMOCOLTURA URG. DA CAT. ARTERIOSO (AEROBIA)
		5SCA	EMOCOLTURA URG. DA CAT. ARTERIOSO (ANAEROBIA)

Richiesta: 40200713380676 Codice: Prestazione: Ricerca

Cognome	Nome
PROVA	PROVATA
PRODISS	TRECENTO
PINCO	PINKI
CITTASSI	OTTANTAN
PROVA	PROVA
CITTASSI	CINTOSEI
CITTASSI	CENTOOTT

VII CONGRESSO NEWMICRO
LA MICROBIOLOGIA CHE VERRÀ:
DALL'ERA COVID AL POST COVID

Servizio	Paziente	Nato il	Richiesta	Data accettazione	Data ritiro	Urgenza	Stato
Laboratorio Di Microbiologia	PRODISS TRECENTOTRENTASEI	04/02/2001	74065495	26/09/2022 09:31:58	04/10/2022	Normale	 In lavorazione



I flaconi delle **Emocolture Urgenti**, identificati da un codice campione LIS dedicato, arrivano in Laboratorio dove, tramite la lettura dei codici barcode del flacone e del LIS, la strumentazione associa univocamente le informazioni del paziente al test e trasmette l'evento di check-in al LIS.

Il personale del reparto richiedente, attraverso un componente specifico del LIS, è quindi in grado di monitorare in tempo reale lo stato di lavorazione del test.

Avanzamento Richieste - dettaglio Prenotazioni - Windows Internet Explor...

Dettaglio Prenotazioni

Richiesta (74065495)

Laboratorio di microbiologia **MIC**

Trovati: 2

Codice	Descrizione	Stato	Urgenza	Disponibile
M011FU.SCA/1	Emocoltura per Aerobi (Urgente) su Sangue Cat. Arterioso	Accettata	Normale	04/10/2022
M012CU.SCA/1	Emocoltura per Anaerobi (Urgente) su Sangue Cat. Arterioso	Accettata	Normale	04/10/2022



Dopo che il flacone viene inserito all'interno dello strumento, inizia la lettura in continuo, ogni 10min grazie ad un sofisticato meccanismo su base ottica che sfrutta la produzione di CO2 del metabolismo batterico.

VII CONGRESSO NEWMICRO

LA MICROBIOLOGIA CHE VERRÀ: DALL'ERA COVID AL POST COVID



La segnalazione dei flaconi positivi è immediata ed avviene tramite segnali acustici e ottici; inoltre il risultato positivo viene trasmesso in automatico ed inserito nel LIS in tempo reale.

Un modulo software dedicato del LIS interroga ogni 30 minuti la base dati dei risultati, «intercetta» i nuovi positivi ed invia in automatico una e-mail di alert ad una casella postale aziendale appositamente configurata.

 Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo SC Microbiologia e Virologia Direttore Prof. Fausto Baldanti	A/to: Allarmi Emocolture Urgenti c.a. S.C. Microbiologia e Virologia Oggetto: Progetto Alert Emocolture Positive segnalazione n: 556717 in data: 26-09-2022 10:06:48 occorrenze n: 1
Paziente	
Paziente: PROD8155 TRECENTOTRENTASEI data di nascita: 04-02-2001 sesso: M età: 21 nr. nosologico: 41030681 data ricovero: 19-08-2021 16:09	
Richiesta	
Id. richiesta: 74065495 data accettazione: 26-09-2022 data e ora prelievo: 26-09-2022 09:26 reparto: 78000 Reparto di Prova	
Campione	
nr. campione: 14002565 materiale: Sangue Cat. Arterioso data referenziazione: 26-09-2022 10:02 indagine: Emocoltura per Anaerobi (Urgente)	
Risultati	
codificato nota numerico: 7.2 antibiogramma microorganismo suscettibilità antibiotici (antibiogramma)	
Note	
nr. segnalazioni già effettuate nr. segnalazione precedente	

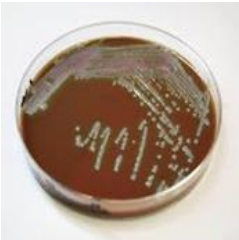
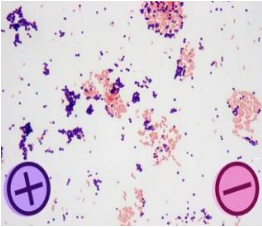
Inviato il 26-09-2022 alle 10:06:04
----- questo messaggio è stato generato dal sistema VirtuousPlus di Dedolab spa -----
pag 1 di 1



Un software realizzato dai Sistemi Informativi Aziendali ed agganciato alla centrale telefonica «interpreta» la mail di alert inviata dal LIS e attiva una telefonata con un messaggio preregistrato verso il numero di cellulare del reperibile del Laboratorio.

VII CONGRESSO NEWMICRO

LA MICROBIOLOGIA CHE VERRÀ: DALL'ERA COVID AL POST COVID



Ricevuta la telefonata, il personale del Laboratorio rimuove il flacone positivo dallo strumento ed allestisce vetrino, colorato mediante colorazione di Gram, e sub-coltura su terreni dedicati.

Il personale dirigente valuta al microscopio la presenza di batteri, lieviti definendo come procedere utilizzando gli algoritmi in uso presso il Laboratorio



3. Indagini		4. Protocolli		5. Esiti		6. Antibiot.	
ID Richiesta	Data	Reparto	ID Campione	Indagine	Stato	Materiale	Protocollo
74065495	26-09	78000	14002565	M012CU	Prel da Val	SCA	EMQANA
Paziente: PRODSISS TRECENTOTRENTASEI				Sesso: M	data di nascita: 04-02-2001	età: 21	

Bactec Anaerobi (Strumentale+Microscopico)	Risultati	(FS descrizione)
Esito esame colturale	7.20	BACN
Tempo di crescita		
Esame microscopico diretto (colorazione di Gram)		
Preliminare coagulasi	C	
Preliminare ATB diretto	C	
Preliminare positivi	C	
Real Time PCR		
Marker di resistenza		
Identificazione preliminare maldi		
Note:		
Tempo di crescita (Emo Ana)	C	
Invio Mail Batteriemie		

ESITO AVANTI

Prosegue con... (w) PHX PRELIMX

EXIT

Inserimento Automatico



L'esito dell' esame microscopico viene inserito nel Lis di Laboratorio che riceve dallo strumento Fx, oltre al dato di positività del flacone, anche quello del TDR, validato e reso immediatamente consultabile dal reparto richiedente.

LA MICROBIOLOGIA CHE VERRÀ: DALL'ERA COVID AL POST COVID



3. Indagini		4. Protocolli		5. Esiti		6. Antibio				
ID Richiesta	Data	Reparto	ID Campione	Indagine	Stato	Materiale	Protocollo	Iter	Stato	Data / Ora
74065495	26-09	78000	14002565	M012CU	Prel. da Val.	SCA	EMOANA	0	Ref. prelim.	26-09 09:31:58
Paziente: PRODSISS TRECENTOTRENTASEI					sesso: M	data di nascita: 04-02-2001		età: 21		
Bactec Anaerobi (Strumentale+Microscopico)					Risultati (F5 descrizioni)					
Esito esame colturale					PA					
Tempo di crescita					7.20					
Esame microscopico diretto (colorazione di Gram)					BACN					
Preliminare coagulasi					ATBDIR					
Preliminare ATB diretto					ESBL_POS					
Preliminare positivi					0072					
Real Time PCR					7.20					
Marker di resistenza					SI					
Identificazione preliminare maldi										
Note:										
Tempo di crescita (Emo Ana)										
Invio Mail Batteriemie										

I risultati ottenuti vengono inseriti nel Lis di Laboratorio e resi immediatamente consultabili dal reparto richiedente.

In base all'esame microscopico, alla storia clinica del pz ed all'epidemiologia locale vengono allestiti:

- Spettrometria di massa per identificazione rapida di genere e specie
- Test cromatografici/RT PCR per evidenziare eventuali markers di resistenza associati
- Antibiotogramma diretto da flacone positivo o da patina

Servizio: Laboratorio Di Microbiologia (MIC)

Dati del paziente		Dati della richiesta	
Paziente	PRODSISS TRECENTOTRENTASEI	Id.Richiesta	74065495 - (40200713380676)
Data di nascita	04/02/2001	Data accettazione	26/09/2022 09:31:58
Sesso	M	Reparto Richiedente	78000 - Reparto di Prova
Tessera sanitaria	999FL203	Medico Richiedente	
Codice Fiscale	PRDTCN01B04H501R	Stato richiesta	 Aperta

Informazioni aggiuntive

1 record estratto

Lista Analisi

EMAEU/481 EMANU/481

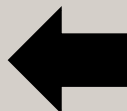
Risultati						
6records estratti						
Analisi	T.Prel	Esito	Risultato	Normalit	Flag	Un.misura
Emocolture						
Emocoltura per Anaerobi su Sangue Cat. Arterioso		Esito coltura :	Positiva			
		Tempo di crescita	7.2			
		Esame microscopico diretto (colorazione di Gram) :	Presenza di Bacilli Gram negativi.			
		In corso :	Antibiogramma diretto			
		Marker di resistenza	Ceppo produttore di beta-lattamasi a spettro esteso(ESBL)			
		Identificazione preliminare maldi:	Escherichia coli			

LA MICROBIOLOGIA CHE VERRÀ: DALL'ERA COVID AL POST COVID

ID Richiesta	Data	Reparto	ID Campione	Indagine	Stato	Materiale	Protocollo	Iter	Stato	Data / Ora
74065495	26-09	78000	14002565	M012CU	Pref. da Val.	SCA	EMQANA	0	Pref. prelim.	26-09 09:31:58

Paziente: PRODSISS TRECENTOTRENTASEI sesso: M data di nascita: 04-02-2001 età: 21

Bactec Anaerobi (Strumentale+Microscopico)	Risultati	(F5 descrizioni)
Esito esame colturale	7.20	PA
Tempo di crescita		BACN
Esame microscopico diretto (colorazione di Gram)		ATBDIR
Preliminare coagulasi		
Preliminare ATB diretto		
Preliminare positivi		
Real Time PCR		
Marker di resistenza		ESBL_POS
Identificazione preliminare maldi		0072
Note:		
Tempo di crescita (Emo Ana)	7.20	
Invio Mail Batteriemie		SI



Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo SC Microbiologia e Virologia Direttore Prof. Fausto Baldanti		A/To: Microbiologia - Laboratorio Batteriologia c.a. Dott. Marone Oggetto: Progetto Batteriemie - Tutti i reparti - Destinatari Referenti CIO segnalazione n: 556749 in data: 26-09-2022 11:32:23 occorrenze n: 1	
Paziente			
Paziente: PRODSISS TRECENTOTRENTASEI data di nascita: 04-02-2001 sesso: M età: 21 nr. nosologico: 41030581 data ricovero: 19-08-2021 16:09			
Richiesta			
Id. richiesta: 74065495 data accettazione: 26-09-2022 data e ora prelievo: 26-09-2022 09:26 reparto: 78000 Reparto di Prova			
Campione			
nr. campione: materiale: data referatazione: indagine:			
Risultati			
azione: codificato: nota: numerico: antibiogramma: microorganismo: suscettibilità: antibiotici: (antibiogramma):			
Note			
nr. segnalazioni già effettuate: nr. segnalazione precedente:			

Invitato il 26-09-2022 alle 11:32:28 ----- questo messaggio è stato generato dal sistema VirtuousPlus di Dedalus spa ----- pag 1 di 1

Nell'ambito del progetto **di stewardship antibiotica** il dirigente può indicare in sede di refertazione se i risultati inseriti debbano essere trasmessi ai consulenti infettivologi identificati dal CIO per ciascun reparto.

Il LIS è configurato per poter recepire la scelta fatta in sede di refertazione e generare automaticamente una e-mail tramite il sistema di alerting descritto in precedenza.

Inserimento risultato
preliminare

Richieste: 3. Indagini 4. Protocolli 5. **Esiti** 6. Antibiogr.

78622 Paziente: [redacted] sesso: M data di nascita: 19-10-1945

Bactec Aerob (strumentale e microscopico)	Risultati	(F5 descrizioni)
Esito esame colturale		PA
Tempo di crescita	11.431	
Esame microscopico diretto (colorazione di Gram)		
Preliminare coagulasi	C	
Preliminare ATB diretto	C	
Preliminare positivi	C	
Real Time PCR		
Marker di resistenza		
Identificazione preliminare maldi		
Note:		
Tempo di crescita (Emo Aer)	C	11.431
Invio Mail Batteriemie		

ESITO VALUTA

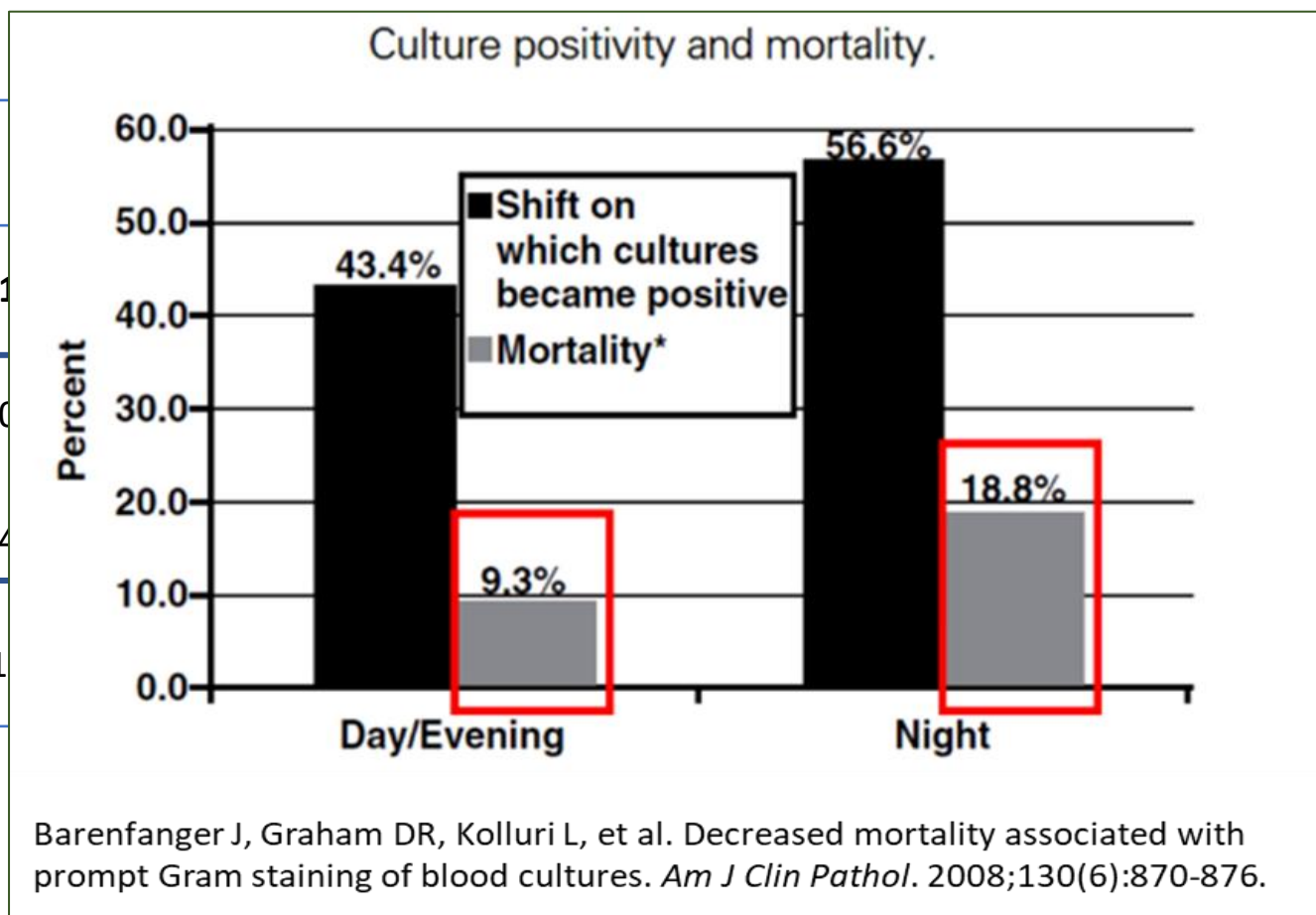
Prosegue con... (w)

Navigation: [Back] [Forward] [Home] [Exit]

Icons: [Microscope] [Checkmark] [X] [EXIT]

Ora di positivizzazione

	201
POS 8-20	200
POS 20-6	204
POS 6-8	41



2021	2022
288	90
240	96
50	21

7 Recovery of Rare and Fastidious Pathogens

Rare and fastidious microorganisms are not frequently recovered from blood. However, when encountered, they may represent severe infection. The recovery of a member of the HACEK group from blood is a major criterion for diagnosis of infective endocarditis.²¹⁴ Although recovery of these organisms used to require special procedures,^{143,215} current automated technology enables fastidious isolates (eg, HACEK group) to be reliably detected within the same time frame as routine blood cultures.^{216,217} Most blood cultures yielding nonfastidious pathogens become signal positive in the first 24 to 36 hours of incubation. In contrast, fastidious organisms may require up to five days of incubation before the blood culture becomes signal positive. Organisms such as *Legionella*, *Bartonella*, and *Mycoplasma* are optimally identified through immunodiagnostic or molecular techniques. The same is true of organisms such as *Coxiella*, *Chlamydia*, *Rickettsia*, and *Tropheryma*, which are uniformly uncultivable with usual bacterial culture systems.^{218,219} Except for *Bartonella* spp., most rare or fastidious bacteria can still be cultivated by traditional bacterial culture systems and recovered through the blood culture protocols used by most medical laboratories.

Although numerous studies on blood culture methods for recovery and ID of rare and fastidious pathogens have been published,²²⁰ the standard five-day incubation period recommended for CMBCS enables detection of most bacteria, even *Abiotrophia* and *Granulicatella* spp. and some strains of *Francisella* spp. Moreover, methods such as MALDI-TOF MS enable more rapid ID than did traditional phenotypic testing. However, the spectrum of pathogens identifiable through current molecular methods (especially DBTs) is limited.

Highly fastidious bacteria grown in blood cultures may produce a positive signal yet not be observed on Gram stain. Gram staining a positive blood culture may not reveal the bacteria for numerous reasons. Most commonly, atypically shaped or unusually small bacteria may not be visible on Gram stain. For example, *Abiotrophia* spp. may produce bizarre shapes or sizes, while *Francisella* spp. may be so small and indistinct that the organisms blend in with background on the slide. Some bacteria (eg, *Mycoplasma* spp.) may be difficult to visualize on Gram stain. In these cases, an acridine orange stain may reveal the bacteria.²¹⁹ For example, to visualize *Campylobacter*, *Helicobacter*, or *Brucella*, the laboratorian may need to perform either an acridine orange stain or Gram stain, using carbol fuchsin as the counterstain.



GRUPPO HACEK

The HACEK group includes *Haemophilus* spp. (except *Haemophilus influenzae*), *Aggregatibacter* spp., *Cardiobacterium* spp., *E. corrodens*, and *Kingella* spp. Fastidious gram-negative rods, these bacteria are components of the upper airway microbiome. Although specific clinical syndromes are associated with each organism (eg, osteomyelitis and septic arthritis in children for *Kingella* spp.), all HACEK organisms have been associated with bacteremia and endocarditis.

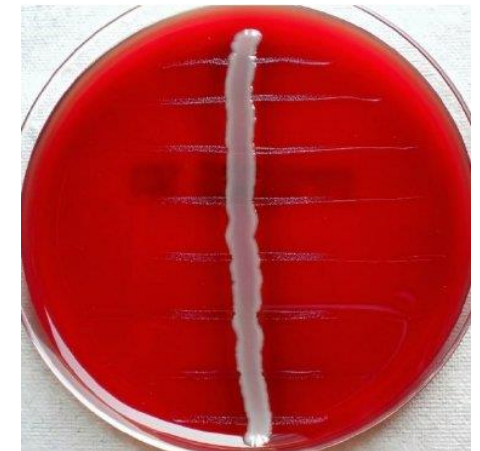
A comprehensive survey of over 50 000 blood cultures from four facilities showed that recovery of HACEK organisms was rare. Extended incubation did not increase recovery of HACEK organisms.²¹⁷ The median and mean time to recovery was three days. To successfully recover these organisms, subcultures from positive blood cultures, use of supplemented media, and/or incubation in 5% to 10% CO₂ may be needed. Colonies may not become visible until 48 hours after subculture.²⁴¹ When blood cultures are negative, explanted valvular tissue may be cultured to identify HACEK endocarditis.^{223,242}

Special Considerations

Abiotrophia and *Granulicatella*

Members of *Abiotrophia* and *Granulicatella* can cause clinically significant bacteremia and endocarditis, as well as other invasive infections. Recent studies suggest that 1% to 5% of endocarditis cases can be attributed to *Abiotrophia defectiva* or to *Granulicatella* spp.^{221,222} Despite their fastidious nature, members of both genera can be reliably detected with CMBCS. Either media used with CMBCS already contain vitamin B6 and cysteine, or the human blood added to the culture medium provides them. The standard incubation time for other organisms is sufficient for growth. Extended incubation is not necessary.

Growth of *A. defectiva* or *Granulicatella* will not be observed when blood specimens are inoculated onto blood agar-based medium. Supplemented media, such as chocolate agar or some anaerobic agars, are needed to recover these organisms. Alternatively, suspected *A. defectiva* or *Granulicatella* may be cocultivated with staphylococci and the culture assessed for satellite colony formation.^{223,224}



Bartonella

Bartonella spp. can be recovered from blood cultures. However, the yield is low. In most cases, special handling is necessary. Persistent and recurring, *Bartonella* bacteremia elicits strong antibody responses, making serology diagnostically useful.²²⁵ Nucleic acid amplification tests have been developed to detect *Bartonella* spp. directly from clinical specimens (eg, for endocarditis cases).²²⁶ The optimal blood culture method is lysis centrifugation combined with plating on freshly prepared, enriched blood or chocolate medium.²²⁷ Plates should be incubated at 35°C for 14 to 21 days in a humid atmosphere that contains elevated CO₂. Alternatively, a lytic broth system may be used. In this method, blood culture bottles are incubated for seven days, then subcultured to solid medium.



Foucault C, Barrau K, Brouqui P, Raoult D. *Bartonella quintana* bacteremia among homeless people. *Clin Infect Dis*. 2002;35(6):684-689.

Slater LN, Welch DF, Hensel D, Coody DW. A newly recognized fastidious gram-negative pathogen as a cause of fever and bacteremia. *N Engl J Med*. 1990;323(23):1587-1593.

T2 Candida panel

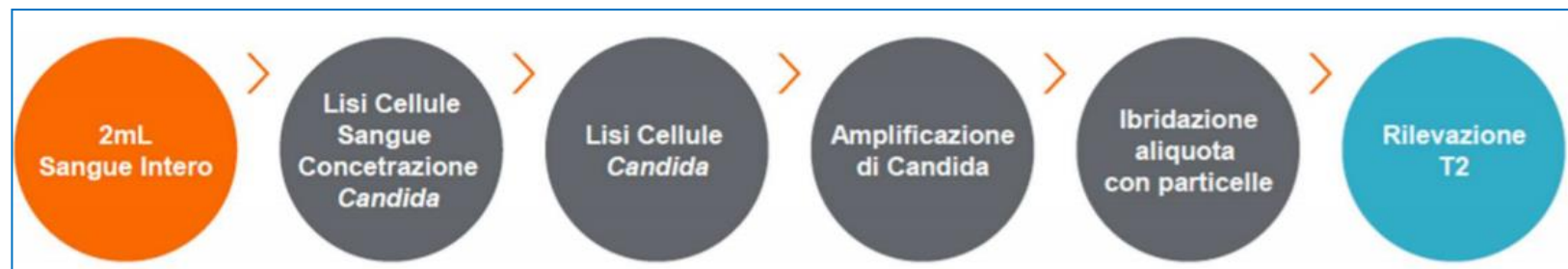


T2 bacteria panel
4-5 hours- from blood

E. coli
K. pneumoniae
P. aeruginosa
A. baumannii
B. S. aureus
C. E. faecium

Associa la RM alle metodiche molecolari.
Amplifica il DNA e detecta i prodotti amplificati grazie
all'agglomerati di particelle super para magnetiche che
vengono riconosciute da una risonanza magnetica.
NON è necessaria purificazione e estrazione.

C. albicans
C. tropicalis
C. krusei
C. glabrata
C. parapsilosis



Sensibilità: 89.5%
Specificità: 98.4%

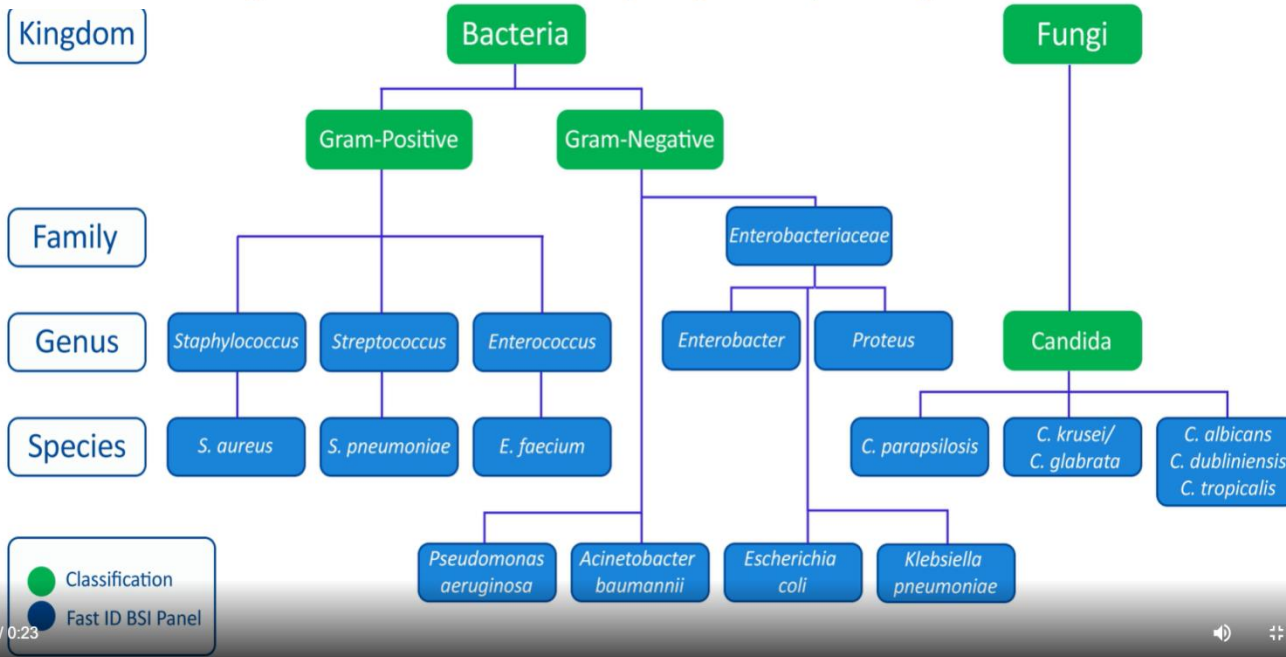
Costi molto elevati: 10/20 volte





FAST™ ID BSI Panel*

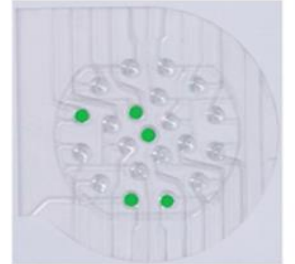
signed to detect over 80 individual pathogens at a species or genus level



Result for Sample: 6775647

Wed Jan 31 2018 12:56 PM

Bacteria	Result	Controls	Result
Gram-Negative		Control 1	Pass
Enterobacteriaceae family	Negative	Control 2	Pass
Enterobacter species	Negative	Control 3	Pass
Proteus species	Negative	Control 4	Pass
Escherichia coli	Negative		
Klebsiella pneumoniae	Negative		
Pseudomonas aeruginosa	Positive		
Acinetobacter baumannii	Negative		
Gram-Positive			
Staphylococcus species	Negative		
S. aureus	Negative		
Streptococcus species	Negative		
S. pneumoniae	Negative		
Enterococcus species	Negative		
E. faecium	Negative		
Candida			
C. albicans / C. dubliniensis / C. tropicalis	Negative		
C. krusei / C. glabrata	Negative		
C. parapsilosis	Negative		



BACK

Check for updates

Rapid bacterial detection and antibiotic susceptibility testing in whole blood using one-step, high throughput blood digital PCR†

Timothy J. Abram,^a Hemanth Cherukury,^{bc} Chen-Yin Ou,^a Tam Vu,^{bd} Michael Toledano,^b Yiyang Li,^{be} Jonathan T. Grunwald,^a Melody N. Toosky,^a Delia F. Tifrea,^f Anatoly Slepchenkin,^f Jonathan Chong,^b Lingshun Kong,^b Domenica Vanessa Del Pozo,^b Kieu Thai La,^b Louai Labanieh,^b Jan Zimak,^b Byron Shen,^a Susan S. Huang,^g Enrico Gratton,^{dh} Ellena M. Peterson,^f and Weian Zhao^{id} ^{*bcdijk}

COMPREHENSIVE PATHOGEN DETECTION AND IDENTIFICATION DIRECTLY FROM WHOLE BLOOD IN MINUTES

Qvella's transformational technology in the FAST-ID™ BSI Panel is designed to isolate, concentrate and detect intact pathogens directly from a whole blood sample, providing identification of a broad spectrum of pathogens by family, genus or species.

- rRNA target detection is designed for optimal sensitivity and specificity
- The 16-well array is designed to detect over 90% of sepsis causing bacteria and candida pathogens
- 10 of the 16 results identify species with challenging resistance profiles

Rapid diagnostic platform that integrates a novel one-step blood droplet digital PCR assay and a high throughput 3D particle counter system with potential to perform bacterial identification and antibiotic susceptibility profiling directly from whole blood specimens, without requiring culture and sample processing steps.

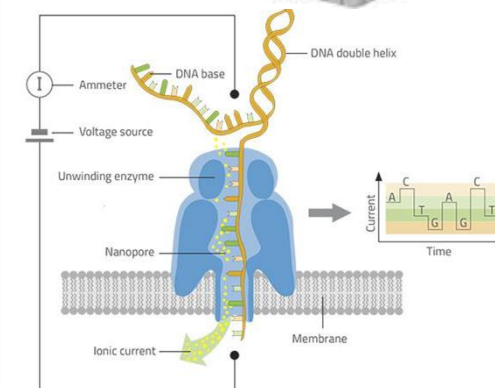
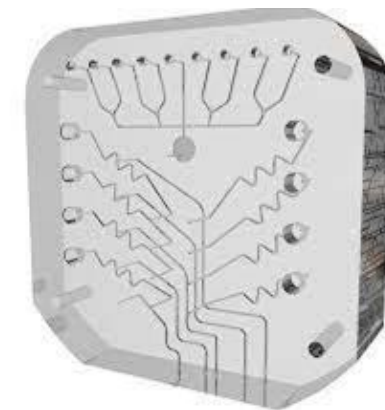
Sequenziamento genomico culture-free

La UOC Microbiologia e Virologia con il reparto di Malattie Infettive ha attivato un progetto di ricerca corrente sul sequenziamento del DNA TOTALE da campione clinico purificato

Tecnologia di sequenziamento di terza generazione che permette di sequenziare singole molecole di acidi nucleici di grande dimensione. Non utilizza DNA-polimerasi si basa sulla variazione di carica elettrica data dal passaggio dei nucleotidi in un nanoporo

Le sfide da affrontare:

- **purificazione del campione batterico da substrato e cellule umane** -> centrifugazione, uso di saponine + approccio bioinformatico durante il sequenziamento
- **basso numero di cellule / basso contenuto di DNA** -> utilizzo di sistemi di microfluidica ed eventuale amplificazione del DNA totale
- **ottenimento di una risposta rapida e precisa** -> con OXFORD NANOPORE la preparazione del campione dura pochi minuti ed è possibile accedere alle lunghe sequenze (circa 10.000 basi) già durante il sequenziamento



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

Ringrazio

Dott.ssa Marta Corbella
Dott.ssa Debora De Vitis
Dott.ssa Greta Petazzoni

Personale medico, biologi, tecnici e specializzandi
della UOC Microbiologia e Virologia, Fondazione IRCCS San Matteo, Pavia

