

Gilbert Greub¹

Automatisation en microbiologie diagnostique

L'automatisation est l'une des solutions à la réduction des ressources financières, à la limitation des ressources humaines et à l'augmentation d'activités. Par ailleurs, l'automatisation a un impact bénéfique sur la qualité, permettant d'améliorer la traçabilité, de réduire le temps jusqu'au rendu du résultat et de diminuer – par exemple en biologie moléculaire – le taux de contamination, qui s'élève à 0,69% dans notre plateforme semi-automatisée [1].

Au sein de notre laboratoire de microbiologie diagnostique, l'activité s'est accrue ces dernières années. Par conséquent, afin de faire face à cette augmentation significative d'activité, de maintenir les budgets dans des limites acceptables et d'améliorer la qualité de nos prestations, nous avons développé l'automatisation de notre laboratoire de microbiologie diagnostique, notamment en bactériologie, bénéficiant des développements technologiques récents dans ce domaine.

Automatisation en bactériologie: les systèmes d'ensemencement

L'ensemencement des échantillons est une tâche répétitive qui représente environ 24% des tâches préanalytiques dans notre laboratoire [2]. Cet ensemencement peut se faire actuellement de manière automatisée (i) grâce aux améliorations des systèmes d'information de laboratoire (LIS), (ii) à l'amélioration du traçage des échantillons par des codes-barres, et (iii) à l'importante expérience acquise ces 20 dernières années avec des systèmes de 1^{ère} et 2^{ème} génération tel que le système Inoculab. Les systèmes que j'appellerais de 3^{ème} génération actuellement sur le marché, sont définis par la capacité d'ensemencer à haut débit des échantillons liquides (urines, liquides pleuraux, liquides péritonéaux et liquides péricardiques, ...) ou rendus liquides, par exemple grâce à l'utilisation du système breveté par Copan (UTM), permettant la généralisation de l'ensemencement automatisé aux frottis. Les systèmes de 3^{ème} génération effectuent un ensemencement en cinq étapes distinctes: sélection de la boîte

de Petri, inoculation de l'échantillon, dispersion de l'inoculum sur la gélose, étiquetage des boîtes de Petri, ainsi que sortie/triage des plaques inoculées. Actuellement sur le marché, il y a trois principaux automates d'ensemencement de 3^{ème} génération: le WASP (Copan), le PREVI Isola (BioMérieux), et le BD-Inocula (BD-Kiestra). Dans un article récent, nous avons proposé certains critères pour choisir l'automate d'ensemencement idéal [2]. Brièvement, rappelons que ce choix doit porter d'une part sur les motifs poussant un laboratoire à s'automatiser et les caractéristiques de ce laboratoire et d'autre part sur les caractéristiques de l'instrument (table 1).

Concernant le laboratoire, il faut bien définir le but. S'agit-il d'automatiser l'ensemencement de la plupart des échantillons entrant, y compris les selles et les expectorations, ou uniquement des urines? Il faut également faire une évaluation du besoin en terme de la diversité de géloses à ensemencer et du nombre de plaques à ensemencer. Quand on parle des plaques ensemencées, il ne faut pas juste compter le nombre de plaques ensemencées par jour, mais également tenir compte des heures d'ouverture des laboratoires et des périodes d'activité principale. Dans l'exemple lausannois, nous ensemencions environ 1000 plaques par jour. Si nos techniciens travaillaient 24/24, cela représenterait que 42 plaques à l'heure. Cependant, compte tenu de l'ouverture du laboratoire de 8h à 17h (période de 9 h), 111 plaques sont effectivement ensemencées par heure. De plus, la plupart des échantillons sont disponibles le matin à l'ouverture du laboratoire, et par conséquent, il y a un pic d'ensemencement d'environ 250 plaques/heure dans les premières heures de travail quotidien [2].

Automatisierung in der diagnostischen Mikrobiologie

Die Automatisierung ist eine Möglichkeit, der Reduktion von finanziellen und personellen Ressourcen sowie den erweiterten Anforderungen an das Labor Stand zu halten. Sie erhöht die Qualität, verbessert die Rückführbarkeit der Prozesse und verkürzt die Untersuchungsdauer. Bei der Einführung der automatisierten Beimpfung von Proben im Bakteriologielabor war zu berücksichtigen, dass die Beimpfung der nicht flüssigen Materialien teilweise noch Zwischenlösungen erforderlich machen; die unterschiedliche Grösse der Probengefässe ist momentan ebenfalls ein wichtiger Faktor für die Auswahl eines Systems. Die grosse Herausforderung liegt aber in der Informatik und Kompatibilität der verschiedenen Automaten. Dies führt dazu, dass die Labormitarbeitenden neben der mikrobiologischen Ausbildung auch in Laborinformatik ausgebildet werden müssen. Die Informatik ist ein Grundpfeiler einer effizienten Automatisierung, welche dem Patienten zugute kommt, wenn die Zeit zwischen Probenentnahme und Resultatübermittlung an den Arzt reduziert wird.

Une autre caractéristique du laboratoire importante est la diversité des échantillons reçus. Dans notre laboratoire, nous recevons environ 50% d'échantillons liquides et 35% de frottis, qui ont pu aisément être ensemencés de manière automatisée en utilisant le système E-Swab UTM de Copan. Cependant, le passage aux frottis Copan a dû être programmé dans le cadre du projet d'automatisation et a dû se faire progressivement, service après service. Nous avons également, dans un second temps, passé à l'automatisation

¹ Prof. Gilbert Greub, MD PhD, Médecin-chef, Institut de Microbiologie, Université de Lausanne et Centre hospitalier universitaire vaudois (CHUV)

des selles et avons décidé de maintenir une étape manuelle de préparation des biopsies (broyage, jusqu'à obtention d'un échantillon transformé de nature liquide). Enfin, afin d'ensemencer de manière automatisée les expectorations, nous avons évalué la Copan Sputum liquefying solution (SL-solution), afin de vérifier que la dilution de l'échantillon par cette procédure n'influe pas négativement sur la sensibilité [3]. Ces exemples démontrent que l'automati-

ment varier considérablement. Il faut donc, lors d'un projet d'automatisation, faire un effort pour convaincre les services cliniques d'uniformiser au mieux les types de containers. Pour certains prélèvements, nous avons dû maintenir un transfert de l'échantillon d'un container à un autre. Les caractéristiques du laboratoire comprennent également la variété de milieux inoculés (nous avons fait un effort pour réduire la diversité des milieux, puisqu'en entrée, beaucoup de systèmes proposent moins de 10 racks pour des géloses de nature différente). Enfin, le budget et l'espace à disposition sont également des éléments clés de la décision.

Les caractéristiques des instruments d'ensemencement proposés par les différents producteurs sont également essentielles. La plupart des caractéristiques permettant de guider le choix sont résumés dans la table 2. Notons que le système d'ensemencement (oeses, billes ou peignes) peut largement influencer la décision. En effet,

l'utilisation d'oeses stériles (WASP) est une approche plus proche de la mécanisation qui engendre une moindre adaptation des pratiques de laboratoire et s'est révélée robuste [4], bien que nécessitant une phase d'adaptation initiale [5]. Le système de billes utilisé par le système INOQULA de Kiestra permet des ensemencements très divers (variation de la distance entre les stries, variation de la distance d'ensemencement) qui paraît meilleur que l'ensemencement manuel pour obtenir des colonies isolées et bien distribuées sur la gélose (Figure 1). Enfin, certains systèmes tels que le Previ-Isola utilisent des éléments jetables (applicateurs jaunes), qui nous rendent captifs du producteur, et font un ensemencement de nature circulaire [6], nécessitant une adaptation des techniciens à cette nouvelle procédure, notamment pour la lecture quantitative et semi-quantitative des géloses. Au delà de l'innovation intrinsèque dont le bénéfice apparent sur la distribution des colonies et le taux de colonies isolées reste à préciser, cette inoculation

Ces exemples démontrent que l'automatisation nécessite une adaptation des protocoles et une phase de type R&D qu'il faut prendre en compte dans le budget d'un projet d'automatisation.

sation nécessite une adaptation des protocoles et une phase de type R&D qu'il faut prendre en compte dans le budget d'un projet d'automatisation. Le type de container reçu peut égale-



Xpert® CT/NG: zuverlässige Ergebnisse in 90 Minuten

Schnell und sicher testen. Verbreitung stoppen.

- Einfach – Sichere und einfache Testdurchführung direkt ab Abstrich oder Urin
- Spezifisch – zwei unabhängige NG-Zielsequenzen, eine exklusive CT-Zielsequenz
- Flexibel – Testdurchführung bei Bedarf, rund um die Uhr
- Sicher – real-time PCR Assay, Ergebnisbestätigung obsolet
- Schnell – hands-on time nur 1 Minute

circulaire à l'avantage d'utiliser plus de 80% de la gélose et pourrait à terme permettre également l'ensemencement de gélose pour effectuer des antibiogrammes par la technique de Kirby-Bauer.

L'ouverture automatisée des tubes est aussi un élément important dans le choix d'un automate et n'est pas disponible pour l'instant avec tous les systèmes. Le débit d'ensemencement, qui s'étend de 180 (WASP) à 400 gélules par heure (BD-Kiestra) est également un élément important de choix (table 1). Enfin, le choix d'un système d'ensemencement doit aussi tenir compte de la compatibilité de ce système avec les systèmes d'incubateurs intelligents et de télé-bactériologie [7–8].

Conclusions

Si l'automatisation dans les domaines de la chimie clinique, de l'hématolo-

gie, de l'immunologie et de la sérologie microbienne est disponible depuis plus de 20 ans, ce n'est que récemment que l'automatisation en bactériologie est véritablement possible, permettant aux microbiologistes cliniques d'entrevoir des économies en ressources humaines, une amélioration de l'efficacité des procédures, un gain en qualité et de nouvelles applications telle la culturomique [9].

La microbiologie «liquide» a été un élément essentiel pour développer les systèmes d'ensemencement automatisés et le facteur limitant actuellement se situe souvent au niveau de l'informatique et de la compatibilité entre différents automates. Les laboratoires de microbiologie font face à un besoin accru en personnel formé dans le domaine de la technologie de l'information. Par conséquent, la formation du personnel de nos laboratoires de-

vrait comprendre à la fois des aspects propre à la microbiologie ainsi qu'une formation poussée en informatique de laboratoire, puisque la technologie de l'information est le pilier d'une automatisation efficace et fiable, qui va bénéficier au patient notamment par une amélioration de la qualité et par une réduction du temps entre prélèvement d'échantillon et transmission du résultat au médecin en charge du patient.

Correspondance:

Gilbert.Greub@chuv.ch

Remerciements:

Nous tenons à remercier D. Triva (Copan), F. Lafargue (BioMérieux), N. Dijkstra (BD-Kiestra), A. Croxatto et G. Prod'hom (CHUV, Lausanne) pour leurs avis sur les systèmes automatisés, ainsi que R. Zbinden (Zurich) pour la traduction résumée en allemand.

Table 1. Critères de choix d'un ensemenceur [adapté de réf. 2]

Caractéristiques du laboratoire
– nombre d'analyse par jour
– Diversité d'échantillon reçus
– Diversité des géloses ensemencées
– Besoins, espace à disposition et budget
Caractéristiques de l'instrument
– Poids, taille, bruit
– Productivité (nombre de gélose/heure, ...) et capacité (nombre de silos, ...)
– Type d'ensemencement (captif, circulaire, ...)
– Qualité et sécurité (traçabilité, reproductibilité, biosécurité, robustesse de l'appareil...)
– Economique (coût de l'appareil, fréquence des maintenances, réactifs, ...)
– Informatique (connexion avec le LIS, simplicité du logiciel, ...)
– Chaîne d'automatisation en aval disponible; autres options (frottis, ...)

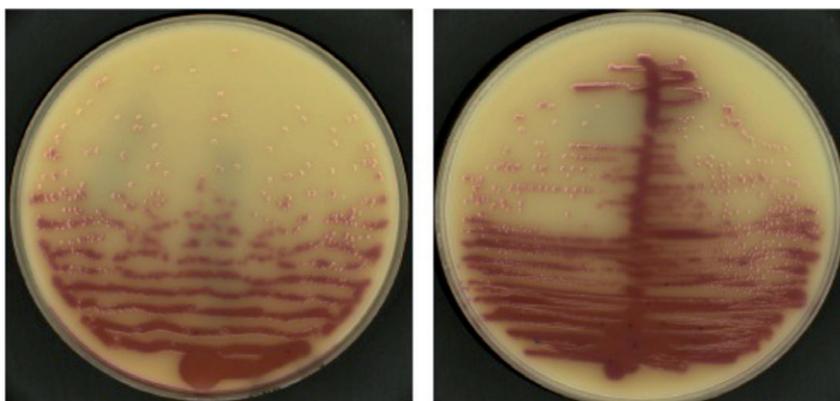


Figure 1. Comparaison entre l'ensemencement automatisée avec le système Inoqua de Kiestra (à gauche) et un ensemencement manuel. Notez la différence de distribution des colonies d'*Escherichia coli* et le nombre important de colonies bien isolées avec l'approche Kiestra.

Références

- Sahli R., Jaton K., Andre C., Meylan P., Telenti A., Bille J., Greub G. Performance of an automated platform. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Barcelona, Spain, 19–22 April 2008. Abstract number: O177. <http://www.blackwellpublishing.com/eccmid18/abstract.asp?id=68178>
- Greub G, Prod'hom G. Automation in clinical bacteriology: what system to choose? *Clin Microbiol Infect.* 2011 May;17(5):655–60.
- C. Buttica, C. Durussel, M. Senra Ortiz, G. Prod'hom, G. Greub. Evaluation of Copan SL solution for processing sputum with the Walk Away Specimen Processor (WASP). Abstract booklet of the 71th Annual Assembly of the Swiss Society of Microbiology, Interlaken, Switzerland, 26–27 June 2013; Abstract number : P85. http://www.swissmicrobiology.ch/Daten/pdf/SGM_AC2013_Abstracts.pdf
- Bourbeau PP, Swartz BL. First evaluation of the WASP, a new automated microbiology plating instrument. *J Clin Microbiol.* 2009 Apr;47(4):1101–6. doi: 10.1128/JCM.01963–08. Epub 2009 Jan 21.
- A. Croxatto 1, G. Prod'hom 1, C. Durussel 1, G. Greub. Evaluation of the implementation of the WASP automatic inoculation system in a clinical bacteriology laboratory. 71th Annual Assembly of the Swiss Society of Microbiology; Interlaken, Switzerland, 26–27 June 2013; Abstract number: P69. http://www.swissmicrobiology.ch/Daten/pdf/SGM_AC2013_Abstracts.pdf.
- Glasson JH, Guthrie LH, Nielsen DJ, Bethell FA. Evaluation of an Automated Instrument for Inoculating and Spreading Samples onto Agar Plates. *J Clin Microbiol.* 2008 Apr;46(4):1281–4. doi: 10.1128/JCM.01687–07.
- Matthews S, Deutekom J. The future of diagnostic bacteriology. *Clin Microbiol Infect.* 2011 May;17(5):651–4.
- Mulatero F, Bonnardel V, Micolaud C. The way forward for fast microbiology. *Clin Microbiol Infect.* 2011 May;17(5):661–7.
- Greub G. Culturomics: a new approach to study the human microbiome. *Clin Microbiol Infect.* 2012 Dec;18(12):1157–9. doi