



J. CROIZE<sup>1,\*</sup>, C. RECALE<sup>1</sup>, I. PELLOUX<sup>1</sup>, V. CHANTEPERDRIX<sup>1</sup> et M. MAURIN<sup>1</sup>

# L'automatisation en bactériologie : un challenge continu. L'expérience du Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble

## RÉSUMÉ

Certaines spécificités de la bactériologie médicale font que celle-ci ne bénéficie pas encore du même degré d'automatisation que d'autres disciplines de la biologie médicale. Toutefois, après l'apparition des « automates » d'hémocultures puis des « automates » d'identification et d'antibiogramme, deux autres secteurs de la bactériologie médicale ont vu certaines étapes de leur analyse s'automatiser : la cytologie urinaire et la détection des mycobactéries. Si cette automatisation semble inexorablement s'installer, elle ne doit pas faire oublier l'importance de certaines phases conventionnelles de la bactériologie (microscopie et mise en culture) et l'intérêt de la biologie moléculaire dans trois domaines : le diagnostic rapide, l'identification de bactéries à croissance lente et l'épidémiologie. Nous présentons dans cet article l'intérêt et les limites de l'automatisation en bactériologie en fondant notre propos sur l'expérience acquise au sein du laboratoire de bactériologie du CHU de Grenoble.

## MOTS-CLÉS

Automates de bactériologie, automates d'hémocultures, automates d'identification et d'antibiogramme, cytologie automatisée, automate de culture de mycobactérie en milieu liquide

## Automated systems in bacteriology : a continuous challenge.

## The experience of an Hospital University

### SUMMARY

Due to some of its specificities medical bacteriology does not present the same degree of automation that characterizes others clinical chemistry disciplines. However, after blood culture automated systems and then automated microbial identification and antimicrobial susceptibility testing systems for Gram positive and Gram negative bacteria, news systems appeared : detection and drug susceptibility systems for mycobacteria and automated urine microscopy analyser. The steps (microscopic examination and culture) are still present with molecular diagnosis for conventional identification of bacteria, identification of fastidious bacteria and epidemiology.

### KEYWORDS

Automated systems, blood culture system, microbial identification and antimicrobial susceptibility testing systems, automated urine microscopy analyser.

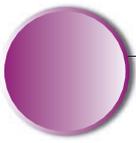
## I - Introduction

La bactériologie médicale est assujettie à des obligations liées à la nature même des microorganismes recherchés (bactéries vivantes, poten-

tiellement virulentes) et à l'application des textes réglementaires encadrant la pratique des analyses : le guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA (1)), le référentiel de microbiologie (REMIC (2)) et les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la

\* Pour correspondance

<sup>1</sup> Laboratoire de bactériologie – Département des Agents Infectieux – CHU de Grenoble BP 217X – 38043 Grenoble cedex – Tél. : 04 76 76 54 79 – Fax : 04 76 76 59 12  
E-Mail : Jcroize@chu-grenoble.fr



Phase pré-analytique	Phase analytique	Phase post-analytique
Réalisation du prélèvement Enregistrement de l'analyse Validation du prélèvement Adéquation entre analyse et prélèvement	Examen direct (cytologie) Mise en cultures Identification Antibiogramme - CMI	Validation technique Validation biologique Dialogue clinicien-biologiste Souche Envoi CNR-DDASS

**Tableau I**  
Les trois phases de gestion d'un prélèvement bactériologique

Société Française de Microbiologie (CASFM (3)). Comme tout prélèvement biologique la gestion de celui-ci se déroule en trois phases (tableau I) : préanalytique, analytique et postanalytique. Si la bactériologie médicale apparaît accuser un retard par rapport à d'autres disciplines de la biologie (biochimie, hématologie), certaines phases de réalisation des analyses s'automatisent toutefois progressivement.

Quelles sont les causes de ce « retard à l'automatisation »? Quels sont les automates actuels et comment peuvent-ils être intégrés au sein d'un laboratoire hospitalier ou privé? Nous exposons ici notre expérience pour un hôpital de 2 200 lits et places, comportant tous les secteurs de la médecine, chirurgie, obstétrique, pédiatrie, gériatrie et psychiatrie, avec plus de 100 000 entrées en hospitalisation complète en 2005.

## II - Les limites à l'automatisation de la bactériologie

Nous pouvons déceler les causes du retard évoqué précédemment dans les spécificités des différentes phases de la gestion d'un prélèvement en bactériologie.

### 1. Les prélèvements et la phase d'isolement.

Alors qu'en biochimie ou en hématologie le sang est pratiquement le seul prélèvement à analyser, en bactériologie la nature des prélèvements gérés se révèle multiple : écouvillons, liquides (sang, urine, liquide céphalo-rachidien, liquides d'ascite, pleural ou articulaire), biopsies, matériels chirurgical ou de réanimation divers. A titre d'exemple, sur le site du CHU de Grenoble, pour 113 000 prélèvements reçus en 2005, la moitié d'entre eux se répartit dans 6 grands groupes : hémocultures, urines, prélèvements broncho-pulmonaires, coprocultures, prélèvements ORL, prélèvements génitaux ; l'autre moitié regroupe les recherches de mycobactéries, les prélèvements pour dépistage de bactéries multirésistantes (BMR), et des prélèvements en rapport avec des interventions chirurgicales variées. Cette multiplicité de nature et de type de prélèvements ne favorise pas une gestion commune, simple et automatisable.

Chacun des prélèvements, à l'exception des hémocultures, nécessite le premier jour de réception un examen direct (examen au microscope)

non automatisable et des ensemencements sur différents milieux d'isolement, dans une atmosphère variée (aérobie ou anaérobie ou 5% de CO<sub>2</sub> ou microaérophilie) à une température le plus souvent de 37°C. Cette première étape indispensable pour l'isolement des bactéries reste manuelle, elle ne bénéficie pas à l'heure actuelle d'un enseigneur automatisable.

Notons toutefois l'existence de recherches spécifiques de certaines bactéries nommément désignées (*S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM), *C. difficile*, *C. trachomatis*) qui peuvent profiter de techniques rapides apparaissant partiellement automatisables.

### 2. Les bactéries et leur taxonomie.

Le prélèvement à analyser en bactériologie peut contenir aucune bactérie ou plusieurs, il comporte ou non initialement des bactéries commensales au sein desquelles on doit rechercher la ou les bactéries pathogènes. De ce fait, les bactéries d'intérêt médical à rechercher selon les prélèvements appartiennent à plus de 2 000 espèces ou sous-espèces (Bergeys' Manual of Systematic Bacteriology - 2005). Les bacilles à Gram négatif non exigeants (entérobactéries et non entérobactéries), les Staphylocoques et les Streptocoques sont les plus fréquents. Néanmoins, de nouvelles espèces ou taxons apparaissent chaque année obligeant à une mise à jour continue des connaissances. A côté de ces bactéries, les espèces dites exigeantes : les HACEK (*Haemophilus aphrophilus* et *Haemophilus paraphrophilus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Kingella kingae*), *Pasteurella*, *Campylobacter*, *Listeria*, Corynébactéries, mycoplasmes, mycobactéries, *Bartonella* et autres, constituent autant d'espèces dont l'identification s'impose comme plus difficile. Cette diversité bactérienne constitue un handicap pour un système devant couvrir le maximum d'espèces. Les automates doivent donc être conçus comme des systèmes évolutifs. Ils doivent au minimum couvrir initialement les bactéries les plus fréquentes et les plus « faciles » à identifier et profiter d'une évolution régulière de leurs galeries ou de leur cartes afin d'enrichir le contenu de cette base.

### 3. Les méthodes d'identification

L'identification bactérienne répond classiquement à un arbre décisionnel fondé sur des critères de morphologie de colonie (taille, pigmentation), d'aspect à la coloration de Gram, d'hémolyse et de caractères biochimiques (catalase ou oxy-

## L'automatisation en bactériologie : un challenge continu. L'expérience du Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble

dase). Selon les résultats, l'orientation se fera vers tel ou tel type d'identification. Les méthodes d'identifications sont variables selon les bactéries : techniques d'agglutination (Staphylocoques, Streptocoques), biochimiques (Entérobactéries, non-entérobactéries, Staphylocoques et Streptocoques..), chromogénique (bactéries urinaires), immunoenzymatique (*C. difficile*, *L. pneumophila*) ou génomique (*Chlamydia*, *Mycobactérie*..).

Cette multiplicité de techniques d'identification constitue également un handicap dans le développement d'un système universel. La réponse apportée à cette problématique par les automates a été progressive ; elle a d'abord concerné les bactéries peu exigeantes et à croissance « rapide », puis les bactéries exigeantes. Seule la biologie moléculaire, par un système d'identification unique, séquençage du gène de l'ARN 16S, secondairement automatisable, pourrait en théorie remplacer toutes les autres techniques.

### 4. Les antibiogrammes

L'antibiogramme accompagne presque toujours l'identification des bactéries potentiellement pathogènes sauf pour certaines (*Chlamydia*, *Bartonella*,...). La mise en route de l'antibiogramme doit répondre aux recommandations annuelles du CASFM sur le choix des antibiotiques à tester selon la bactérie en cause. L'interprétation des résultats doit être guidée par les informations de la dernière édition de l'Antibiogramme (4) notamment dans l'expertise et la détermination des phénotypes de résistances bactériens. L'antibiogramme par diffusion a constitué un outil très utilisé dans les CHU, il présente des avantages non négligeables : vérification de l'inoculum et de la pureté, souplesse du choix des antibiotiques testés, constatation de synergie ou d'antagonisme potentiels, adaptation à toutes les bactéries en suivant les recommandations du CASFM. Toutefois, deux raisons essentielles ont contribué à l'utilisation des systèmes automatisés : d'un côté, la difficile gestion des stocks de disques d'antibiogramme (conservation, dates de péremption différentes selon les disques) et, de l'autre, les très bonnes performances des automates renforcés par des systèmes experts efficaces. Ainsi la réalisation d'antibiogrammes par diffusion peut profiter d'un certain degré d'automatisation de la lecture et surtout de l'expertise grâce à deux systèmes disponibles sur le marché : l'Osiris® de la société Bio-Rad (Hercules, Etats-Unis) et le SirScan de la société i2A (Pérols, France).

### III - Avantages de l'automatisation en microbiologie, les différents points de vue

#### 1. Selon le biologiste

Les exigences du « biologiste scientifique » vis-à-vis d'un automate se fondent de façon non-exhaustive sur des critères de qualité analytique (sensibilité, spécificité, exactitude, reproductibilité, fiabilité irréprochable

avec des contrôles de qualité intégrés) et mécanique. La possibilité de supprimer des tâches manuelles, une informatique permettant une mémorisation et une liaison avec un système de gestion de laboratoire (SGL), un système expert inclus s'imposent comme autant de facteurs discriminants complémentaires. La qualité et le suivi de la maintenance et du service après-vente constituent également des éléments de différenciation importants à prendre en compte.

Le coût à l'achat du système et le coût des réactifs tenant compte du marché international sont des arguments décisifs. Enfin la connaissance de la société, l'implication de celle-ci dans l'évolution de l'automate qu'elle commercialise et l'existence d'un service de recherche et développement à même de jouer un rôle moteur dans cette évolution sont également des paramètres à intégrer dans la réflexion qui mènera au choix d'un système donné.

En plus des connaissances sur les performances des automates existants, le biologiste doit établir un cahier des charges « bactériologique » comportant : le nombre de prélèvements et le type de prélèvements analysés, les espèces bactériennes isolées et les types de résistance susceptibles d'être rencontrés.

Pour le « biologiste gestionnaire », l'automatisation doit, par rapport au travail manuel, apporter une productivité améliorée sans erreur humaine et une optimisation du temps de travail. L'automatisation permet également de mieux connaître les coûts, de les anticiper, de mieux gérer les stocks de réactifs et de consommables. Le gain de temps de travail doit permettre d'optimiser d'autres secteurs en développement.

### 2. Selon l'administration de l'hôpital

Pour l'administration hospitalière, le report des tâches manuelles sur l'automate permet de distinguer en interne des « B manuels » et des « B automatisés ». De ce point de vue, l'objectif est de les relier à des équivalents temps plein (ETP) afin de générer des « gains » de postes que le biologiste hospitalier devra défendre opiniâtrement.

## IV - L'application potentielle dans quatre secteurs de la bactériologie

Quatre secteurs de la bactériologie peuvent, aujourd'hui, bénéficier d'une automatisation de certaines étapes d'analyse, 11 automates actuellement présents sur le marché peuvent répondre à cette demande (*tableau II*).

### 1. Gestion d'un prélèvement d'hémoculture (*tableau III*)

L'hémoculture est une analyse dite « noble » par sa finalité clinique comme méthode de diagnostic d'une bactériémie/septicémie (6). Le résultat est attendu rapidement et un gain de temps a été un des premiers objectifs demandé aux automates (7). Trois critères sont caractéristiques de ce pré-



Objectifs ou secteur d'application	Nom	Fabriquant/Distributeur	Adresse en France
Identification-Antibiogramme	• Vitek2®	bioMérieux	bioMérieux – Chemin de l'Orme 69280 Marcy-l'Etoile Tél. : 04 78 87 20 00 www.biomerieux.fr
	• BD-Phoenix™ 100	Becton-Dickinson	Becton-Dickinson – 11, rue Aristide Bergès BP 4 – 38800 Le Pont-de-Claix Tél. : 04 76 68 36 36 www.bd.com/france
	• autoSCAN® • WalkAway® SI	Dade-Behring	Dade-Behring – 19-29, rue du Capitaine Guynemer – Immeuble Berkeley 92903 Paris-la-Défense cedex Tél. : 01 42 91 21 00 www.dadebehring.com
Hémoculture	• BD BACTEC™ 9240 • (demain BD Bactec LX)	Becton-Dickinson	
	• BacT/Alert®3D	bioMérieux	
Cytologie urinaire	• UF-100i	Sysmex	Sysmex – 22, avenue des Nations Paris Nord II BP 51414 – Villepinte – 95944 Roissy Cdg cedex Tél. : 01 48 17 01 90 www.sysmex-europe.com
	• iQ®200 (iQ40 – iQ70)	Iris Diagnostic	Iris Diagnostics – 22, av. des Bosquets ZAC les ponts de Baillet – 95560 Baillet en France Tél. : 01 34 73 55 10 www.irisdiagnostics.com
Mycobactéries	• Bacter™ MGIT™ 960	Becton-Dickinson	
	• BacT/Alert®3D	bioMérieux	

**Tableau II**

Quelques-uns des principaux automates de bactériologies disponibles sur le marché français en 2006/2007

J0	J1 à J5 si flacons positifs			J 2/3 à 5/7	
Incubation	Tests présomptifs : coloration Gram-lame/lamelle	Identification	Antibiogramme	Lecture des tests d'identification et des tests d'antibiogramme	Tests complémentaires (Agglutination-CMI)
Manuelle	Manuels	Manuels ou automatisés		Manuelle / automatisée	Manuels

**Tableau III**

Gestion d'une hémoculture

lèvement : un nombre important de flacons (annuellement au CHU de Grenoble en 1986, 25 000 flacons, en 2005, 33 000), l'ensemencement directement dans le service clinique, un pourcentage du nombre d'hémocultures positives stables dans le temps autour de 10%. Aussi, en 1986, dès l'apparition d'un système fiable et non radiométrique, le laboratoire de bactériologie du CHU de Grenoble a fait l'acquisition d'un premier automate : le Bactec NR-660 (Beckton-Dickinson, Franklin Lakes, Etats-Unis). L'association d'une étuve dédiée, d'une agitation des flacons et d'une

détection précoce de CO<sub>2</sub>, permettait alors un gain de temps de 24 à 48h dans la détection des hémocultures positives. Une autre étape a été franchie en 1999, date à laquelle le laboratoire a été équipé d'un automate plus évolué, le Bactec™ 9240 (Beckton-Dickinson), avec quatre unités pour une gestion de 33 000 flacons par an. Par la suite sont apparus d'autres automates dont certains ne sont désormais plus disponibles sur le marché (bioArgos (Bio-Rad) et Vital® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Aujourd'hui, l'offre dans ce domaine est composée de deux appareils

## L'automatisation en bactériologie : un challenge continu. L'expérience du Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble

aux performances très proches, le BactecTM 9240 et le BacT/Alert® (bioMérieux). La mise à disposition de milieux de composition différentes peut être mise à profit pour différentes catégories de microorganismes (aérobies, ananérobie, levures) et permet théoriquement grâce à la présence d'inhibiteurs d'antibiotiques de les utiliser malgré une antibiothérapie. Une extension à la mise en culture des mycobactéries est possible. Leur utilisation s'est optimisée récemment par la connaissance du temps de détection des hémocultures positives (intérêt dans l'aide à la différenciation entre colonisation et infection lors de l'isolement des staphylocoques à coagulase négative (SCN) (8)), par leur emploi dans l'ensemencement d'autres liquides biologiques ou prélèvements per-opératoires et par la possibilité, validée, de mettre en route immédiatement l'identification sans passer par une subculture (9, 10).

### 2. Gestion bactériologique d'un prélèvement standard (tableau IV)

La finalité de l'analyse bactériologique est l'isolement, puis l'identification et l'antibiogramme des bactéries potentiellement pathogènes. C'est au niveau de ces deux étapes couplées que les automates d'identification et d'antibiogramme peuvent être utilisés. Historiquement, dès 1975, le laboratoire de bactériologie du CHU de Grenoble a commencé à utiliser des plaques miniaturisées type Api, puis l'automate de lecture correspondant (ATB® expression® (bioMérieux) avec son inoculateur « automatique ». Par la suite, depuis 1990, le laboratoire a été amené à tester différents automates : MicroScan® WalkAway (Dade-Behring (Deerfield, Etats-Unis), Vitek® (bioMérieux), Phoenix™ (Becton Dickinson) et Vitek2® (bioMérieux). Des critères mixtes de performance, d'expertise, de crédits disponibles ont conduit le laboratoire à s'équiper du Vitek2® en 2004. Cette automatisation apparaît inéluctable dans un laboratoire identifiant et réalisant des antibiogrammes sur près de 11 000 bacilles à Gram négatif non exigeants, 10 000 *Micrococcaceae* et 3 100 *Streptococcaceae* par an. Toutefois, les avantages associés à cette automatisation doivent être tempérés à l'aune de plusieurs remarques :

- Les tests d'agglutination demeurent très utilisés surtout pour les staphylocoques. Par exemple, au CHU de Grenoble, 60% des colonies de staphylocoques agglutinées sont des SCN sans identi-

fication complémentaire; 35% sont des *S. aureus* et 5% sont des SCN donnant lieu à une identification biochimique. Les streptocoques tout au moins pour les  $\beta$ -hémolytiques bénéficient de l'agglutination, les autres s'ils sont retenus sont identifiés biochimiquement.

- Le nombre de colonies disponibles peut être trop faible pour permettre l'identification automatisée si celle-ci demande un inoculum supérieur à 0,5 Mc Farland. L'automatisation ne doit pas supprimer les tests conventionnels de catalase et d'oxydase et même parfois la coloration de Gram avant de choisir les galeries ou cartes. De même, en présence d'un isolement plurimicrobien, il peut être difficile de repérer les colonies identiques de même espèce bactérienne, obligeant soit à réisoler soit à utiliser un système manuel

- Dans la gestion des urines, les milieux chromogéniques font diminuer l'utilisation des systèmes d'identification. C'est ainsi qu'au CHU, seules 27% des identifications d'*E. coli* sont réalisées par un système automatisé (prélèvements non urinaires), les 73% restant le sont par utilisation d'un milieu chromogénique (prélèvements urinaires). Inversement pour les autres prélèvements comportant potentiellement des espèces variées et pour lesquels des milieux chromogéniques ne sont pas utilisés, l'automate remplira sa tâche sauf pour des bactéries exigeantes ou absentes de sa base de données.

- Les performances bactériologiques des divers automates sont voisines. Les publications sont nombreuses, évoluant selon les types de plaques ou cartes disponibles. Les dernières publications relatent pour chacun des deux systèmes Vitek2® (11-13) et Phoenix™ (14, 15), des performances voisines aussi bien pour les entérobactéries habituelles que pour les Gram positifs les plus fréquents avec un pourcentage d'identification à l'espèce voisin de 95%. Les différences peuvent provenir des systèmes experts proposés, de leur capacité ou non à identifier des bactéries exigeantes. Enfin, l'évolutivité des automates se traduit par leur capacité à s'adapter aux modifications nécessaires liées à l'apparition de nouveaux taxons (versions nouvelles des galeries ou plaques).

- La capacité d'expertise et de détection de nouveaux types de résistance sont à surveiller pour ces différents automates. Dans le quotidien, des contrôles de phénotype de résistance sont fré-

**Tableau IV**  
Gestion  
bactériologique  
d'un prélèvement  
standard

J0		J1			J2/3	
Examen direct	Mise en culture	Examen des cultures : tests présomptifs Gram-oxydase-catalase	Mise en route de l'identification	Mise en route de l'antibiogramme	Lecture des tests d'identification et des tests d'antibiogramme	Tests complémentaires (Agglutination-CMI)
Manuel		Manuel	Manuels ou automatisés		Manuelle / automatisée	Manuels



J0			J1 à J42/60		En cas de positivité	
Examen direct (Ziehl) si + : PCR	Homogénéisation	Mise en culture _ Géloses _ Milieu liquide	Milieu gélosé	Milieu liquide	Identification Sonde hybridation	Antibiogramme
<b>Manuel</b>	<b>Manuel</b>		<b>Lecture régulière Visuelle-Manuelle (sur 60 jours)</b>	<b>Lecture auto- matisée (sur 42 jours)</b>	<b>Manuelle</b>	<b>Manuel (méthode des proportions)  Automatisé (milieu liquide)</b>

**Tableau V**  
Recherche de  
mycobactéries

quents et le biologiste doit être attentif par exemple parmi les entérobactéries aux détections de BLSE, CTXM, HCCase, TRI, parmi les *P. aeruginosa* aux carbapénèmes et parmi les *S. aureus* à la détection de la résistance à l'oxacilline.

In fine, en milieu hospitalier où les souches sont souvent « atypiques » ou de phénotypes de résistance particuliers, un regard critique et une vue d'ensemble de l'analyse sont nécessaires avant de valider le résultat définitif. L'identification de certains bacilles à Gram négatif oxydatifs se révèle ardue et les automates peinent à fournir des résultats reproductibles. La gestion des expectorations de patients atteints de mucoviscidose illustre bien ce point, en effet, il n'est pas rare dans ce cas d'être dans l'impossibilité de pouvoir identifier un bacille et d'avoir recours aux techniques de biologie moléculaire (16).

### 3. Gestion bactériologique d'un prélèvement pour recherche de Mycobactéries (tableau V)

Dans ce cas particulier, l'objectif recherché est de diminuer le temps de détection des mycobactéries. Des milieux d'hémocultures spécifiques Mycobactéries ont été proposés par les deux fabricants d'automates gérant les hémocultures (gamme Bactec™ 9000 (BD diagnostics) et BacT/ALERT®) avec des différences de gestion de prélèvements entre les deux systèmes. Ici, la gestion de flacons potentiellement positifs à Mycobactérie dans un secteur non dédié constitue un inconvénient majeur (bactéries de classe 3). C'est pourquoi le laboratoire de bactériologie du CHU de Grenoble a opté depuis 2005 pour la détection

de Mycobactéries, quel que soit le prélèvement, par le système MGIT™ (Mycobacteria Growth Indicator Tube, Becton Dickinson) (17-18). Cette technique permet une diminution du délai de positivité. Un seul tube MGIT est ensemencé associé à deux tubes de Lowenstein. En cas de positivité, l'étude de la sensibilité aux antituberculeux est possible par cette technique. Ce système entraîne une diminution du nombre de tubes gélosés ensemencés et du nombre d'étuves dédiées à ceux-ci.

### 4. Gestion d'un prélèvement urinaire (tableau VI)

Après les hémocultures, l'examen cyto bactériologique urinaire (ECBU) est le prélèvement le plus fréquemment traité au CHU avec près de 22 000 prélèvements annuels. L'utilisation de milieux chromogènes entraîne au moins la suppression de l'identification biochimique d'*E. coli*. De ce fait, le prélèvement bénéficie de l'utilisation de l'automate d'identification et d'antibiogramme pour toutes les autres espèces rendues. Mais c'est récemment le secteur de la cytologie qui vient de profiter le plus de l'automatisation. Il s'agit là d'un progrès attendu car si approximativement 30% des ECBU sont positifs en bactéries, l'intégralité des ECBU nécessite un examen direct et une cytologie. Souhaitant s'équiper dans ce domaine, le laboratoire a considéré durant la période 2004/2005 les offres de deux sociétés. Les automates correspondant ont été validés en comparaison avec les techniques traditionnelles de cytologie (19-21). Puis après une phase de tests interne des deux appareils, le choix du

**Tableau VI**  
Gestion d'un  
prélèvement  
urinaire : examen  
cyto bactériologique  
urinaire (ECBU)

J0			J+1		En cas de positivité	
Examen direct	Cytologie	Mise en cultures	Identification	Antibiogramme	Lecture des tests d'identification et d'antibiogramme	Tests complémentaires (agglutination)
<b>Manuel (automatisé)</b>	<b>Manuel ou automatisée</b>	<b>Manuelle</b>	<b>Milieu chromogène (E. coli, Streptocoque D, P. mirabilis)</b>	<b>Manuel ou automatisé</b>	<b>Manuelle / automatisée</b>	<b>Manuels</b>

## L'automatisation en bactériologie : un challenge continu. L'expérience du Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble

laboratoire s'est porté, durant l'année 2005 sur l'automate iQ<sup>2</sup>200 (Iris Diagnostics, Chatsworth, Etats-Unis) en raison de deux critères différentiels : la visualisation des éléments cellulaires et le stockage des images observées. Attendue depuis longtemps, cette automatisation permet surtout une reproductibilité des résultats et un accès aux images prises lors de la validation. Par ailleurs cet équipement ouvre des perspectives intéressantes avec à la fois une possibilité d'extension à l'analyse cytologique d'autres liquides biologiques et une proposition d'appareils de capacité analytique différente. Quoi qu'il en soit après un peu plus d'un an d'utilisation, il nous paraît important de souligner la nécessité de réaliser toujours un frottis de l'urine avec sa coloration de Gram. Cette coloration possède selon nous toujours trois avantages : elle permet de rendre un résultat immédiat au clinicien, d'avoir non seulement la morphologie mais aussi la réponse au Gram et de contrôler « la cytologie » de l'automate.

### V - Conclusion

L'automatisation de certaines étapes du diagnostic bactériologique devient une réalité dans un certain nombre de secteurs. Elle côtoie à la fois les techniques traditionnelles manuelles et les techniques de biologie moléculaire. Pour s'imposer elle a su répondre à des critères de qualité, de reproductibilité et s'intégrer dans un environnement informatique et épidémiologique. Elle doit toutefois progresser en tenant compte de l'évolutivité constante de la bactériologie : apparition de nouveaux taxons, de nouveaux mécanismes de résistance ou de nouveaux antibiotiques à tester. Cette automatisation ne doit pas être considérée comme synonyme de réduction d'effectif technique. Au contraire, le temps libéré par ces systèmes doit être utilisé afin d'étoffer de nouveaux postes ou de nouveaux secteurs d'activité comme par exemple la biologie moléculaire dans les domaines du diagnostic rapide et de la génotypie.

### BIBLIOGRAPHIE

- (1) GBEA : Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale. Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. JO du 11 décembre 1999, 18441-18450.
- (2) REMIC : Référentiel en microbiologie médicale (bactériologie et mycologie) 2<sup>e</sup> édition, 2004, 2m2 Edition Et Communication, Montmorency.
- (3) CASFM, Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie Communiqué 2007. Editions SFM, www.sfm.asso.fr/.
- (4) COURVALIN P., LECLERCQ R., BINGEN E., Antibiogramme 2<sup>e</sup> édition, 2006, Editeur ESKA, Paris
- (5) DAUNIZEAU A., PERRIER JJ, Automatisation et gain de productivité au laboratoire. *Spectra Biologie*, 2006,151, 21-24.
- (6) AVRIL JL, DONNIO P.Y., PERRIN M., BOIRON P., L'hémoculture : un examen en apparence simple. *Méd. Mal. Inf.*, 1999, 29,2, 77-86.
- (7) MULLER-SERIEYS C., BERGOGNE-BEREZIN E., Actualités sur l'hémoculture. *La Presse Méd.*, 2002, 31, 27-32.
- (8) BEEKMANN SE, DIEKEMA DJ, CHAPIN KC, DOERN GV, Effects of rapid detection of bloodstream infections on length of hospitalization and hospital charges. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, 41, 3119-3125.
- (9) FUNKE G., FUNKE-KISLING P., Use of BD PHOENIX automated microbiology system for direct identification and susceptibility testing of Gram-negative rods from positive blood cultures in a three-phase trial. *J. Clin. Microbiol.* 2004, 42, 1466-1470.
- (10) BRUINS MJ, BLOEMBERGEN P, RUIJS Gijms JHM, WOLFHAGEN Maurice JHM, Identification and susceptibility testing of Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* by direct inoculation from positive Bactec blood culture bottles into Vitek 2. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, 42, 7-11.
- (11) FUNKE G., FUNKE-KISLING P, Evaluation of the new VITEK2 card for identification of clinically relevant Gram-negative rods. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, 42, 4067-4071.
- (12) RENAUD FNR., BERGERON E., TIGAUD S., FURHMANN C., GRAVAGNA B., VRENEY J., Evaluation of the new Vitek2 GN card for the identification of gram-negative bacilli frequently encountered in clinical laboratories. *Eur. J. Clin. Microbiol Infect. Dis.*, 2005, 24, 671-676.
- (13) FUNKE G., FUNKE-KISLING P, Evaluation of the new VITEK2 GP card for identification of medically relevant Gram-positive cocci in a routine clinical laboratory. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, 43, 84-88.
- (14) CARROLL KC, BOREK AP, BURGER C., GLANZ B., BHALLY H., HENCIAC S., FLAYHART DC, Evaluation of the BD Phoenix automated microbiology system for identification and antimicrobial susceptibility testing of staphylococci and enterococci. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, 44, 2072-2077.
- (15) CARROLL KC, BOREK AP, BURGER C., GLANZ B., BHALLY H., HENCIAC S., FLAYHART DC, Evaluation of the BD Phoenix automated microbiology system for identification and antimicrobial susceptibility testing Enterobacteriaceae. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, 44, 3506-3509.
- (16) BOSSHARD PP, ZBINDEN R., ABELS S., BÖDDINGHAUS B., ALTWEGG M., BÖTTGER E. C., 16rRNA gene sequencing versus the API 20 NE System and the Vitek 2 ID-GNB card for identification of non fermenting Gram-negative bacteria in the clinical laboratory. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, 44, 1359-1366.
- (17) ARDITO F., SANGUINETTI M., SECHI L., POSTERARO B., MASUCCI L., FADDA G., ZANETTI S., Comparison of the mycobacteria growth indicator tube with radiometric and solid culture for isolation of mycobacteria from clinical specimens and susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *New Microbiol.*, 2000, 23, 2, 151-158
- (18) KONTOS F., MANIATI M., COSTOPOULOS C., GITTI Z., NICOLAOU S., PETINAKI E., ANAGNOSTOU S., TSELENTIS I., MANIATIS AN, Evaluation of the fully automated BATEC MGIT 960 system for the susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* to first line drugs : a multi-center study. *J. Microbiol Methods*, 2004, 56, 291-294.
- (19) WAH DT, WISES PK, BUTCH AW, Analytic performance of the iQ200 automated urine microscopy analyser and comparison with manual counts using Fuchs-Rosenthal cell chambers. *Am. J. Clin. Pathol.*, 2005, 123, 290-296.
- (20) KOKEN T., AKTEPE OC, SERTESER M., SAMLI M., KAHRAMAN A., DOGAN N., Determination of cut-off values for leucocytes and bacteria for urine flow cytometer (UF-100) in urinary tract infections. *Int. Urol. Nephro.* 2002, 34, 175-178.
- (21) YAHYAOU MR *et al.*, Stratégie d'intégration en routine du cytomètre en flux UF-100 Sysmex pour l'analyse cyto-bactériologique des urines. *RI-CAI*, 2005, 325/61P.