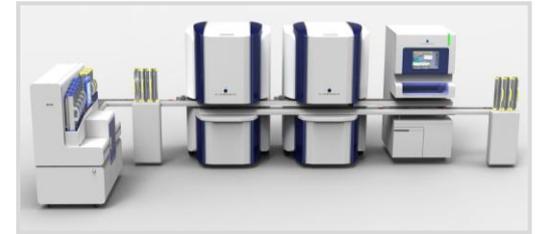


Automatisation des cultures microbiennes Quel cahier des charges ?

**René Courcol
CHU Lille**



Objectifs du cahier des charges

➔ Besoins des microbiologistes pour l'automatisation des cultures microbiennes ?

Pour le patient : évaluer le coût/bénéfice d'un tel système.
réduction du coût analytique.
réduire le délai d'obtention du diagnostic.
mise en place d'un traitement anti-infectieux adapté.

Pour le technicien : renforcer son efficacité.
réduire la variabilité analytique entre opérateurs.
améliorer l'ergonomie du poste de travail (TMS).
améliorer la sécurité biologique.
respect des pratiques professionnelles (accréditation).

Pour le microbiologiste : constitution d'un véritable dossier microbiologique.
dématérialiser les données analytiques.
faciliter l'interprétation.

Introduction du « lean management »

Etape pré-analytique

Points critiques: rythme et modalités d'arrivée des échantillons.
 dimensionnement du système fonction de la période de pointe.

Critères techniques

Diversité des portoirs de chargement des échantillons.

Etiquetage des échantillons et compatibilité des codes-barres.

Traçabilité des contenants.

Nécessité d'un pré-traitement des échantillons.

Détection de l'adéquation entre examens prescrits et échantillons reçus.

Traçabilité des opérateurs.

Niveau de qualification des opérateurs.

Critères qualitatifs

Durée de l'étape de préparation.

Conditions de travail ressenties par le personnel: ergonomie, bruits, déplacements, cadre de travail, sentiment de productivité.

Ensemencement des milieux de cultures

Points critiques: qualité de l'isolement des colonies – étape à haute valeur ajoutée.

Critères techniques relatifs aux milieux de culture

- variété des contenants (dimensions, bouchons).
- nombre et types d'échantillonsensemencés par jour (et la semaine).
- nombre de types de milieux de cultureensemencés.
- traçabilité des lots de milieux de culture.
- gestion des dates de péremption.
- nombre de milieux de culture incubés en aérobiose, anaérobiose, micro-aérophile.
- durée de l'incubation des milieuxensemencés.
- nombre de milieux de culture disponibles en ligne.
- cadence d'ensemencement.
- chargement en continu ou non de l'ensemenceur.
- modalités d'identification des milieuxensemencés en clair (nom, type d'échantillon).

Ensemencement des milieux de cultures

Critères techniques

Echantillons

- nature des échantillons (liquide/solide, volume, écouvillons).
- modalités de chargement des échantillons (flux continu *vs* run).
- agitation des échantillons.
- débouchage-rebouchage des tubes.
- capacité à ensemer des volumes variables.
- contrôle de non-conformité des échantillons (volume, viscosité).

Modalités de l'ensemencement

- mode d'isolement : öse, peigne, bille, écouvillon...
- inoculation de milieux liquides.
- consommables utilisés, coût, volume généré (poids, mode d'élimination).

Tâches associées

- étalement sur lame de verre (avec fixation de l'étalement).
- transfert des lames vers les colorateurs.

Ensemencement des milieux de cultures

Critères techniques

Récupération des milieuxensemencés en sortie de processus

- modalités de récupération des boîtes de Petri ensemencées pour incubation : manuel ou automatique.
- modalités de tri des milieux ensemencés par nature d'atmosphère.

Sécurité biologique

- accès à la zone d'ensemencement.
- filtration de l'air brassé dans l'enceinte (filtres HEPA).
- sources potentielles de contamination.
- bruit généré.
- nettoyage – décontamination.

Ensemencement des milieux de cultures

Critères techniques

Relatifs à la continuité du service

- solution de back-up proposée en cas de panne.
- module utilisable séparément des autres modules de l'industriel.

A prendre en compte

- flexibilité de l'automate : variété des schémas d'ensemencement, des volumesensemencés, souplesse et convivialité de fonctionnement.
- ergonomie du poste de travail.

Ensemencement des milieux de cultures

Critères de qualité

- qualité de l'isolement des colonies.
- facilité de lecture pour établir un dénombrement semi-quantitatif.
- détection de carry-over.
- maintenance : durée, type, fréquence.
- contrôle du dépôt de l'échantillon.
- contrôle de qualité recommandé par l'industriel.
- sensibilité de l'équipement à la contamination inter-échantillon.
- possibilité de raccordement métrologique de la grandeur critique :
volume pipeté; certificats d'étalonnage.
- fréquences et types de pannes/dysfonctionnement (club utilisateurs).
- durée de formation de personnel avant habilitation.
- qualité de la formation: compétence du formateur, support, attestations.

Incubation et lecture des milieux de cultures

Points critiques:- incubation en continu et non par lots.

- réduction des temps morts du/des bras de l'incubateur.
- détection d'une croissance à la surface des milieux de culture en fonction du temps et de la position sur la boîte de Petri.
- durée de l'incubation jusqu'à 5 jours.

Critères techniques

Chargement des étuves

- mode de transfert entre ensementeur et étuve : manuel ou automatique.
- vitesse de chargement.

Modalités d'incubation

- nature des atmosphères disponibles: O₂, CO₂, anaérobiose.
- humidification et réglage de celle-ci dans l'incubateur.
- filtration de l'air brassé (filtres HEPA).
- sens d'incubation des boîtes de Petri.
- facilité d'entretien et de décontamination des incubateurs.

Incubation et lecture des milieux de cultures

Critères techniques

Modalités de lecture des milieux de culture

- vitesse de transfert d'une boîte entre la cellule d'incubation et la cellule de lecture.
- temps de lecture des milieux de culture.
- fréquence de lecture des milieux de cultures.
- caractéristiques de l'image de la surface des boîtes: nombre de pixels, nature des éclairages, capture d'image en 3D, nombre d'images disponible par milieu.
- nombre de boîtes de Petri lues à l'heure.
- nombre de bras pour la gestion des boîtes de Petri.
- algorithme de reconnaissance des colonies de même morphotype.
- capacité à trier les boîtes sans colonies.
- capacité à dénombrer les colonies.
- possibilité à lire les diamètres d'inhibition automatiquement.

Incubation et lecture des milieux de cultures

Critères techniques

Déchargement des boîtes de Petri

- déchargement automatique des milieux de culture considérés comme stériles.

Continuité du service

- solution de back-up proposée par l'industriel.
- module de lecture utilisable pour les tests de sensibilité en milieu gélosé.

Incubation et lecture des milieux de cultures

Critères qualitatifs

- qualité de l'image visualisée sur un écran.
- absence de contamination par l'air circulant dans l'incubateur (*Aspergillus*).
- absence de ruissellement d'eau sur les parois de l'incubateur ou d'eau dans les couvercles des boîtes de Petri.
- absence de dessiccation de la glose après une incubation prolongée.
- modalités de maintenance : durée, type, fréquence.
- contrôle de qualité recommandé par l'industriel.
- possibilité de raccordement métrologique des grandeurs critiques: température, taux de CO₂, cartographie des enceintes
- ergonomie du poste de travail, bruits générés.
- fréquence de pannes/dysfonctionnement des sites installés: délais de résolution de l'incident, types, par exemple. Club utilisateurs.
- durée et qualité de la formation des personnels avant habilitation.

Identification des colonies

Points critiques

Conception difficile de cette étape

- piquage de la colonie.
- dépôt de la colonie pour ID, densité de l'inoculum pour ID+ATB.

L'étape d'identification se décompose en 3 parties:

- (1) détection des colonies à la surface du milieu de culture)associée ou non à la reconnaissance des colonies (sous-étape de vraisemblance);
- (2) identification de la colonie;
- (3) préparation de l'inoculum pour les tests de sensibilité
 - comment atteindre la densité requise ?
 - comment contrôler la pureté de l'inoculum ?

Identification des colonies

Critères techniques

Détection/reconnaissance des colonies

- visualisation 3D des colonies présentes à la surface du milieu gélosé.
- écran tactile pour faciliter le repérage des colonies à identifier.
- mémorisation des coordonnées de la colonie.

Identification des colonies par SM

- mode de piquage des colonies: outil dédié à usage unique ou non, volume prélevé.
- traçabilité des colonies prélevées.
- devenir des boites de Petri à la clôture de l'analyse.

Identification des colonies

Critères techniques

Actions d'aval

- assemblage en un dossier unique des boîtes de Petriensemencées et incubées à différentes atmosphères = dossier patient.
- rappel des images des analyses précédentes (antériorités).

Sécurité biologique

- filtration de l'air brassé dans l'enceinte (filtre HEPA).

Continuité du service

- solutions de back-up proposées par l'industriel en cas de panne.
- module utilisable séparément des autres modules de l'industriel.

Identification des colonies

Critères de qualité

- qualité du piquage des colonies.
- rapidité d'exécution des ordres pour le piquage (puissance informatique).
- présentation automatique des dossiers patients en attente d'identification et modalités de l'ordre de présentation (paramétrable ou non).
- validation des analyses stériles avec visualisation des boîtes de Petri.
- convivialité du logiciel de traitement des images.
- possibilité d'identifier les colonies avec tests de sensibilité simultanés ou différés.
- modalités de maintenance (durée, type, fréquence).
- contrôle de qualité recommandé par l'industriel.
- ergonomie du poste de travail.
- durée de formation des personnels avant habilitation.
- pannes/dysfonctionnements des sites installés : fréquence des appels hot-line, délai moyen de résolution, types de panne, délai moyen entre deux pannes...

Tests de sensibilité aux anti-infectieux

Points critiques

- recommandations des sociétés savantes à prendre en compte
- limitations des options pour les industriels.
- validation de la méthode proposée par l'industriel en regard des recommandations des sociétés savantes: CA-SFM/EUCAST, EUCAST, CLSI...

Tests de sensibilité aux anti-infectieux

Critères techniques

Choix des colonies

- repérage sur écran tactile de la/les colonies à tester avec mémorisation des coordonnées de la/les colonie(s) sur la boîte.
- mode de piquage des colonies : outil dédié, volume prélevé et requis.

Réalisation de l'inoculum

- inoculum commun ou non pour l'identification et les tests de sensibilité
- pré-incubation éventuelle d'un bouillon pour atteindre la densité requise de l'inoculum.
- modalités de réalisation de l'inoculum et de sa qualité
 - nombre de colonies, nombre insuffisant.
 - calibrage de l'inoculum et dilution éventuelle.
 - traçabilité de l'inoculum.
 - contrôle de qualité de l'inoculum: contamination possible, colonies confluentes.

Tests de sensibilité aux anti-infectieux

Critères techniques

Réalisation de l'antibiogramme / antifongogramme

- milieu liquide ou solide
- modalités de conservation et de gestion des réactifs embarqués.
- modalités d'identification des antibiogrammes (boites ou plaques)
- existence d'un système expert et ses capacités d'évolution.

Devenir des boites de Petri à la clôture de l'analyse

- élimination automatique des antibiogramme/antifongogramme.

Sécurité biologique

- filtration de l'air brassé, élimination du matériel contaminé.

Tests de sensibilité aux anti-infectieux

Critères de qualité

- validation de la méthode employée avec la/les méthode(s) de référence
- adaptabilité de la méthode employée aux évolutions des référentiels.
- validation du système expert.
- traçabilité des lots de réactifs employés.
- réduction du délai de réponse par rapport à un antibiogramme « classique ».
- contrôle de qualité recommandé par l'industriel.
- traçabilité des données brutes et interprétées.
- maintenance: durée, type, fréquence.
- durée de formation des personnels avant habilitation.
- pannes/dysfonctionnements des sites installés : fréquence des appels hot-line, délai moyen de résolution, types de panne, délai moyen entre deux pannes...

Informatique du laboratoire

- Distinguer le logiciel de gestion des analyses (données administratives, prescription connectée, rendu des analyses) du logiciel de gestion des automates (middleware).

- Middleware

- ouvert au besoins des microbiologistes.
- gérant tous les automates, quelle que soit la marque.
- convivial.
- flexible et facile d'emploi.
- création d'un dossier patient (avec antécédents).
- validation à distance des analyses (lit du patient).
- utilise un hardware bien dimensionné:
 - temps de réponse rapide.
 - capacité mémoire importante.
 - écrans tactiles.
 - haute définition des images captées et stockées.

Quel choix ?

Actuellement, aucun système ne permet une automatisation complète de la culture.

Le degré d'automatisation est fonction des besoins du microbiologistes.

Etudes médico-économiques indispensables.

Quel intérêt pour le patient, le technicien, le microbiologiste ?

