

Automatisation en bactériologie.

Exemple du processus analytique de l'ECBU à l'HEGP

P. Grohs, Laboratoire de Microbiologie du Pr Gutmann, HEGP, AH-HP, Paris





43^{ème} Colloque National des Biologistes des Hôpitaux Marseille, 5-7 novembre 2014



DECLARATION D'INTERET DANS LE CADRE DE MISSIONS DE FORMATION REALISEES POUR L'ACNBH

M. Grohs Patrick

Exerçant au CHU: Hôpital Européen Georges Pompidou

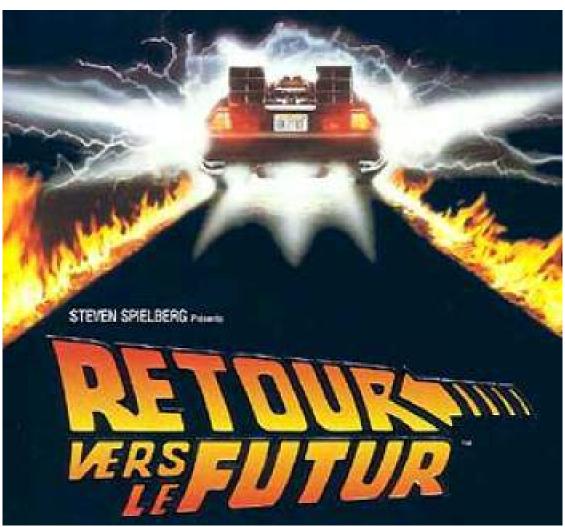
déclare sur l'honneur

ne pas avoir d'intérêt, direct (financier) avec les entreprises pharmaceutiques, du diagnostic ou d'édition de logiciels susceptible de modifier mon jugement ou mes propos, **concernant le DMDIV et/ou le sujet présenté**.

Lien d'intérêt indirect entre le laboratoire de Microbiologie de l'HEGP et la société 12a : mise à disposition du PRELUD pour son évaluation











L'ECBU avant hier







2. Ensemencement



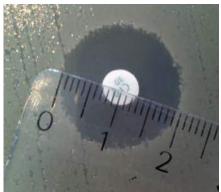
3. Identification



4. Ensemencement de l'antibiogramme



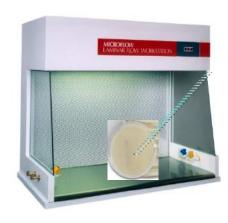






L'ECBU hier







1. Cytologie

2. Ensemencement

3. Identification



4. Ensemencement de l'antibiogramme



5. Lecture de l'antibiogramme

ASSISTANCE DE HÔPITAUX
PUBLIQUE DE PARIS



L'ECBU aujourd'hui



1. Cytologie



2. Ensemencement



3. Identification



4. Ensemencement de l'antibiogramme



5. Lecture de l'antibiogramme

ASSISTANCE THÔPITAUX
PUBLIQUE THÔPITAUX
PUBLIQUE THÔPITAUX
PUBLIQUE



L'ECBU demain



1. Cytologie



2. Ensemencement



3. Identification



4. Ensemencement de l'antibiogramme



5. Lecture de l'antibiogramme

ASSISTANCE THÔPITAUX
PUBLIQUE THÔPITAUX
PUBLIQUE PARIS



Activité du laboratoire

- Groupe hospitalier de 1489 lits
 - ☐ HEGP, courts séjours, 708 lits
 - ☐ Corentin Celton, soins de suite et réadaptation, 472 lits
 - ☐ Vaugirard, soins de longue durée, 309 lits



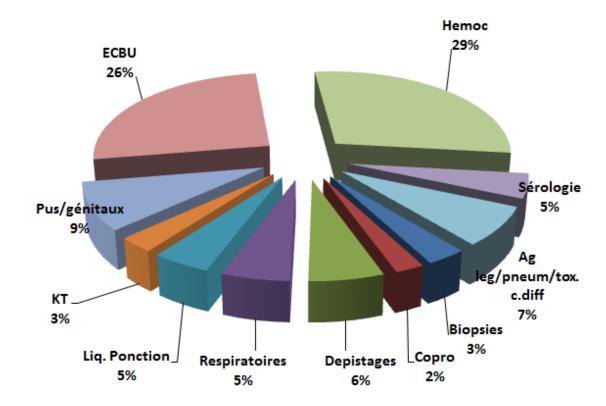


Activité du laboratoire

Groupe hospitalier de 1489 lits

- ☐ HEGP, courts séjours, 708 lits
- ☐ Corentin Celton, soins de suite et réadaptation, 472 lits
- ☐ Vaugirard, soins de longue durée, 309 lits

Bactériologie : 237 dossiers/jour

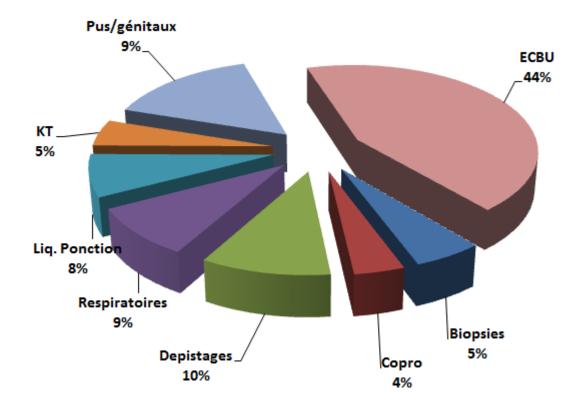






Activité du laboratoire

- Groupe hospitalier de 1489 lits
 - ☐ HEGP, courts séjours, 708 lits
 - ☐ Corentin Celton, soins de suite et réadaptation, 472 lits
 - ☐ Vaugirard, soins de longue durée, 309 lits
- Bactériologie : 237 dossiers/jour (141 pvts à ensemencer)







Organisation du laboratoire hier

Labo 1

<u>Technicien « 24h »</u>: **8h30-16h00**Lecture des boites ayant cultivé 24h + validation avec bio + antibiogrammes

<u>Technicien « 48h »</u>: **7h00-14h30** Lecture des boites 48h (ana) + lecture/correction des antibiogrammes

Après midi : ensemencement des pvts

Labo 3

<u>Technicien « 24h »</u>: **8h30-16h00** Lecture des boites ayant cultivé 24h + validation avec bio + antibiogrammes

<u>Technicien « 48h »</u>: **11h30-19h00** Lecture des boites 48h (ana) + lecture/correction des antibiogrammes

Après midi : ensemencement des pvts

Labo 2

<u>Technicien « 24h »</u>: **8h30-16h00** Lecture des boites ayant cultivé 24h + validation avec bio + antibiogrammes

<u>Technicien « 48h »</u>: **10h00-17h30** Lecture des boites 48h (ana) + lecture/correction des antibiogrammes

Après midi : ensemencement des pvts

Labo 4

<u>Technicien « 24h »</u>: **8h30-16h00** Lecture des boites ayant cultivé 24h + validation avec bio + antibiogrammes

<u>Technicien « 48h »</u>: **8h30-16h00** Lecture des boites 48h (ana) + lecture/correction des antibiogrammes

Après midi : ensemencement des pyts HOPITAUX



Organisation du laboratoire aujourd'hui

Vaugirard - Gabriel-Pallez

Labo 1

Technicien « 24h »: 8h30-16h00 Lecture des boites ayant cultivé 24h + validation avec bio + antibiogrammes

Technicien « 48h » : 8h30-14h00 Lecture des boites 48h (ana) +

lecture/correction des antibiogrammes

Jo à partir de 14h

Labo 2

Technicien « 24h » : 8h30-16h00 Lecture des boites ayant cultivé 24h + validation avec bio + antibiogrammes

Technicien « 48h » : 8h30-14h00 Lecture des boites 48h (ana) + lecture/correction des antibiogrammes

Jo à partir de 14h

Labo J0

Technicien1: 7h00-14h30

Technicien2: 10h00-17h30

Technicien3: 11h30-19h00

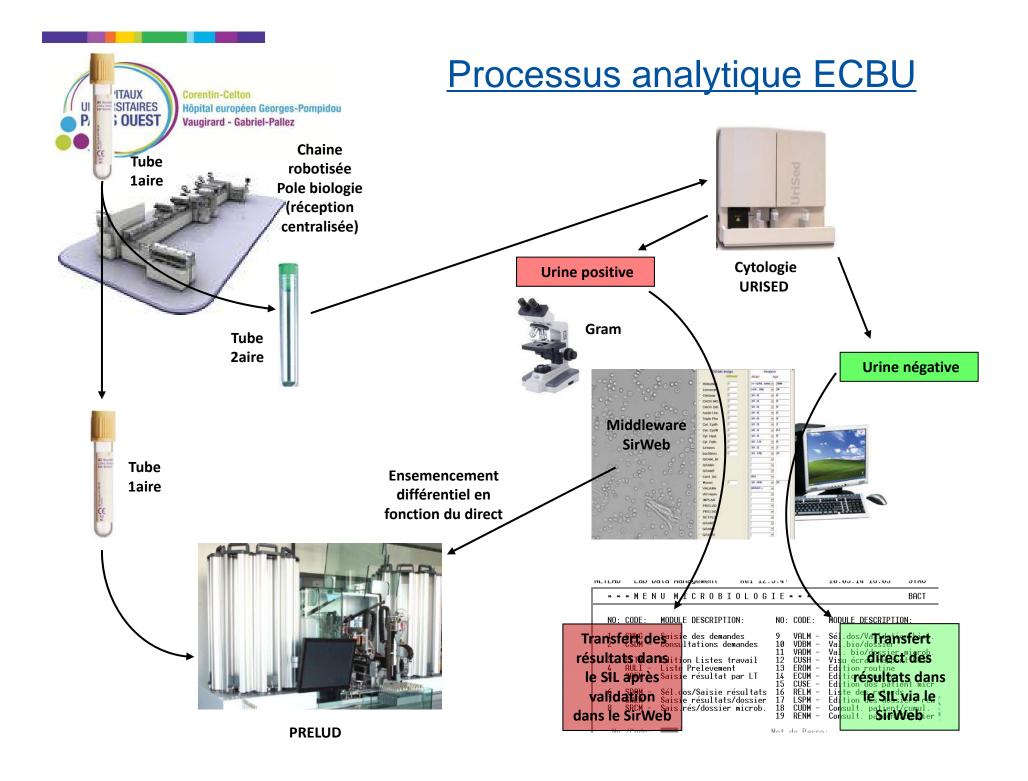
Technicien «48h L1»: 14h-16h Technicien «48h L2»: 14h-16h













Automates de cytologie urinaire



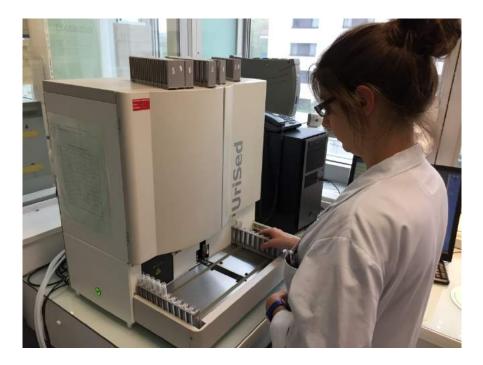




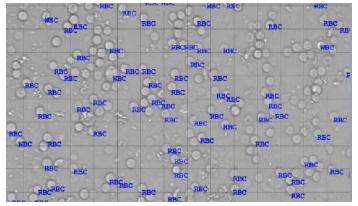


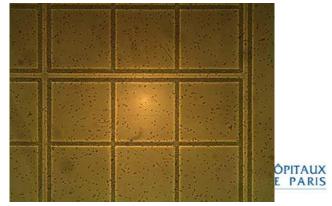


Corentin-Celton Hôpital européen Geol Vaugirard - Gabriel-Pallez Performance automate vs méthode de référence











Reproductibilité basée sur 30 lectures du contrôle de qualité

(Urine microscopics control, Level 2, Quantimetrix®)

	Nombre/μl		
	Leucocytes	Hématies 30-100	
Valeurs cibles	0-15		
Valeur basse URISED	5	21	
Valeur haute URISED	19	57	
Moyenne	13	37	
Ecart type	3,4	9,6	
CV(%)	26	26	

CV(%): coefficient de variation = Ecart type x 100 / Moyenne





Reproductibilité basée sur 30 lectures du contrôle de qualité

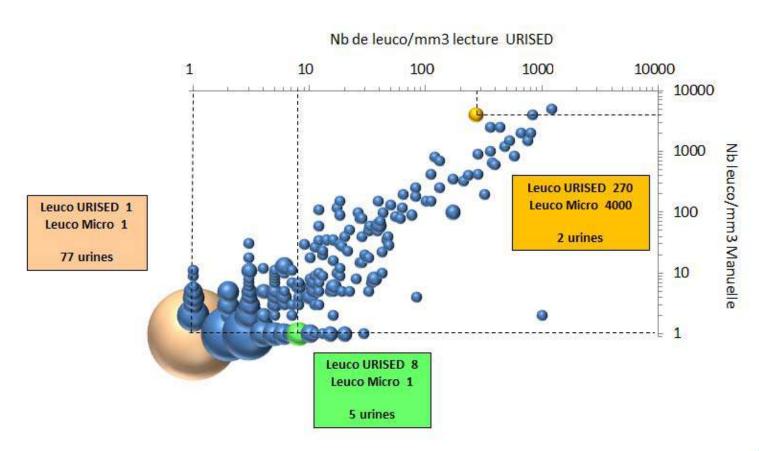
(Urine microscopics control, Level 2, Quantimetrix®)

	Nombre/μl		
	Leucocytes	Hématies	
Valeurs cibles	0-15	30-100	
Valeur basse URISED	5	21	
Valeur haute URISED	19	57	
Moyenne	13	37	
Ecart type	3,4	9,6	
CV(%)	26	26	
Valeur basse Technicien	13	20	
Valeur haute Technicien	41	105	
Moyenne	28	65	
Ecart type	8,6	18,2	
CV(%)	31	28	

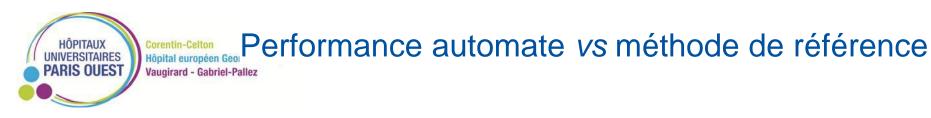
CV(%): coefficient de variation = Ecart type x 100 / Moyenne



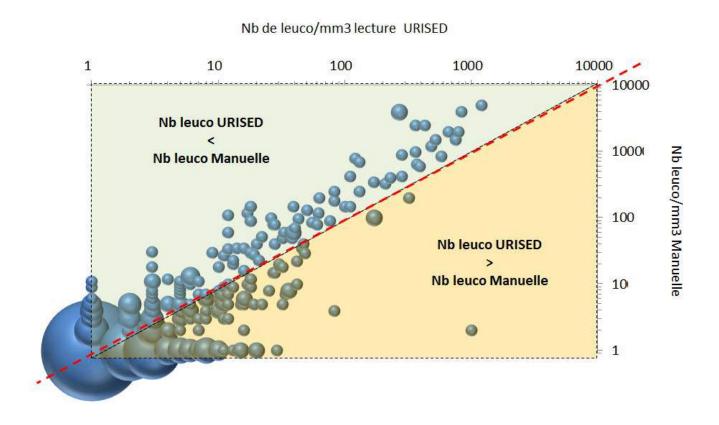
360 échantillons cliniques lus sur l'URISED et au microscope







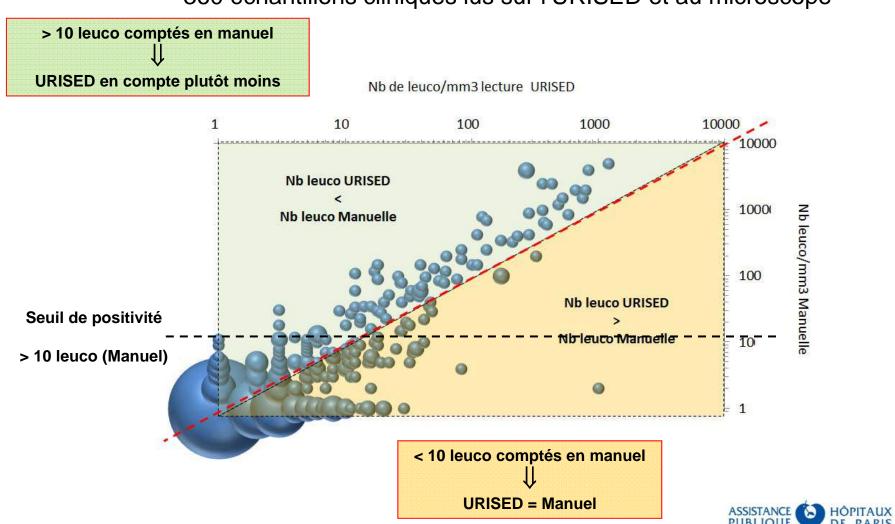
360 échantillons cliniques lus sur l'URISED et au microscope



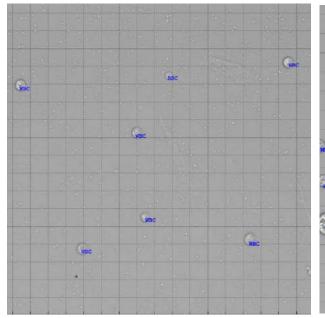


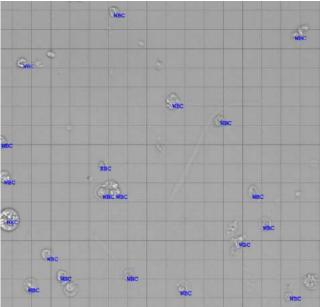


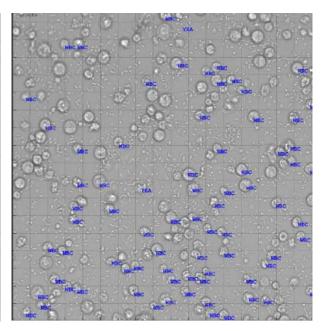
360 échantillons cliniques lus sur l'URISED et au microscope









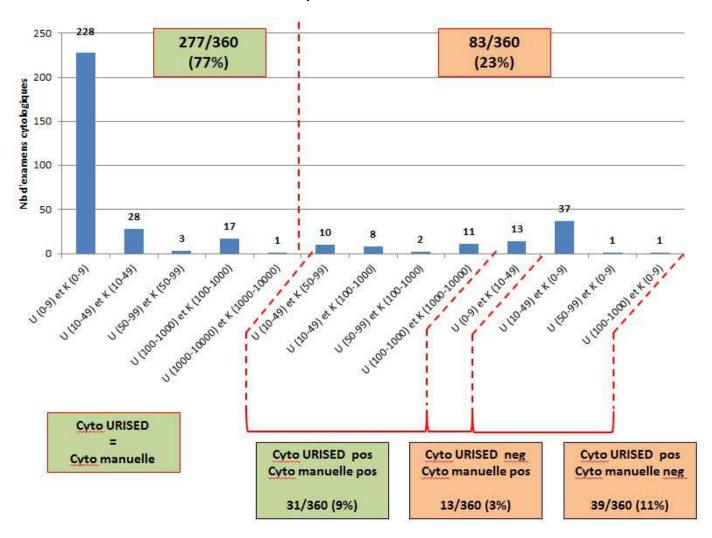






ARIS

360 échantillons cliniques lus sur URISED et en manuel





360 échantillons cliniques lus sur URISED et en manuel

		Automate	
		Négatif	Positif
		GB<10/mm3	GB≥10/mm3
a	Négatif	228 (63,3%)	39 (10,8%)
scop	GB<10/mm3	228 (03,376)	39 (10,8%)
Microscope	Positif	12 (2 6%)	90 (22 20/)
	GB≥10/mm3	13 (3,6%)	80 (22,2%)





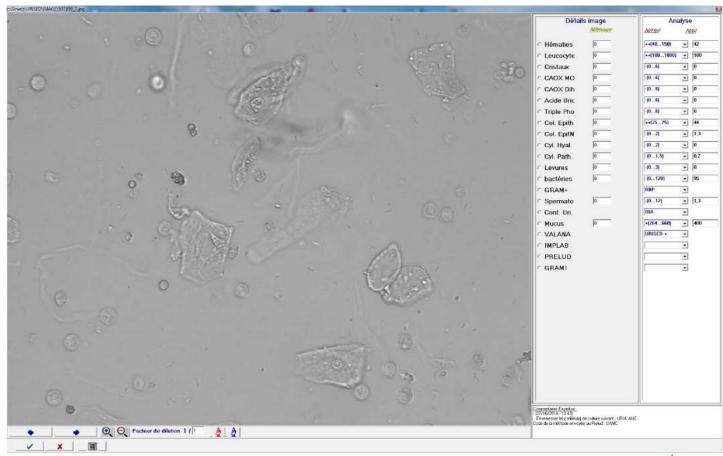
Vaugirard - Gabriel-Pallez

39/360 urines (11%): leuco > seuil via URISED et < seuil en lecture manuelle

	Leuco	Leuco	Leuco
	Urised	Kova	Dem Urised Leuco Kova
35936530	10	1	
35776470	10	1	31352132 16 5
31350503	10	1	35951848 19 5
35943624	11	1	31355111 22 5
35940084	13	1	35944996 32 5
35934936	15	1	35940759 10 6
35934936	15	1	35922267 16 6
35950371	20	1	35922267 16 6
35950371	20	1	31350499 11 7
35934870	29	1	31348179 11 7
35946429	16	2	35947113 12 7
31352383	11	3	37251816 34 7
31350869	12	3	35927343 10 8
35944519	10	4	31354028 25 8
31349259	10	4	35926390 36 8
35945070	11	5	35926390 36 8
31349695	11	5	35940631 11 9
37251817	12	5	31350596 13 9
35941322	15	5	31355085 18 9



Urines considérées comme positives donc bloquées ⇒ Vérification de l'image sur le SIRWEB + cohérence avec le gram.







Vaugirard - Gabriel-Pallez

13/360 urines (3%): leuco < seuil via URISED et > seuil en lecture manuelle

Leuco/μl				
N° ECBU	Urised	Kova	Gram	Culture
35945481	5	10	Nb BN	10E5 E. coli
35951339	6	10	-	2.10E2
35946889	1	11	-	sterile
37251831	3	11	Qq BN	10E5 E. coli
35944658	5	11	-	sterile
31351321	7	11	-	10E2 enterocoque
35944868	4	12	-	sterile
35836546	6	13	-	sterile
35323587	6	13	-	sterile
35944249	6	13	-	sterile
31352653	3	18	-	sterile
31352665	9	30	-	sterile
31350637	3	31	-	sterile

- Urines considérées comme négatives donc non bloquées sur le SIRWEB
- Transfert direct sur le SIL
- Diagnostic d'infection urinaire potentiellement retardé de 24h
- 2/360 = 0,5% des ECBU



Concordance autres sédiments urinaires

■ Bactéries : 62%

☐ Cristaux : 72%

□ Cylindres : 74%

Levures: 96%

☐ Cellules : 96%

Contamination inter-échantillons

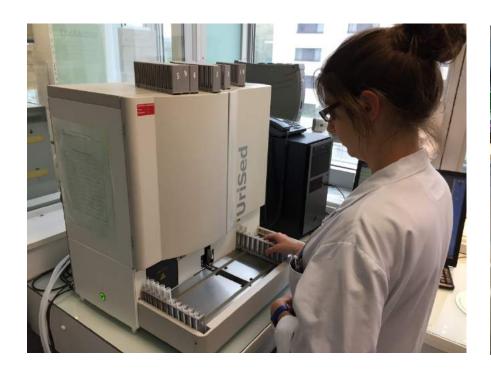
- Aucune contamination cellulaire
- Contamination bactérienne :
 - Contamination rare
 - Toujours pour des concentrations > 10⁶ UFC/ml
 - Dans 90% des cas, moins de 10 colonies sur l'échantillon suivant (infra-seuil)
 - Pas un problème à l'HEGP : tube primaire aliquoté



- 85 % des ECBU: bonne concordance GB URISED/méthode de référence
- 12% des ECBU : GB faux positif (vérification de l'image sur le SIRWEB + Gram)
- 3% des ECBU : GB faux négatif (autour du seuil de positivité)
- 0,5% des ECBU : retard de diagnostic de 24h
- Concordance URISED/méthode de référence pour les autres sédiments urinaires : OK
- Aucune contamination cellulaire
- Rares contaminations bactériennes mais infra-seuil (validation de méthode : 2 tubes)









Non infériorité de la méthode automatisée par rapport à la méthode de référence





Ensemenceurs automatiques























Présentation de la machine









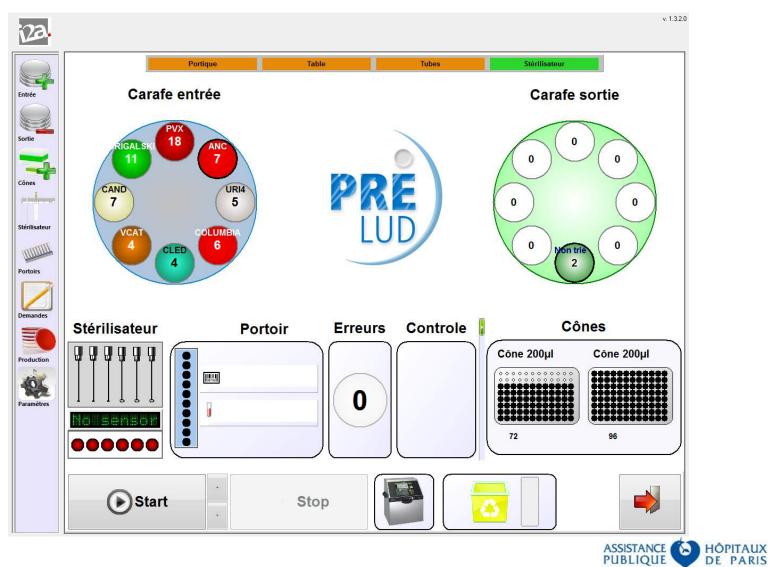
Présentation de la machine







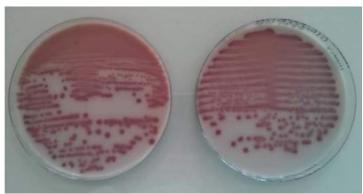
Présentation de la machine



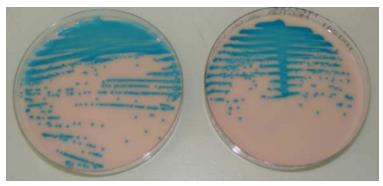


Qualité des ensemencements

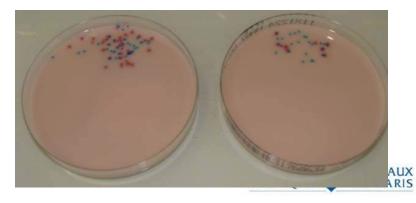






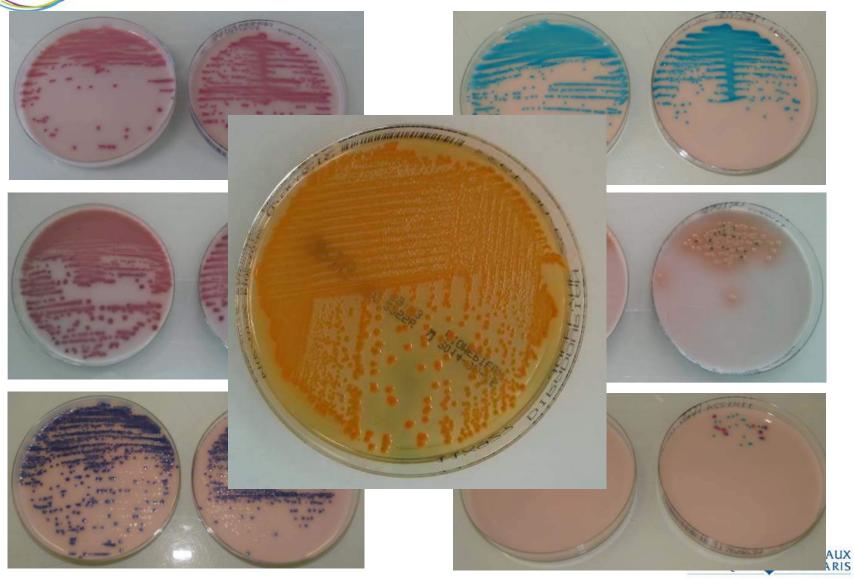








Qualité des ensemencements





Hôpital européen Georges-Pompidou Vaugirard - Gabriel-Pallez

Série 1 : 150 échantillons

Ensemencement en double : machine et technicien

	Ensem. manuel	Ensem. manuel		
	négatif	positif		
Ensem. PRELUD	73	18	. 2	
négatif	(49%)	(12%)	•	
Ensem. PRELUD	0	59		
positif	/ (0%)	(39%)		
de contamination				







Hôpital européen Georges-Pompidor Vaugirard - Gabriel-Pallez

Série 1 : 150 échantillons

59/150 échantillons : cultures manuelles et PRELUD positives

- □ 31 échantillons : concordance parfaite entre les 2 cultures (identification et numération)
- 28 échantillons :
 - concordance entre les identifications
 - numération PRELUD < numération manuelle (≈1 log)





Série 1 : 150 échantillons

18/150 échantillons : culture manuelle positive et culture PRELUD négative

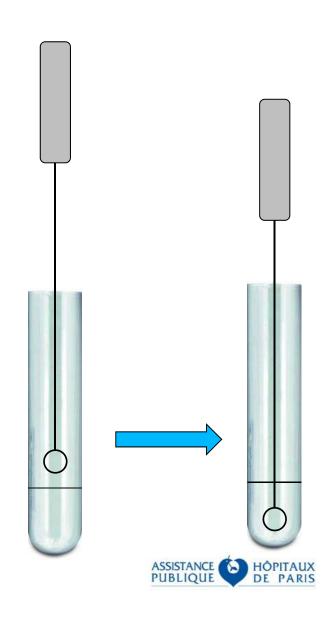
				•
N° ECBU	GB/μl	Culture Prelud	Culture manuelle	
1	3	Stérile	1 colonies staphylocoque)
2	5	Stérile	1 colonies staphylocoque	
3	7	Stérile	2 colonies staphylocoque	
4	<1	Stérile	2 colonies bacille gram-	
5	1	Stérile	3 colonies staphylocoque	10 ² UFC/ml
6	12	Stérile	3 colonies staphylocoque	10 01 6/1111
7	60	Stérile	3 colonies staphylocoque	
8	44	Stérile	3 colonies entérocoque	
9	12	Stérile	4 colonies de E. coli + 1 colonie entérocoque	J
10	13	Stérile	10 colonies entérocoque	
11	16	Stérile	1 colonie entérocoque + 10 colonies staphylocoque	
12	5	Stérile	10 colonies de levures + 3 colonies de bacilles à gram -	10 ³ UFC/ml
13	7	Stérile	9 colonies d'entérocoques + 1 colonie de bacille à gram -	10° OFC/IIII
14	10	Stérile	9 colonies d'entérocoques + 4 colonies de staphylocoque	
15	26	Stérile	6 colonies d'entérocoques + 10 colonies de staphylocoque	
16	28	Stérile	10 ⁶ E. coli + 10 ³ entérocoques	1.00
17	210	Stérile	> 10 ⁶ entérobactéries	├ 10 ⁶ UFC/ml
18	3	Stérile	> 10 ⁶ P. aeruginosa]

- ☐ 15 échantillons : discordance entre les 2 BP < 15 colonies sur la boite (< seuil de positivité)
- ☐ 3 échantillons : culture > seuil (échantillon pas ensemencé par le PRELUD)



Origine du problème :

- ☐ 3 échantillons infections urinaires ⇒ volume faible
- Réglage de la hauteur de l'oëse sur le Prelud
- ☐ Paramétrage accessible à l'utilisateur





Vol.	Suspension E. coli 5.10 ⁵ UFC/ml		
tube	Oese 60 mm	Cone	Oese 75 mm Oese 80 mm
200	Culture neg	Erreur	Culture neg 5.10 ⁴
400	Culture neg	Erreur	Culture neg 5.10 ⁴
600	Culture neg	Erreur	10 ³ 5.10 ⁴
800	5.10 ³	Erreur	10 ⁴ 5.10 ⁴
1000	10 ⁴	Erreur	5.10^4 5.10^4
1200	5.10 ⁴	10 ⁵	5.10^4 5.10^4
1400	5.10 ⁴	10 ⁵	5.10^4 5.10^4
1600	5.10 ⁴	10 ⁵	5.10^4 5.10^4
1800	5.10 ⁴	10 ⁵	5.10^4 5.10^4
2000	10 ⁵	10 ⁵	5.10 ⁴ 5.10 ⁴

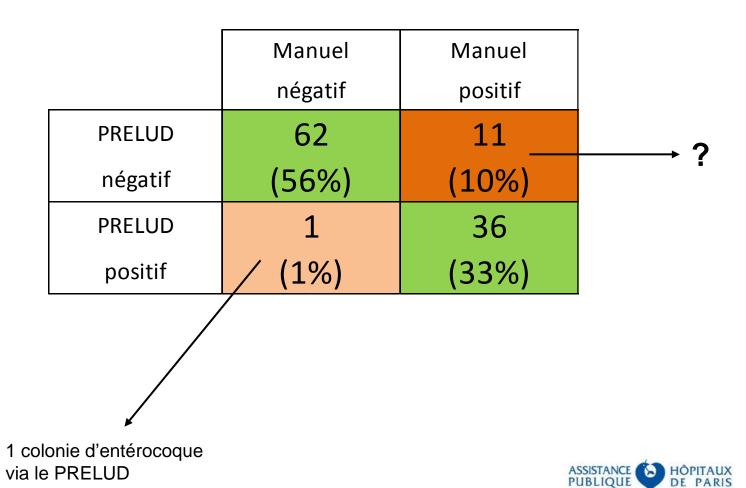




Corentin-Celton Hôpital européen Georges-Pompidou Vaugirard - Gabriel-Pallez

Série 2 : 110 échantillons

Ensemencement en double : machine et technicien





Hôpital européen Georges-Pompidou Vaugirard - Gabriel-Pallez

Série 2 : 110 échantillons

36/110 échantillons : cultures manuelles et PRELUD positives

- Grace au réglage de l'oëse :
 - ☐ Concordance parfaite entre les 2 cultures pour l'identification
 - □ Amélioration significative de la concordance entre les numérations
 - ☐ Ecart entre le PRELUD et la culture manuelle : facteur 1 à 5 (vs 1 à 10 pour la série 1)





Série 2 : 110 échantillons

11/110 échantillons : culture manuelle positive et culture PRELUD négative

	GB/μl	Culture Prelud	Culture manuelle	_
1	<1	0	1 colonies entérocoque	Ī
2	2	0	1 colonies entérocoque	
3	2	0	1 colonie entérobactérie	
4	<1	0	2 colonies entérocoque	1031150/ml
5	3	0	2 colonies E. coli	- 10 ³ UFC/ml
6	3	0	3 colonies d'entérobactérie + 2 colonies de staphylocoque	
7	2	0	6 colonies E.coli + 4 colonies entérocoque	
15	400	PAS DE STRIE	1 colonie d'entérocoque	
8	<1	PAS DE STRIE	0	
9	1	PAS DE STRIE	0	
10	48	PAS DE STRIE	0	
11	52	PAS DE STRIE	0	
12	<1	PAS DE STRIE	0	
13	<1	PAS DE STRIE	0	
14	3	PAS DE STRIE	0	
16	74	PAS DE STRIE	10 colonies d'entérocoques + 10 colonies de levures	
17	76	PAS DE STRIE	>10 ⁶ UFC/ml E.coli	- 10 ⁶ UFC/ml
18	20	PAS DE STRIE	>10 ⁵ UFC/ml entérobactérie 1 + >105 UFC/ml entérobactérie 2	

- 11 échantillons : pas ensemencés
- 2 échantillons : culture > seuil (echantillon pas ensemencé par le PRELUD)





Conclusion série 1 et 2 :

- Problèmes rencontrés lors des séries 1 et 2 :
 - Volume faible
 - Outils mal reposé sur son support

Les réglages machine ont résolu ces problèmes





Conclusion série 1 et 2 :

- Problèmes rencontrés lors des séries 1 et 2 :
 - Volume faible
 - Outils mal reposé sur son support

Les réglages machine ont résolu ces problèmes

- Système de contrôle obligatoire pour l'ensemencement :
 - ☐ Vérification de la présence de l'échantillon dans l'oëse (volume faible)
 - Vérification que l'échantillon est bien présent sur la gélose
 - Vérification que l'échantillon est bien étalé/isolé sur la gélose





Système d'alarme « ensemencement »

Série 3: 131 échantillons

- Système de contrôle installé depuis mi-octobre
- 100 % de corrélation entre la culture PRELUD et la culture manuelle
- Taux d'alarme important :
 - ☐ 40% des boites ensemencées
 - 49% des ECBU passés sur l'automate
 - Alarmes « prélèvement non présent »
 - 26% de l'ensemble des boites ensemencées
 - 53% des alarmes = fausses alertes (vérification du système PRELUD, culture +)
 - 47% alarmes = culture négative PRELUD et manuelle (vrai ou fausse alarme ?)
 - ☐ Alarmes « prélèvement non étalé »
 - 22% de l'ensemble des boites ensemencées
 - 100% des alarmes = fausses alertes (vérification manuelle de la présence de stries sur la boite, culture +)





Système d'alarme « ensemencement »

Série 3: 131 échantillons

- Système de contrôle installé depuis mi-octobre
- 100 % de corrélation entre la culture PRELUD et la culture manuelle
- Taux d'alarme après modification du logiciel :
 - Alarmes « prélèvement non présent »
 - 100% des alarmes : vrai alarmes
 - □ Alarmes « prélèvement non étalé »
 - Non évalué





Bilan essais PRELUD

Points forts	Points à améliorer
1) Sytème de detection de l'ensemencement 2) Diversité d'ensemencement :	1) Solvant imprimante
cone, oëse, boule de trigalski, ecouvillons secs	2) Peu de recul
3) Antibiogramme en milieu gélosé	

Gros potentiel

Machine jeune



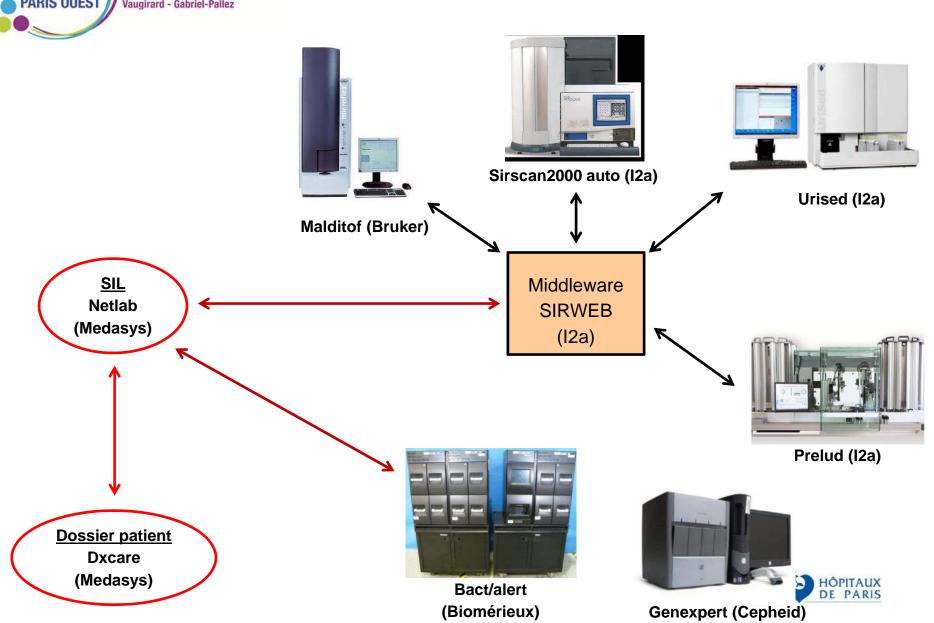






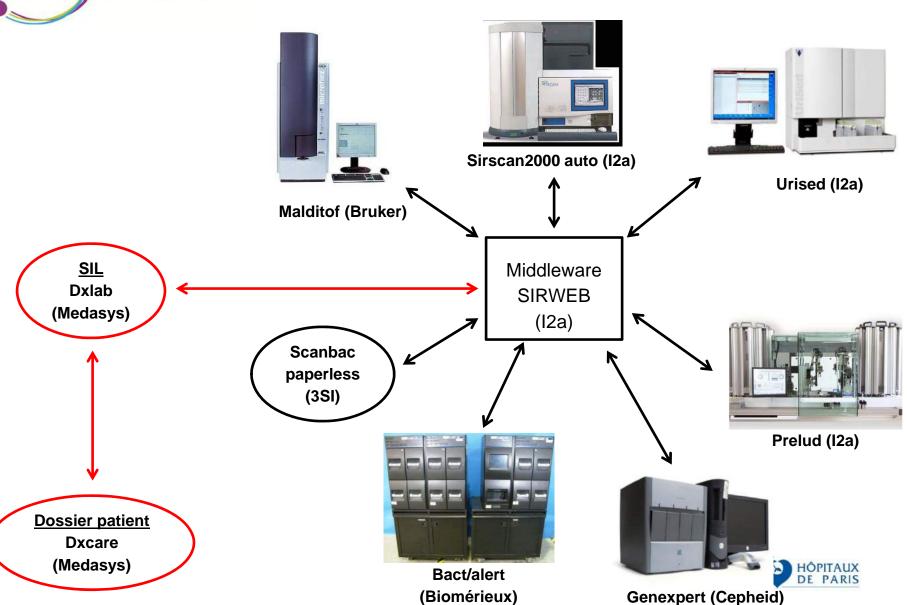


Connexions informatiques aujourd'hui





Connexions informatiques demain





CONCLUSION

- Automatisation : révolution en marche mais pas encore totalement aboutie
- Réflexion globale du traitement d'un échantillon de la réception à la validation du résultat : intégration informatique
- Synergie entre tous les automates
- Effet volume : plus l'activité augmente, plus les économies d'échelle sont importantes





CONCLUSION

- Automatisation : révolution en marche mais pas encore totalement aboutie
- Réflexion globale du traitement d'un échantillon de la réception à la validation du résultat : intégration informatique
- Synergie entre tous les automates
- Effet volume : plus l'activité augmente, plus les économies d'échelle sont importantes

RV dans 1 an : retour sur expérience de l'ensemble des nouvelles installations à l'HEGP

