

# Contribución al diagnóstico precoz de bacteriemia: detección del crecimiento microbiano en medios de cultivo líquidos por ultrasonidos

Juan Ramón Maestre y Francisco Ramón Montero de Espinosa<sup>a</sup>

Servicio de Microbiología Clínica. Hospital del Aire. <sup>a</sup>Instituto de Acústica, CSIC. Madrid

La infección nosocomial es un problema importante que afecta a un gran número de pacientes hospitalizados; requiriendo de los laboratorios de cada centro un esfuerzo encaminado a detectar precozmente los microorganismos responsables de bacteriemias y fungemias.

Los ultrasonidos son ampliamente utilizados con fines diagnósticos en medicina y es conocida la posibilidad de medir con ellos parámetros físicos y químicos de medios líquidos, usando las variables de la velocidad de propagación y atenuación. Nuestro objetivo fue desarrollar un sistema analítico automatizado, diseñado para detectar, de forma eficaz y no invasora, el crecimiento precoz de microorganismos en medios de cultivo líquidos sembrados con muestras clínicas diversas.

Para ello se procedió a la medición de la velocidad de propagación de un pulso ultrasónico a través de frascos de hemocultivo, con muestra de sangre o sin ella, en los que se habían inoculado concentraciones conocidas de microorganismos frecuentemente implicados en cuadros sépticos. El gas carbónico generado por las bacterias en crecimiento modifica la velocidad de propagación del sonido. La monitorización continua del sistema nos permite obtener una representación gráfica del crecimiento microbiano y aplicar una serie de algoritmos diagnósticos relacionados con la pendiente de la velocidad a fin de conocer con la mayor rapidez los cambios físicos que se producen, en el medio líquido, cuando los microorganismos están presentes. El tiempo de detección por nuestro sistema es reducido y se ha mostrado similar o discretamente mejor que otros comercializados. El método es sencillo, económico e innovador y abre la posibilidad de nuevas aplicaciones con fines diagnósticos en microbiología.

Palabras clave: ultrasonidos, detección, bacteriemia, crecimiento microbiano.

## Contribution to the early diagnosis of bacteremia: microbial growth detection in liquids by ultrasound

Nosocomial infection is an important problem because the number of patients daily affected in big hospitals. A big effort exists to develop techniques able to early detect the micro-organisms which cause the infection. The ultrasound is a mechanical radiation widely used in Medicine for diagnosis and therapy. It is also well known that this radiation can be used to control relative changes of several physico-chemical parameters in liquids. As an example, the velocity an attenuation of acoustic waves coming through a liquid can be accurately measured.

The developed technique consists of an ultrasonic chamber immersed into a thermostatized water bath with two transducers operating in through-transmission. Different culture bottles were placed in between the transducers to live the ultrasound to come across the sample. Several micro-organisms with controlled concentrations, chosen between the most common in sepsis clinical, were used to inoculate each bottle. In the case of aerobic metabolism, the carbon dioxide gas produced by bacteria introduce elastic changes into the liquid which modify both the propagation velocity and the attenuation of the ultrasound. The continuous monitoring of the time-of-flight and the amplitude of an ultrasonic pulse coming through the sample give us a clear indication of the metabolism process. The signatures observed permits the identification of algorithms to early define the positive cases. The developed technique is faster than other commercial systems. The intrinsically non-invasive characteristic of the ultrasound and the relative cheapness of the technique open new attractive possibilites in microbiological diagnosis.

Key words: Ultrasonic, detection, bacteremia, microbial growth.

Correspondencia: Dr. J. R. Maestre Vera.  
Servicio de Microbiología Clínica.  
Hospital del Aire.  
C/ Arturo Soria 82.  
28037 Madrid

Manuscrito recibido el 6-6-2000; aceptado el 12-12-2000

*Enferm Infect Microbiol Clin* 2001; 19: 149-155

## Introducción

Las infecciones bacterianas y fúngicas, lejos de su erradicación, siguen suponiendo un inconveniente sanitario de primer orden en todo el mundo. De ellas, la infección hospitalaria o nosocomial es un problema que afecta entre el 6% y 10% de los pacientes ingresados en los hospitales, aumentando la mortalidad y prolongando sus días de estancia en ellos<sup>1-4</sup>. Las infecciones comunitarias y nosocomiales, en mayor o menor medida, pueden dar lugar a bacteriemia, sepsis, shock distributivo con fallo multiorgánico y elevada mortalidad (entre el 20% y el 50% según las series consultadas)<sup>2-4</sup>. Las manifestaciones clínicas del paciente que sufre bacteriemia o fungemia no son específicas, por lo que se precisan métodos de diagnóstico etiológico sensibles y eficaces para documentar adecuadamente la infección. En este sentido, cada laboratorio debe elegir la estrategia más idónea enfocada a mejorar la detección precoz del microorganismo patógeno, identificarlo y proceder a la realización de pruebas de sensibilidad.

Una característica significativa de la mayoría de los episodios de bacteriemia y fungemia con repercusión clínica en adultos es el bajo número de microorganismos circulantes por mililitro de sangre, menor de 1 a 30 unidades formadoras de colonias (ufc)/ml, siendo este recuento superior en niños<sup>5-8</sup>. En la práctica de hemocultivos se utilizan frascos estériles con medios líquidos de composición variable en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis. Las bacterias más frecuentes en clínica se detectan en un plazo de 24-72 horas usando distintos sistemas manuales o semiautomáticos disponibles<sup>5,9-12</sup>. No obstante, todo aquello que permita reducir este tiempo y suponga el reconocimiento precoz del agente causal de un cuadro séptico se traduce en un beneficio de vital importancia en la futura evolución y pronóstico del paciente.

Con el objetivo anterior se ha estudiado experimentalmente la utilización de una técnica ultrasónica no invasora capaz de detectar con precisión y rapidez crecimiento bacteriano y medios de cultivo líquidos.

Es bien conocida la posibilidad de medir parámetros físico-químicos de líquidos mediante técnicas ultrasónicas. Los parámetros físicos de un medio líquido, que pueden ser medidos utilizando propagación ultrasónica son la velocidad de propagación y la atenuación. La medida de la velocidad de propagación ultrasónica en líquidos ha sido objeto de atención en los últimos quince años, existiendo técnicas patentadas de medida no automática<sup>13,14</sup>. La nueva técnica propuesta en este trabajo es de tipo semi-automático alcanzando un alto grado de precisión en condiciones óptimas de control de parámetros de laboratorio –1 mm/s en medida de velocidad– lo que implica 1 ppm del valor absoluto de la velocidad, siendo por tanto extremadamente sensible a pequeños cambios en concentración o estructura del medio líquido. La atenuación se mide en forma relativa a lo largo del proceso.

Nuestro objetivo fue desarrollar un sistema analítico abierto y automatizado, diseñado para detectar el crecimiento precoz de microorganismos en medios de cultivo líquidos sembrados con muestras clínicas como sangre, líquido ascítico, líquido pleural, líquido articular, etc; de pacientes con sospecha de sufrir una infección bacteriana o fúngica.

## Material y métodos

El procedimiento consiste en la medida automática de la velocidad de propagación de un pulso ultrasónico con una frecuencia central de 5 MHz a través de un recipiente estéril, frasco de hemocultivo anaerobio Hemoline (bio-Mérieux, France), previamente ventilado, que contiene un medio de cultivo líquido de características definidas, ampliamente utilizado en laboratorios de microbiología.

El frasco de cultivo, con o sin la incorporación de sangre - 10 ml-, se inocula con 1 ml de una suspensión bacteriana a concentración definida - 1, 10, 100, 200, 500, 1000 ufc/ml-. Tras ser inoculado se introduce en unión con un sistema de transductores en un baño termostatizado a una temperatura de 35,0 °C y se somete a control térmico de centésima de grado (fig. 1).

La técnica de medida puede utilizar bien la configuración de transmisión “through-transmission” con dos transductores piezoelectricos enfrentados, bien la de *pulse-echo* con un solo transductor.

El pulso ultrasónico es procesado después de atravesar el recipiente, calculando por procedimientos digitales la diferencia en tiempo entre la señal de disparo y la llegada de dicho pulso (fig. 2).

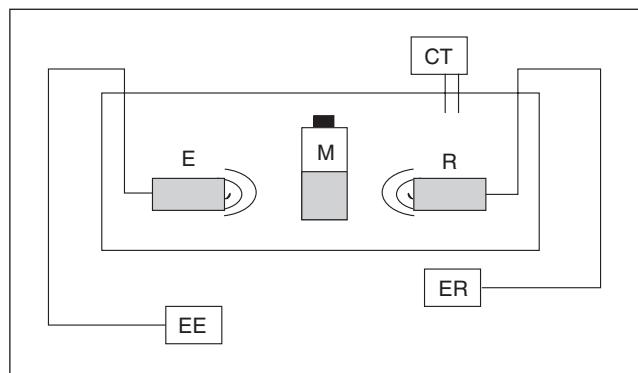
La velocidad de propagación de un pulso ultrasónico en medios líquidos depende del módulo elástico de volumen G y de la densidad ρ:

$$v = \frac{G}{\rho}$$

La aparición de gas disuelto en un líquido cambia la compresibilidad del mismo modificando por tanto el módulo elástico. Así mismo se



**Figura 1.** Frasco de cultivo con el sistema de transductores ultrasónicos antes de su introducción en el baño termostatizado.



**Figura 2.** Esquema general del sistema. E: emisor; R: receptor; M: frasco con medio de cultivo; EE: electrónica de emisión; ER: electrónica de recepción; CT: control térmico.

produce un cambio en la densidad. Todo esto implica una disminución de la velocidad de propagación del ultrasonido. Es bien conocido que en el proceso metabólico de bacterias y levaduras se produce habitualmente gas carbónico. Este hecho nos ha permitido correlacionar el cambio que sufre la velocidad de la señal ultrasónica con la dinámica de crecimiento bacteriano en el medio de cultivo inoculado.

El sistema experimental consta de una célula con dos transductores piezoelectricos enfrentados, un generador de pulsos Panametrics 5052 UA, un osciloscopio digital Tektronix 5052 y un baño con líquido termostatizado con un control de temperatura y precisión de centésima de grado. La cadena experimental está controlada por un ordenador personal vía modelo de comunicación GPIB. La señal es digitalizada cada tres minutos monitorizando en tiempo real la variación de velocidad en función del tiempo.

Los frascos son de vidrio, de paredes planas, superficie lisa y están dotados de un tapón de rosca con cierre hermético. La forma de este recipiente nos facilita la propagación del impulso ultrasónico y permite una adecuada lectura e interpretación de resultados.

La cantidad de gas producido se convierte en un índice de desarrollo que debe exceder una línea de base mínima, establecida a tal efecto para considerar una lectura como positiva e indicativa de crecimiento.

Dicha línea de base se estableció estudiando previamente, de forma sistemática y repetida, el comportamiento del impulso ultrasónico cuando se hacía pasar a través del frasco vacío, del frasco que contenía agua destilada estéril, con el medio de cultivo estéril (no sembrado) y con éste suplementado con 10 ml de sangre fresca recogida de pacientes supuestamente sanos. La información generada en las condiciones descritas nos permitió conocer el punto de partida o blanco (firma) del frasco que posteriormente sería estudiado inoculando la muestra.

De forma experimental se evaluó la velocidad de propagación y atenuación del pulso ultrasónico al hacerlo pasar a través de frascos de cultivo inoculados con suspensiones bacterianas de diversas especies de microorganismos aerobios frecuentes en clínica, - *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*. Para ello se utilizaron las cepas control estándar: *E. coli* ATCC 35218, *S. pneumoniae* ATCC 27336 y *S. aureus* ATCC 25923 (Becton Dickinson, EE.UU.).

Sembradas las cepas en medios sólidos habituales (Agar Sangre Columbia, Sabouraud, McConkey) y tras 18 horas de incubación se prepararon suspensiones bacterianas de las especies referidas (Densidad 1 de Escala McFarland usando densímetro Densimat bio-Mérieux, France) y procediendo a su agotamiento por dilución, se obtuvieron concentraciones de inóculo que simulasen a las observadas en bacteriemia real (<10 a 1.000 ufc/ml). Tras inocular los medios de cultivo con 1 ml de las diversas concentraciones bacterianas los frascos se introducían en un baño termostatizado a 35º C, procediendo de forma inmediata, con el frasco en reposo, la monitorización continua por ultrasonidos; se estudiaba el comportamiento del pulso en cuanto a su velocidad y atenuación. Los datos obtenidos se recogían cada 180 segundos utilizando un programa informático diseñado para tal fin y la cinética del proceso se expresa en gráficas que representan el tiempo de llegada del pulso al receptor: tiempo de vuelo (inverso de la velocidad), respecto del tiempo en minutos transcurrido.

Simultáneamente se registraba la presión de los frascos inoculados y herméticamente cerrados, aplicando un sensor de presión (Honeywell diferencial 286-686) adaptado a los tapones, obteniéndose en una gráfica su evolución a lo largo del estudio.

El tiempo transcurrido hasta la detección de crecimiento, usando las medidas de velocidad de propagación del ultrasonido y las de presión fue recogido en diversas gráficas y se mantuvo el seguimiento del proceso durante al menos 24 horas.

## Resultados

En la figura 1 se aprecian los transductores ultrasónicos enfrentados y la posición del frasco inoculado, antes de su colocación en el baño termostatizado a 35º C. En la

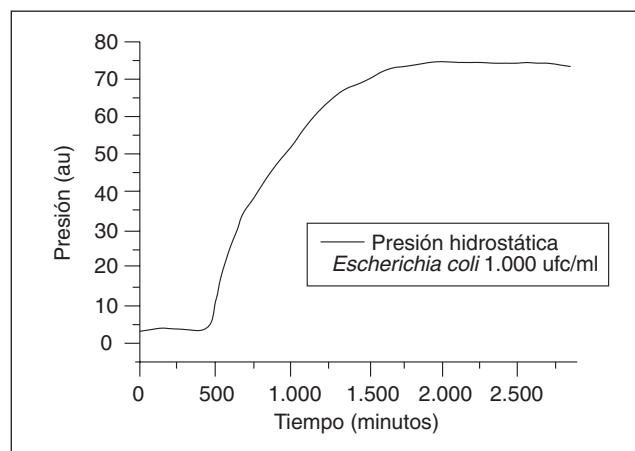


Figura 3. Curva de variación de presión hidrostática en un frasco inoculado con 1 ml de la suspensión bacteriana de *Escherichia coli* (1.000 ufc/ml) e incubado a 35º C.

figura 2 se aprecia un esquema general del sistema utilizado en el estudio.

Los resultados obtenidos quedan reflejados en los siguientes gráficos: en la figura 3 se observa la variación de la presión hidrostática en el interior de un frasco inoculado con 1 ml de la suspensión bacteriana (1.000 ufc/ml) de la especie *E. coli*. En la figura 4 se aprecian los cambios en el tiempo de vuelo del pulso ultrasónico en el medio líquido no sembrado (línea prácticamente plana) y su comparación con la obtenida en el mismo medio inoculado con la suspensión bacteriana de *E. coli*.

La figura 5 recoge un detalle del retardo del tiempo de vuelo en el mismo medio de cultivo que la figura anterior, al cual se han incorporado 10 ml de sangre y 1 ml (500 ufc) de la suspensión bacteriana *E. coli*. Se aprecia la pendiente que puede ser utilizada como parámetro de un algoritmo de detección.

En la figura 6 se comparan las curvas obtenidas en dos frascos sometidos a monitorización continua inoculados con 1 ml de suspensión a dos concentraciones diferentes del mismo microorganismo –*E. coli*–, sin incorporar sangre al frasco. Con 1.000 ufc y con 500 ufc; aprecíese la semejanza entre ambas curvas, la demora en el tiempo del frasco con menor inóculo y sus respectivas pendientes. Debe observarse también que la detección del proceso de crecimiento microbiano midiendo la presión hidrostática en el interior del frasco (fig. 3) es más lenta (insensible en los primeros 450 minutos) que la obtenida con el procedimiento propuesto.

En las figuras 7 y 8 quedan reflejados los retardos del tiempo de vuelo y las curvas obtenidas cuando se inoculan frascos del mismo medio líquido con concentraciones conocidas de dos especies de microorganismos grampositivos frecuentes en clínica, *S. pneumoniae* y *S. aureus*.

## Discusión

Bacteriemias y sepsis se asocian a una elevada mortalidad, especialmente las de origen nosocomial en pacientes con graves enfermedades subyacentes<sup>2-4</sup>. Respecto a los microorganismos responsables, se observó un incre-

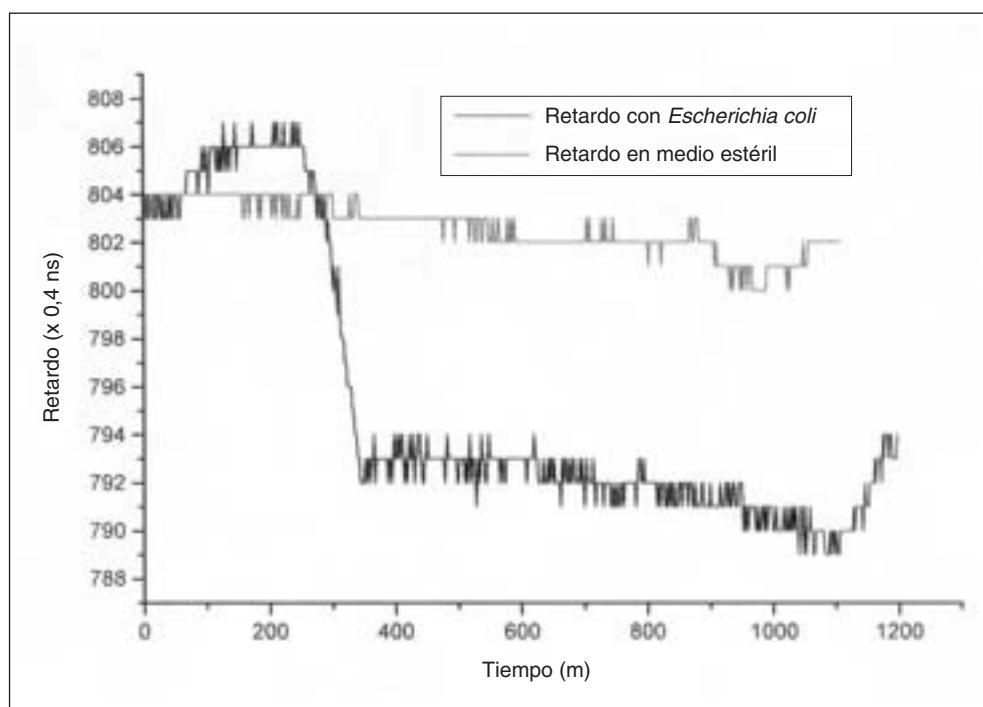


Figura 4. Retardo del tiempo de vuelo: curva obtenida por el crecimiento de la especie bacteriana *Escherichia coli* en el medio de cultivo inoculado -negro- y comparación con la observada utilizando el mismo medio líquido no sembrado -gris-.

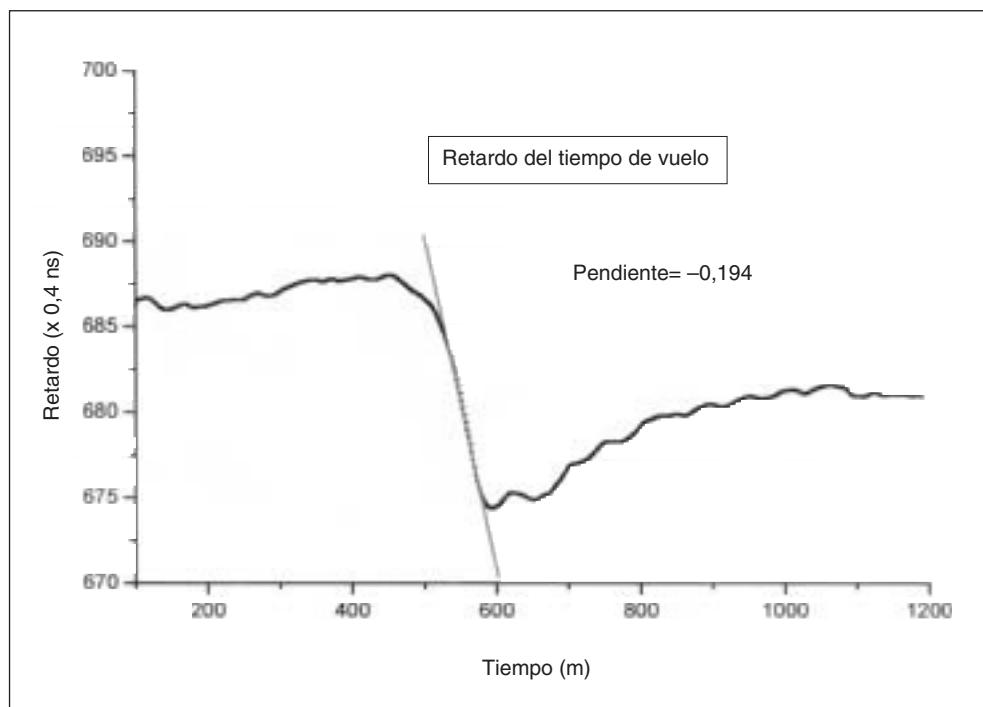
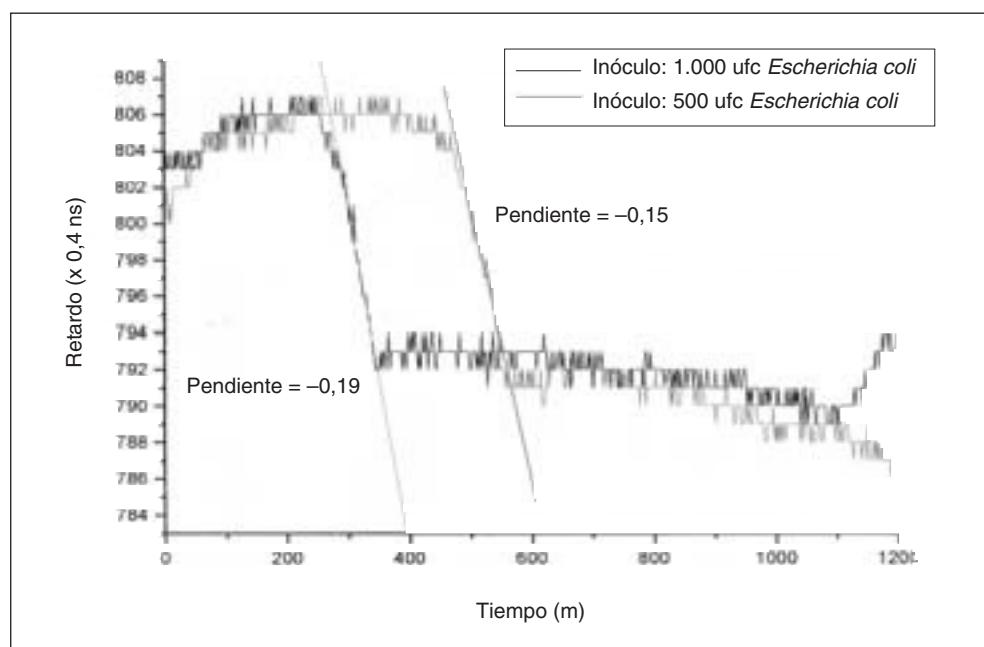


Figura 5. Detalle del retardo del tiempo de vuelo en el mismo medio de cultivo líquido, al cual se han incorporado 10 ml de sangre y 1 ml (500 ufc/ml) de la suspensión bacteriana de *Escherichia coli*.

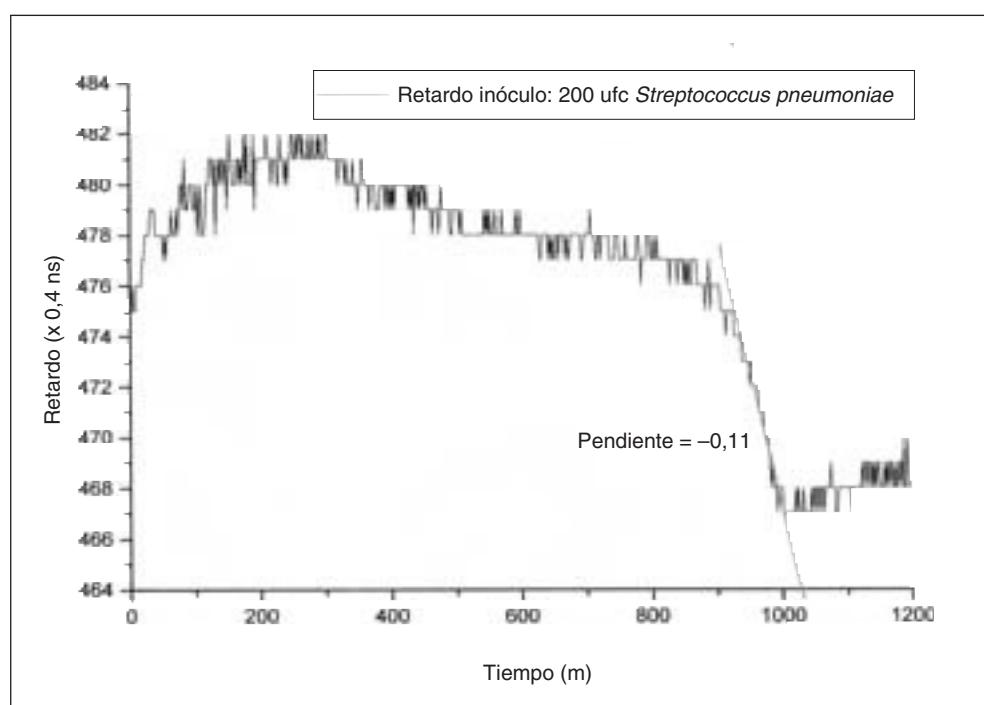
mento en la incidencia de bacteriemia por bacilos gram-negativos entre los años 1950 y 1974; sin embargo, desde esta fecha hemos asistido a un cambio debido al incremento de infecciones por gramospositivos: *S. aureus*, *S. epidermidis* y *Enterococcus spp*<sup>15-18</sup>.

La detección precoz de los episodios sépticos es de vital importancia en la práctica clínica para establecer el diagnóstico y permitir la realización de pruebas de sensibili-

dad del agente causal a los antimicrobianos. Ésta es una de las principales funciones de los laboratorios de microbiología clínica; que se ven obligados a elegir los procedimientos microbiológicos más adecuados para hacer frente a dicho reto. En este sentido han ido apareciendo diversos métodos cuantitativos, semicuantitativos y cuantitativos, que han contribuido a una mayor eficacia en el diagnóstico, comparando algunos autores los resultados



**Figura 6.** Comparación entre los retardos observados con dos concentraciones de inóculo distintas de la especie bacteriana *Escherichia coli*. En negro 1 ml (1.000 ufc/ml) y en gris 1 ml (500 ufc/ml). ufc: unidades formadoras de colonias.

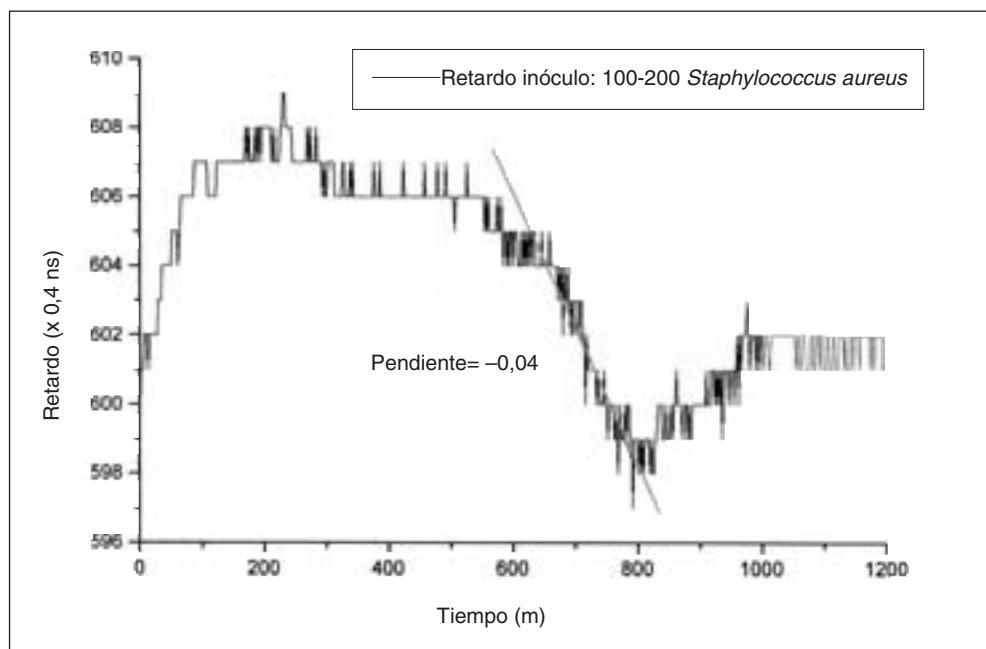


**Figura 7.** Retardo del tiempo de vuelo observado para la especie bacteriana *Streptococcus pneumoniae*. Inóculo 1 ml (200 ufc/ml), sembrado en el mismo medio de cultivo que los casos anteriores. ufc: unidades formadoras de colonias.

de su aplicación en clínica<sup>5,7,10,12,19-23</sup>. Los métodos cualitativos se realizan cultivando las muestras de sangre en frascos con medios líquidos de composición variable, en atmósfera aerobia y anaerobia. Son los más utilizados de forma convencional en los laboratorios de microbiología; dado que facilitan el trabajo y permiten detectar con certeza el crecimiento microbiano. Así, diversos autores han investigado sobre aspectos que influyen decisivamente en la eficacia y rapidez de la detección como pueden ser: número de muestras de sangre procesadas, momento más

oportuno para su obtención, volumen de sangre cultivada, composición de los medios de cultivo, dilución de la muestra analizada, incorporación de resinas captadoras de antibióticos, etc<sup>6,8,12,22,23</sup>. Hasta la fecha no ha sido objeto de nuestro estudio analizar estas variables.

En los últimos años se han desarrollado diferentes sistemas automáticos para la lectura de los frascos de hemocultivo con el fin de mejorar la sensibilidad y rapidez en la detección. Estos sistemas se fundamentan principalmente en la detección del gas CO<sub>2</sub> producido por el meta-



**Figura 8.** Retardo del tiempo de vuelo observado para la especie bacteriana *Staphylococcus aureus*. Inóculo 1 ml (100 a 200 ufc/ml), sembrado en el mismo medio de cultivo líquido utilizado para este trabajo.

bolismo microbiano con diversos métodos: radiométricos, fluorimétricos, espectrometría de infrarrojos, etc<sup>22-29</sup>.

Sin embargo, y a pesar de la gran difusión que han tenido los ultrasonidos en el campo de la medicina, no tenemos constancia de la utilización de la velocidad de propagación del sonido en el área de la microbiología médica, concretamente en el sentido de nuestro método aplicado a la detección, a partir de muestras clínicas, del crecimiento microbiano en medios líquidos con fines diagnósticos. Otros autores han investigado, con sensores acústicos diferentes al nuestro, el crecimiento bacteriano para aplicaciones tan curiosas como el análisis de las propiedades antimicrobianas del té<sup>30</sup>, la determinación de la sensibilidad *in vitro* de bacterias como *E. coli*, *S. aureus*, *Proteus mirabilis* a diversos antibióticos, por monitorización de crecimiento con biosensor acústico y su comparación con el método convencional<sup>31</sup>, o la detección de bacterias en la superficie de medios sólidos<sup>32</sup>.

En síntesis, el trabajo experimental expuesto consiste en simular, inoculando en medios de cultivo líquidos concentraciones controladas de bacterias y levaduras conocidas, las condiciones que acontecen en la práctica clínica del hemocultivo; para que utilizando un método físico no invasor –propagación de ultrasonido– monitorizar y detectar precozmente el crecimiento de microorganismos. Nos proponemos continuar el estudio utilizando bacterias y hongos de lento crecimiento, con escasa formación de gas carbónico o microorganismos considerados fastidiosos. Aunque carecemos de datos representativos, hemos comenzado a comparar los resultados relativos al tiempo medio de detección del crecimiento por nuestro método con otros sistemas automáticos comercial como BACTEC (Becton Dickinson. EE.UU.), ESP (Difco. EE.UU.) y VITAL (bio-Mérieux. France); procediendo a la inoculación simultánea en paralelo de frascos con las mismas características (medio, atmósfera, temperatura, inóculo, frasco) y lectura posterior siguiendo la indicación de cada

método. En breve plazo esperamos poder concluir dicho estudio.

Como puede apreciarse en nuestros resultados, durante los primeros 500 minutos de monitorización ya se observan modificaciones objetivas de la velocidad de los ultrasonidos. Sin embargo, si lo comparamos con la medición del incremento de la presión hidrostática en el interior del frasco (método utilizado en algunos de los sistemas comerciales) ésta resulta más lenta en aparecer e insensible en las primeras horas de medición. Este hecho se debe a que nuestro sistema detecta la presencia de gas carbónico en fases iniciales del crecimiento microbiano, cuando aún no ha sido liberado a la parte superior (vacía) del frasco; por interferir el gas con la velocidad de propagación del ultrasonido en el medio líquido.

La metodología de trabajo aplicada por nosotros permite la monitorización continua de frascos de hemocultivo y la detección precoz del crecimiento microbiano, usando para ello los cambios de velocidad y attenuación del ultrasonido; que nos permiten aplicar una serie de algoritmos diagnósticos relacionados con la pendiente de velocidad, a fin de aumentar la sensibilidad y rapidez de los cambios físicos que se producen en el medio líquido, en relación con el crecimiento de bacterias y hongos. Todo ello administrando un método sencillo, económico e innovador en nuestra área de conocimiento y fruto de una colaboración multidisciplinar que, sin duda, representa la punta del iceberg donde se abren multitud de nuevas posibles aplicaciones con fines diagnósticos en microbiología.

#### Bibliografía

- Garner JS, Jarvis WR, Emori TH, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections. Am J Infect Control 1988; 16: 128-140.
- Pittet D, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections. Secular trends in rates, mortality, and contribution to total hospital deaths. Arch Intern Med 1995; 155: 1.177-1.184.
- Gatell JM, Trilla A, Latorre X, Almela M, Mensa J, Moreno A, et al. Nosocomial bacteremia in a large Spanish teaching hospital: analysis of factors influencing prognosis. Rev Infect Dis 1988; 10: 203-210.

4. Rojo MD, Pinedo A, Clavijo E, García-Rodríguez A, García MV. Factores que influyen en la evolución de la bacteriemia. Estudio prospectivo de un hospital universitario. *Enferm Infect Microbiol Clin* 1999; 17: 439-444.
5. Henry NK, McLimans CA, Wright AJ, Thompson RL, Wilson WR, Washington JA. Microbiological and clinical evaluation of the isolator lysis-centrifugation blood culture tube. *J Clin Microbiol* 1983; 17: 864-869.
6. Arpi M, Bentzon MW, Jensen J, Fredriksen W. Importance of blood volume cultured in the detection of bacteremia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989; 8: 838-842.
7. Yagupsky P, Nolte FS. Quantitative aspects of septicemia. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3: 269-279.
8. Jonsson B, Nyberg A, Henning C. Theoretical aspects of detection of bacteremia as function of the volume of blood cultured. *A P M I S* 1993; 101: 595-601.
9. Planes Reig AM. Técnicas de hemocultivo. LAB2000 1990; 5-8.
10. Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington DC: American Society for Microbiology 1992; 1.7.1-1.7.11.
11. Reller LB, Murray PR, MacLowry JD, Cumitech 1A. Blood Cultures II. J.A. Coordinating ed. En: Washington II. Washington DC: American Society for Microbiology 1982.
12. Washinton JA. Blood Cultures: An Overview. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989; 8: 803-806.
13. Papadakis EP. New compact instrument for P.E.O. measurements of ultrasonic wave transit times. *Rev Sci Instruments* 1976; 47: 806-813.
14. Tardajos G, González G, Montero de Espinosa F. Accurate, sensitive, and fully automatic method to measure sound velocity and attenuation. *Rev Sci Instruments* 1994; 65: 2.933-2.938.
15. McCabe WR, Jackson GG. Gram-negative bacteremia I-etiología y ecología. *Arch Intern Med* 1962; 110: 847-855.
16. Weinstein MP, Reller B, Murphy JR, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults I-Laboratory and epidemiology observations. *Rev Infect Dis* 1983; 5: 35-53.
17. Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Majors trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am J Med* 1991; (Suppl 16) 91: 72-75.
18. Haug JB, Harthug S, Kalager T, Diagranes A, Solberg CO. Bloodstream infections at a Norwegian university hospital, 1974-1979 and 1988-1989: changing etiology, clinical features, and outcome. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 246-256.
19. Pfaffer MA, Sibley TK, Westfall LM, Hoppe-Bauer JE, Keating MA, Murray PR. Clinical laboratory comparison of a slide blood culture system with a conventional broth system. *J Clin Microbiol* 1982; 16: 525-530.
20. Henry NK, Grewell CM, McLimans CA, Washington JA. Comparison of the Roche Septi-Chek blood culture bottle with a brain heart infusion biphasic medium and with a tryptic soy broth bottle. *J Clin Microbiol* 1984; 19: 315-317.
21. Murray PR. Comparison of the Lysis-Centrifugation and Agitated Biphasic Blood Culture Systems of Detection of Fungemia. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 96-98.
22. Brannon P, Kiehn TE. Clinical comparison of lysis-centrifugation and radiometric resin systems for blood culture. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 886-887.
23. Dunne WM, Nolte FS, Wilson ML. Cumitech 1B. En: Hindler. JA Coordinating ed. Washington DC: American Society for Microbiology. 1997
24. Kennedy GT, Barr JG, Goldsmith C. Detection of bacteremia by the continuously monitoring Bact/Alert system. *J Clin Pathol* 1995; 48: 912-914.
25. Rohner P, Pepay B, Auckenthaler R. Comparison of Bact/Alert with Signal blood culture system. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 313-317.
26. Gutiérrez J, de la Higuera A, Piédrola G. Automated blood culture systems. *Ann Biol Clin* 1995; 53: 25-28.
27. Kellogg JA, Bankert DA, Manzanella JP, Parsey KS, Scott SL, Cavanaugh SH. Clinical comparison of isolator and thiol broth with ESP aerobic and anaerobic bottles for recovery of pathogens from blood. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2.050-2.055.
28. Stevens CM, Swaine D, Butler C, Carr AH, Weightman A, Catchpole CR, et al. Development of o.a.s.i.s., a new automated blood culture system in which detection is based on measurement of bottle headspace pressure changes. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1.750-1.756.
29. Pohlman JK, Kirkley BA, Easley KA, Washington JA. Controlled clinical comparison of Isolator and Bactec 9240 Aerobic/F resin bottle for detection of bloodstream infections. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2.525-2.529.
30. Yao S, Tan H, Zhang H, Su X, Wei W. Bulk acoustic wave bacterial growth sensor applied to analysis of antimicrobial properties of tea. *Bio-technol Prog* 1998; 14: 639-644.
31. Tan H, Le D, Li J, Wei W, Yao S. A rapid method for determination of in vitro susceptibility to antibiotics with a bulk acoustic wave bacterial growth biosensor. *Lett Appl Microbiol* 1998; 27: 57-61.
32. Le Deng LL, Bao ZY, Nie LH, Yao S. In situ continuous detection of bacteria on the surface of solid medium with a bulk acoustic wave impedance sensor. *J Microbiol Methods* 1996; 26: 197-203.