



# **Test comparativi su differenti metodi per controlli microbiologici**

Dott. Davide Camposampiero

VI Corso di Formazione Società Italiana Banche degli Occhi

Genova, 21 aprile 2012

# Introduzione

- La conservazione delle cornee a 31°C impone l'esecuzione di controlli microbiologici sensibili e rapidi.
- Alcuni controlli sono ancora in corso al momento del trapianto.
- Eventuali risultati microbiologici positivi dopo il trapianto rappresentano eventi ad elevata criticità.

# Scopo

Confrontare le prestazioni dei sistemi HB&L e BACTEC relativamente ai controlli microbiologici in corso al momento del trapianto.



# Caratteristiche HB&L/BACTEC

	HB&L	BACTEC
Semina	0,5 mL	3,0 mL
Incubazione	1 g	6 gg
T. aerobi	SI	SI
T. anaerobi	NO	SI
Rilevazione	Torbidità	CO <sub>2</sub>

# Schema dei controlli microbiologici su cornee conservate a 31°C



**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 + HB&L**

**Controllo su liquido di trasporto:**

**Bactec Peds Plus per aerobi + HB&L**

# Materiali

- 6277 controlli microbiologici sul liquido di conservazione a fine conservazione (DT) e sul liquido di trasporto (T) eseguiti con BACTEC e HB&L su 3145 cornee distribuite per trapianto da agosto 2010 a settembre 2011.

# Risultati

	<b>MICROB +</b>	<b>MICROB -</b>
<b>DT</b>	24	3121
<b>T</b>	10*	3122
<b>TOTALE</b>	<b>34</b>	<b>6243</b>

\*: gestito un evento avverso.

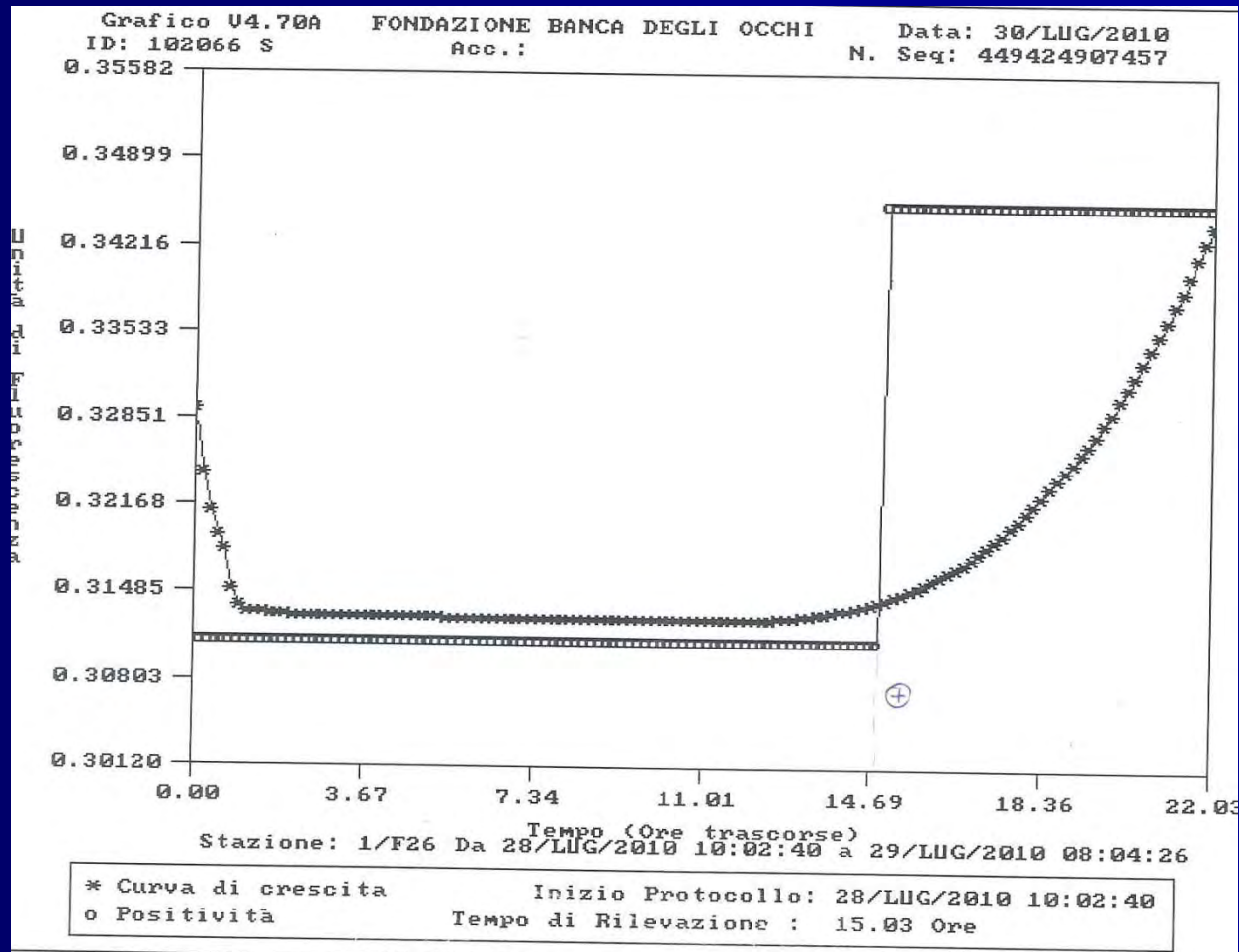
# Risultati

	<b>BACTEC +</b>	<b>HB&amp;L +</b>
<b>DT</b>	24	10*
<b>T</b>	10	2
<b>TOTALE</b>	<b>34</b>	<b>12</b>

\*: 5 DT con sistema HB&L positivi prima del BACTEC.

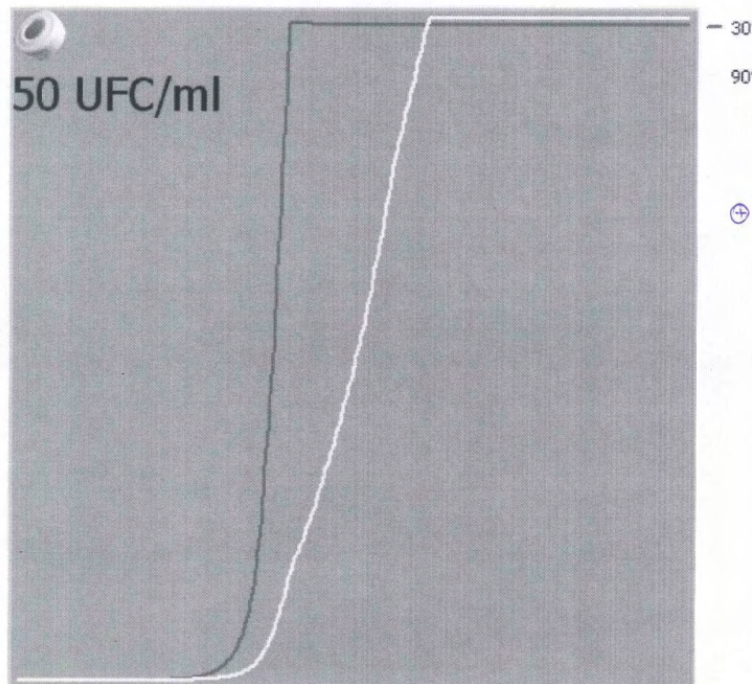


# Curva di crescita BACTEC



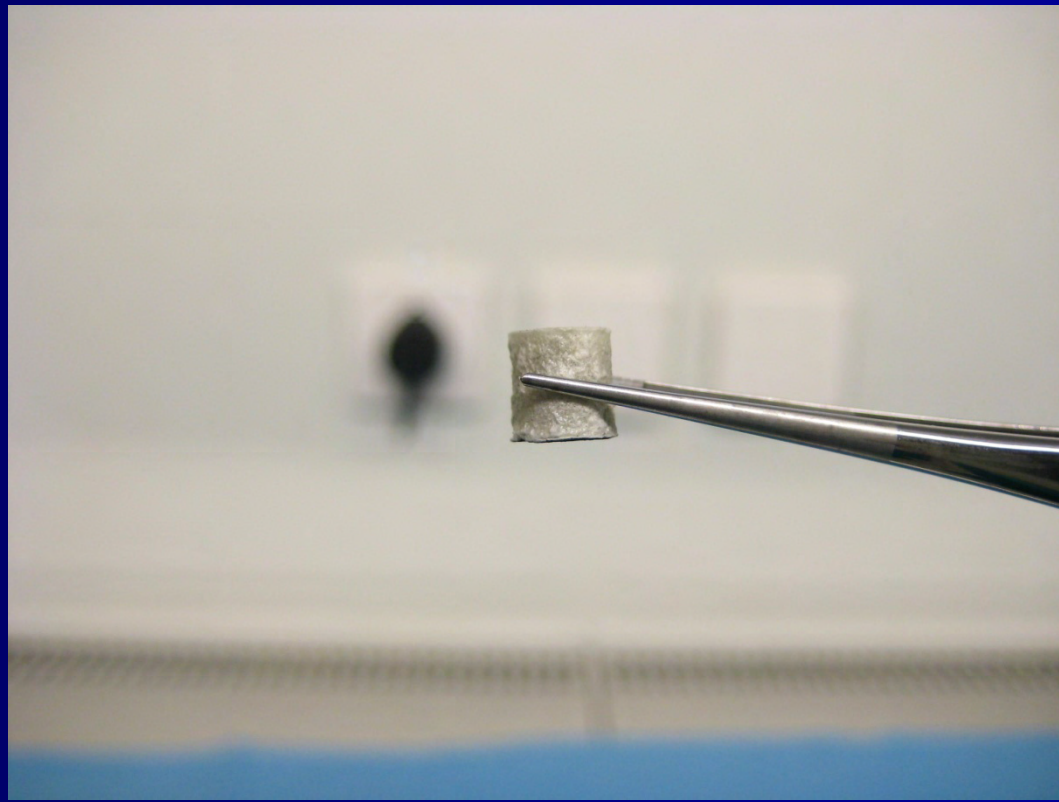
# Curva di crescita HB&L

Data : 2010/07/28      Posizione : U1- 5      Carica : 50 UFC/ml  
Ora : 11:47:05      ID Campione : 102066 S  
S/N : UQ4003      Nome :  
                        : Screening cornee  
                        : Dettagli  
                        : Tempo : 24h:00m / 24h:00m



Tempo	30°	90°
0h:05m	782	497
0h:50m	765	485
1h:40m	759	480
2h:25m	750	478
3h:10m	747	477
3h:55m	744	477
4h:45m	748	476
5h:30m	778	487
6h:15m	859	499
7h:00m	1109	547
7h:50m	2137	728
8h:35m	5885	1262
9h:20m	20490	3258
10h:05m	32016	6609
10h:55m	32004	9794
11h:40m	31995	13206
12h:25m	31987	17423
13h:10m	31981	22552
14h:00m	31980	28016
14h:45m	31979	32004
15h:30m	31979	32007
16h:15m	31979	32006
17h:05m	31979	32007
17h:50m	31978	32006
18h:35m	31979	32006
19h:20m	31978	32006
20h:10m	31978	32005
20h:55m	31978	32003
21h:40m	31978	32002
22h:25m	31978	31999
23h:15m	31978	31999
24h:00m	31978	32000

# Test quantitativi di sensibilità BACTEC/HB&L



# Materiali

- Ceppi ATCC di: *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*.
- Inoculi diluiti da  $10^7$  a 25 UFC in PBS e in liquido di trasporto.
- Flaconi HB&L e BACTEC Peds Plus Aerobic.

# Risultati

## *S. aureus* in PBS

UFC >	25	50	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$	$10^7$
BACTEC	-	-	+	+	+	+	+	+
HB&L	+	+	+	+	+	+	+	+



# Risultati

## *C. albicans* in PBS

UFC >	25	50	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$	$10^7$
BACTEC	-	+	+	+	+	+	+	+
HB&L	+	+	+	+	+	+	+	+

# Antibiotici presenti nel liquido di trasporto

- **Penicillina G** [100.000 U/L]: attiva contro Gram +
- **Streptomicina solfato** [100 mg/L]: attiva contro G -
- **Anfotericina B** [250 µg/L]: antifungino



# Risultati

## *S. aureus* in l. di trasporto

UFC >	25	50	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$	$10^7$
BACTEC	-	-	+	+	+	+	+	+
HB&L	-	-	-	-	-	-	-	+





# Considerazioni finali

- La presenza di antibiotici nei liquidi di conservazione rappresenta un potente mezzo per ridurre il rischio microbiologico (i controlli positivi sui liquidi di conservazione a 4°C sono il 20% in più rispetto ai controlli su liquidi di conservazione a 31°C).
- Gli antibiotici rendono più difficile la rilevazione dei microrganismi batterici.
- Le resine polimeriche assorbenti e a scambio cationico presenti nei brodi dei flaconi BACTEC assorbono penicillina, streptomina e anfotericina e favoriscono la crescita e la rilevazione dei batteri.

# Considerazioni finali

- Il sistema HB&L è influenzato dagli antibiotici presenti nei liquidi di conservazione per contaminanti fino a  $10^6$  UFC.
- Nel 15% dei casi di crescita batterica, HB&L fornisce il risultato in anticipo rispetto al sistema BACTEC.
- HB&L non può sostituire BACTEC, ma lo può utilmente affiancare per la velocità del risultato, soprattutto nei controlli finali.

**Grazie!**

