

# Controlli microbiologici su cornee in coltura: valutazione preliminare dello strumento HB&L

Dott. Davide Camposampiero

V Corso di Formazione Società Italiana Banche degli Occhi

Lucca, 6 novembre 2010

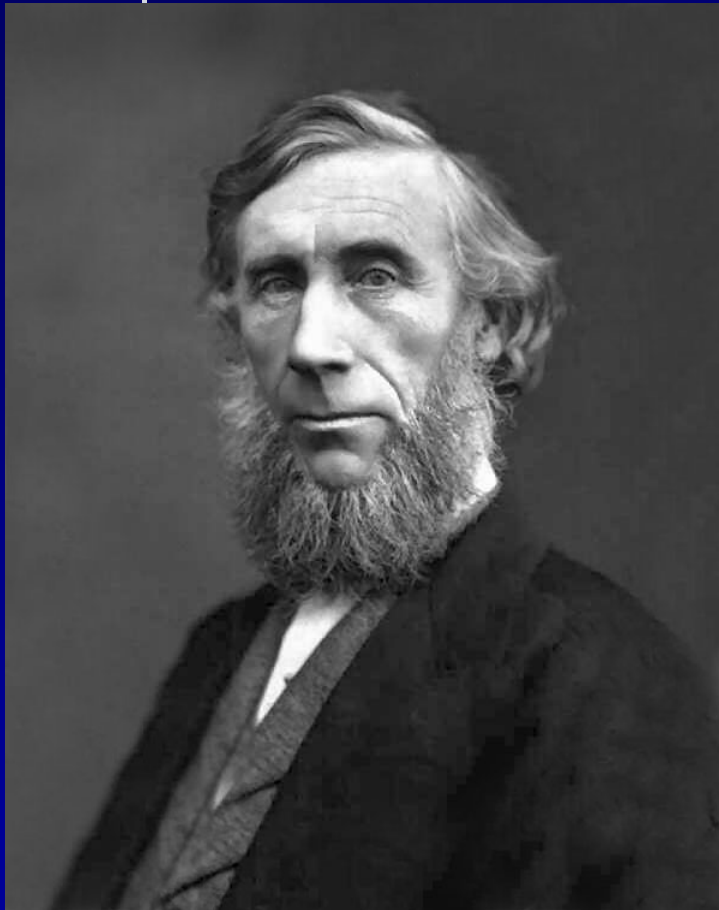
# Introduzione

- La conservazione delle cornee a 31°C impone rigorosi controlli microbiologici.
- Alcuni controlli microbiologici sono ancora in corso al momento del trapianto della cornea.
- E' necessario disporre di un test rapido e sensibile per individuare i contaminanti.

# Confronto HB&L/BACTEC

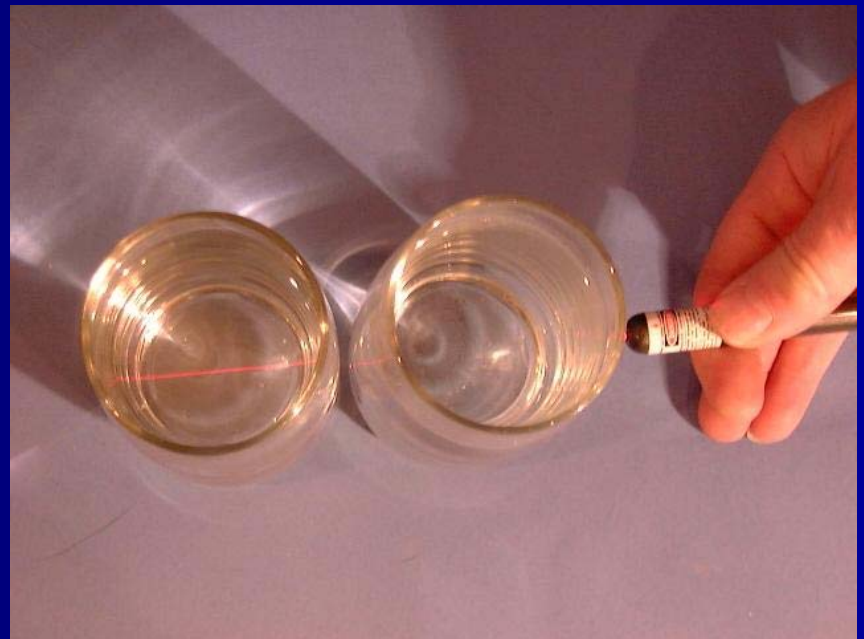
	HB&L	BACTEC
Inoculo	0,5 mL	3,0 mL
Incubazione	1 g	6 gg
Aerobi	SI	SI
Anaerobi	NO	SI
Rilevazione	Rifrazione, diffusione	CO <sub>2</sub>

# Nefelometria



J. Tyndall, 1820 - 1893

Metodica di analisi ottica su fasi disperse fini, basata sulla misura della radiazione diffusa per effetto Tyndall.

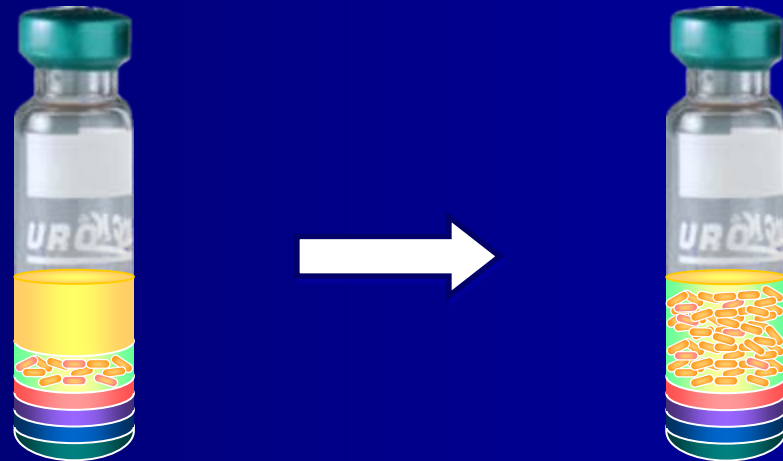


# L'intensità della luce rifratta dipende da:

- Particelle:
  - dimensioni
  - forma
- Differenza dell'indice di rifrazione tra le particelle ed il mezzo di dispersione

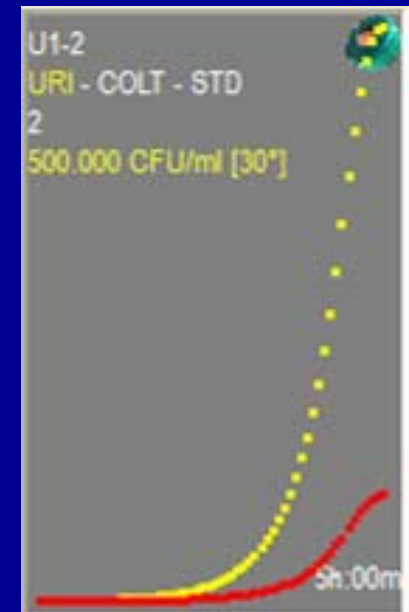
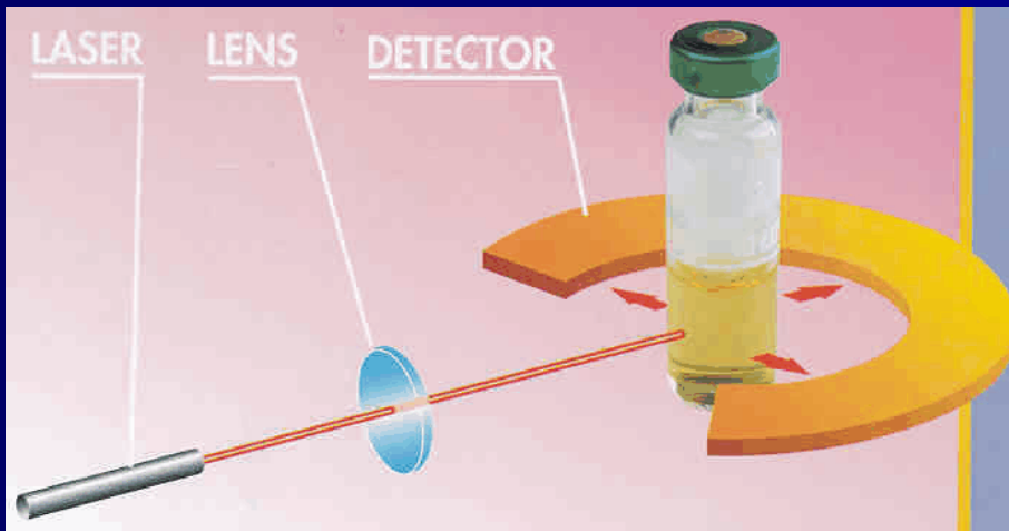
# Applicazioni in microbiologia

La replicazione dei batteri induce un aumento della torbidità del terreno di coltura, con conseguente rifrazione e diffusione della luce proiettata sul campione.



# Principio di funzionamento HB&L

Rilevazione continua su due rilevatori a 30° e 90° tramite luce laser (650 nm) collimata e focalizzata su mezzo di coltura liquido miscelato e termostato a 37°C.

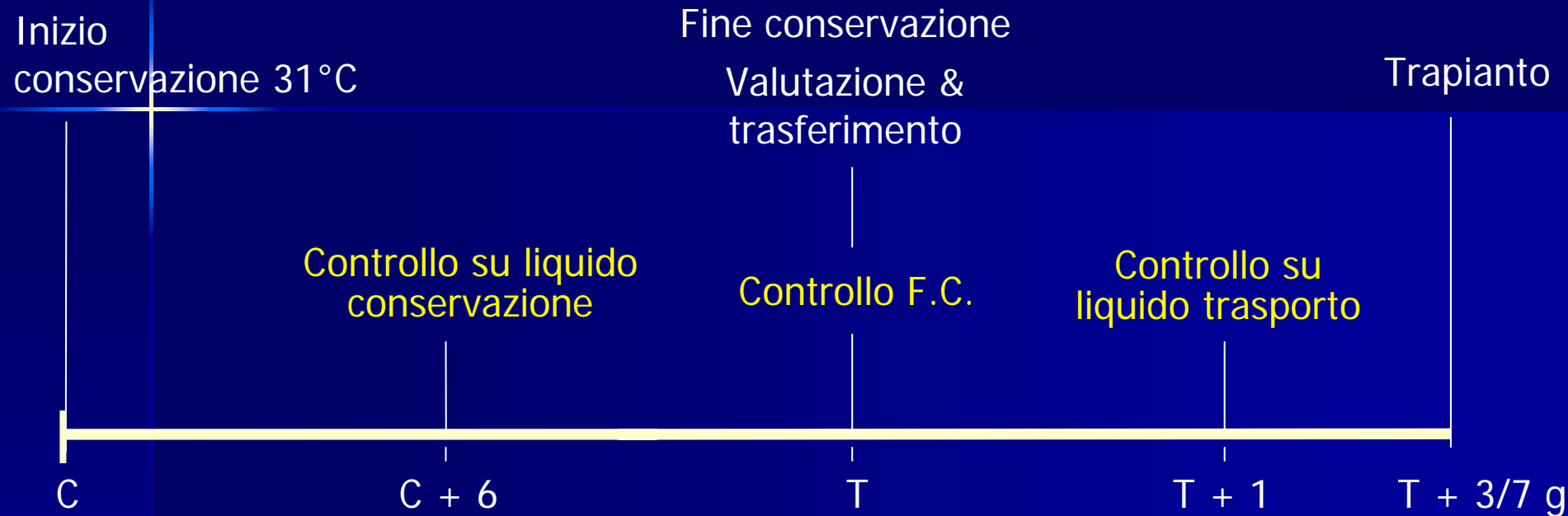


# Tabella di correlazione incubazione/sensibilità HB&L

<b>TEMPO di INCUBAZIONE (min)</b>	<b>MINIMA CARICA BATTERICA RILEVABILE (UFC/mL)</b>
5	$100 \times 10^6$
60	$40 \times 10^6$
120	$1 \times 10^6$
> 300	< 50



# Schema dei controlli microbiologici



**Controllo su liquido di conservazione:**

**Bactec Peds Plus per aerobi**

**Bactec Plus per anaerobi**

**Controllo su l. di cons. a fine coltura:**

**Bactec Peds Plus per aerobi**

**Controllo su liquido di trasporto:**

**Bactec Peds Plus per  
aerobi**

# Campioni sottoposti a test

<b>TERRENO</b>	<b>QUANTITA'</b>
Conservazione	328
C. a fine coltura	572
Trasporto	191
<b>TOTALE</b>	<b>1091</b>

# Risultati

MICROB +	MICROB -	TOTALE
11 (1%)	1080 (99%)	1091

# Risultati

	BACTEC +	BACTEC -
HB&L +	5 <ul style="list-style-type: none"><li>• Streptococchi</li><li>• Enterococchi</li><li>• Kocuria</li><li>• Candida</li></ul>	4* <ul style="list-style-type: none"><li>• Stafilococchi</li></ul>
HB&L -	2 <ul style="list-style-type: none"><li>• Bacteroides</li><li>• Fusarium</li></ul>	1080

\*: contaminazione da semina.

# Considerazioni finali

- I tempi di risposta del sistema HB&L sono molto rapidi.
- L'entità dell'inoculo necessario per HB&L è trascurabile.
- La breve incubazione dei campioni è sfavorevole per la crescita/rilevazione di contaminanti fungini (soprattutto muffe).
- Il tipo di terreno di semina attualmente in uso non consente la crescita/rilevazione dei batteri anaerobi.

Grazie!

