

Evaluation de l'ensemencement BD-Kiestra Inoqula

B. Lamy

Laboratoire de Bactériologie,
CHU Montpellier



Paris
Journée de Microbiologie clinique
19 Septembre 2014

Ensemencement

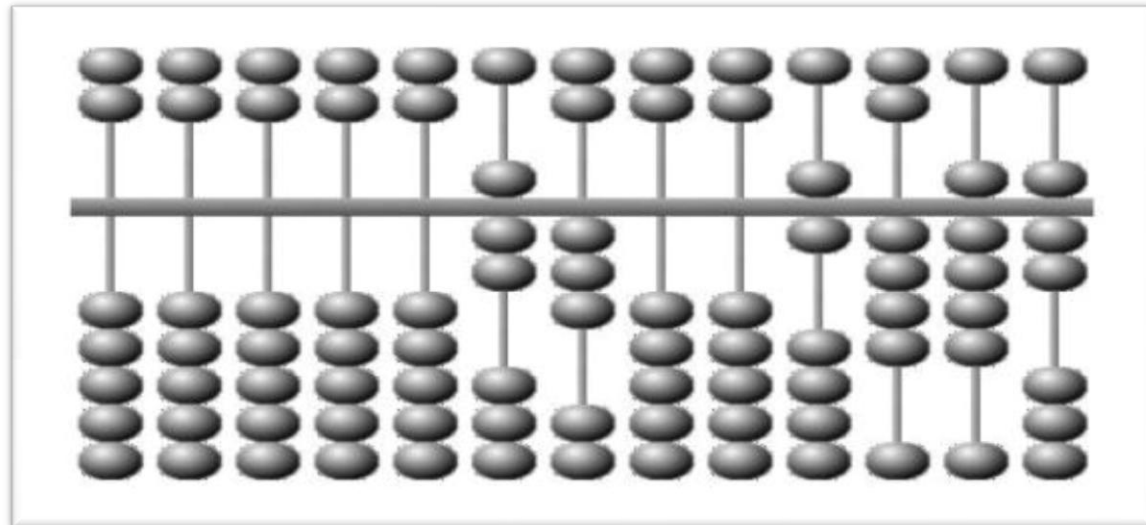
- Phase essentielle examen
- Non évalué
- Pas de méthodologie d'évaluation

Automatisation de l'ensemencement

- " Redécouverte " ou réactualisation de la problématique
- Plusieurs dispositifs
 - Pas, très peu évalués
 - Méthodologie d'évaluation discutable

Exemple

- Article Glasson et al, 2008
 - Critère évalué : Nombre de colonies isolées
 - Indicateur théorique
 - Aucune évaluation de l'impact sur qualité des résultats, routine



Ensemenceur automatisé

Reproductibilité?

Robustesse?

Qualité de l'ensemencement

Vitesse ?

Variabilité de l'ensemencement?

Contamination croisée?

Quelle amélioration par rapport à l'ensemencement manuel ?

Quelle amélioration à l'échelle d'un laboratoire

Questions posées

- Quel écart de qualité par rapport à la méthode manuelle ?
 - Et quelle variabilité?
- Quel impact sur la qualité des résultats d'examen ?
 -avec quelle variabilité?
- Quel impact sur la rapidité d'exécution ?



Modalités d'évaluation questions posées

- Comment définir un isolement de bonne qualité?
 - Approche objective d'un critère subjectif?
- Quel matériel ?
 - Échantillons cliniques ou suspension?
 - Échantillons mono ou polymicrobien?
- Quel comparateur ?
 - Une ou plusieurs techniciennes?



Méthodes

Stratégie d'étude

Outils de mesure

Matériel biologique pour l'évaluation

Plan d'échantillonnage

Score pour apprécier la qualité d'isolement

Suspensions bactériennes

Etude appariée

Score pour quantifier la qualité d'isolement à l'échelle d'une équipe

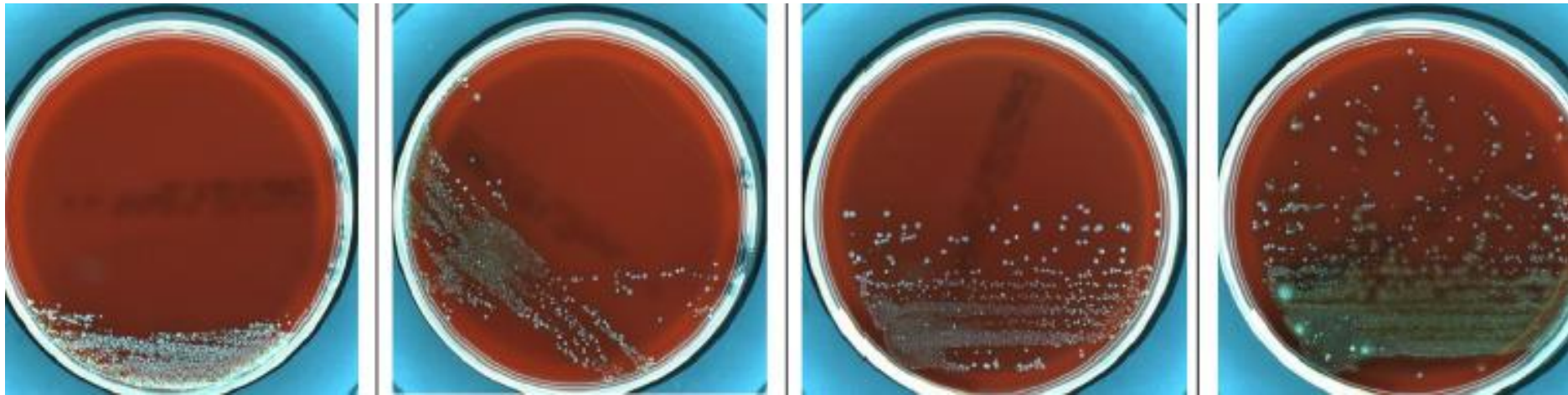
Échantillons cliniques

Estimation des paramètres mesurés
...

...et de leur variabilité




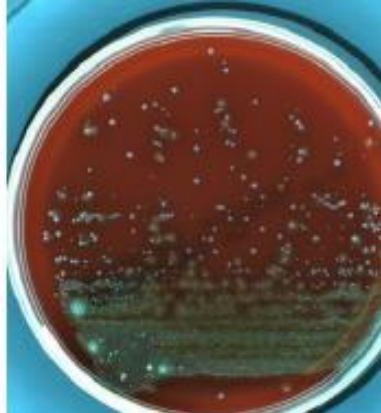
Evaluation de la qualité d'ensemencement

- Subjectif



Evaluation de la qualité d'ensemencement

- Subjectif
- Critère composite intégrant plusieurs critères élémentaires
 - Colonies isolées?
 - Subculture inévitable?
 - Facilité à distinguer tous les types de colonies?
 - Colonies distribuées sur l'ensemble de la gélose?

Score	1 très mauvais	2 médiocre	3 acceptable à bon	4 très bon à excellent
				

Score cumulé normalisé

Automate

Une série :
10 écouvillons

3 x 10
boîtes

30 scores
entre 1 et 4

Score cumulé
normalisé SCN (0-100)

Technicienne 1

$$\Delta_{SCN} = SCN_{Automate} - SCN_{technicienne}$$

15 séries de
10 écouvillons

15 Δ_{SCN}



Distribution de l'écart de qualité d'isolement
au sein du laboratoire



Estimation de l'amélioration de la qualité
d'isolement à l'échelle d'un laboratoire

Stratégie d'étude

Outils de mesure

Matériel biologique pour l'évaluation

Plan d'échantillonnage

Score pour apprécier la qualité d'isolement

Suspensions bactériennes

Etude appariée

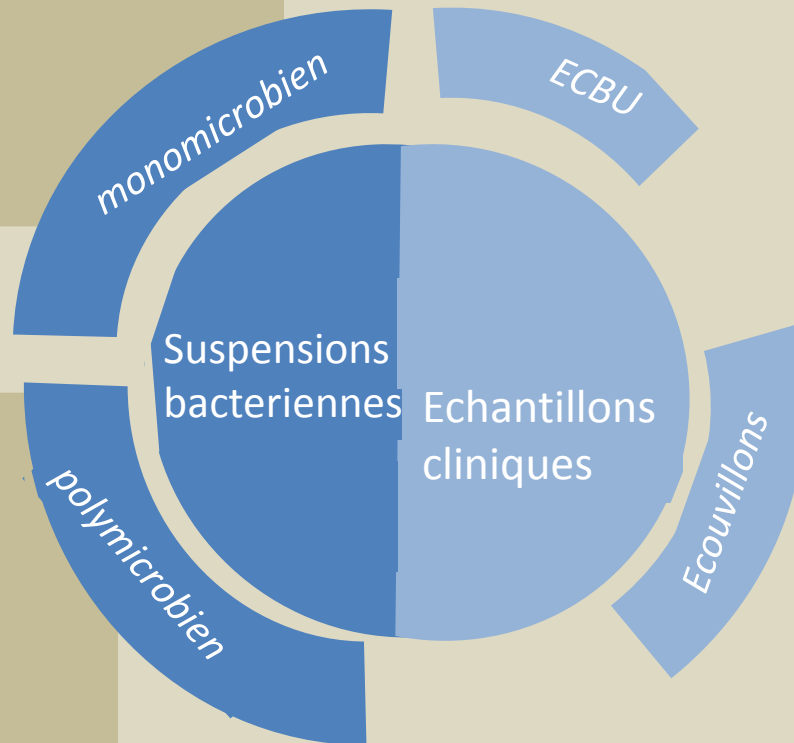
Score pour quantifier la qualité d'isolement à l'échelle d'une équipe

Échantillons cliniques

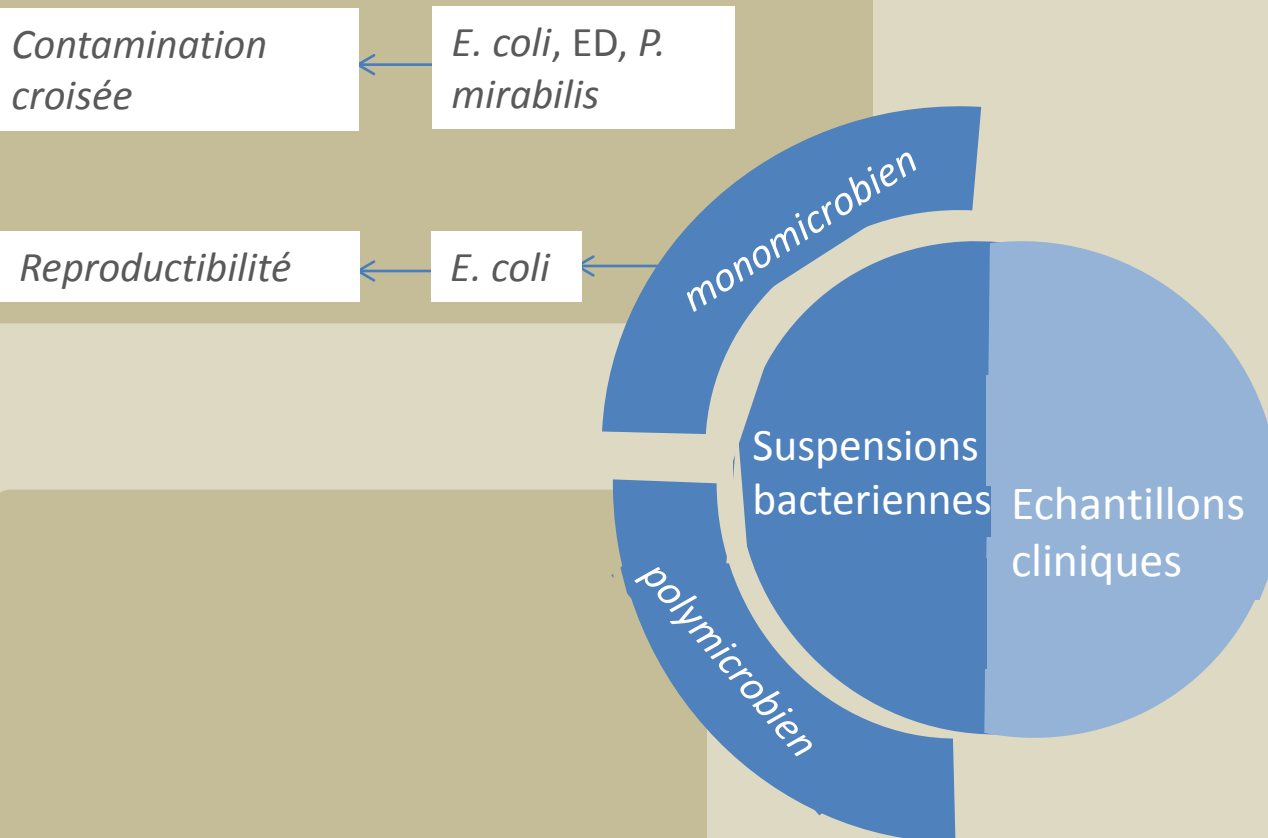
Estimation des paramètres mesurés
...

...et de leur variabilité

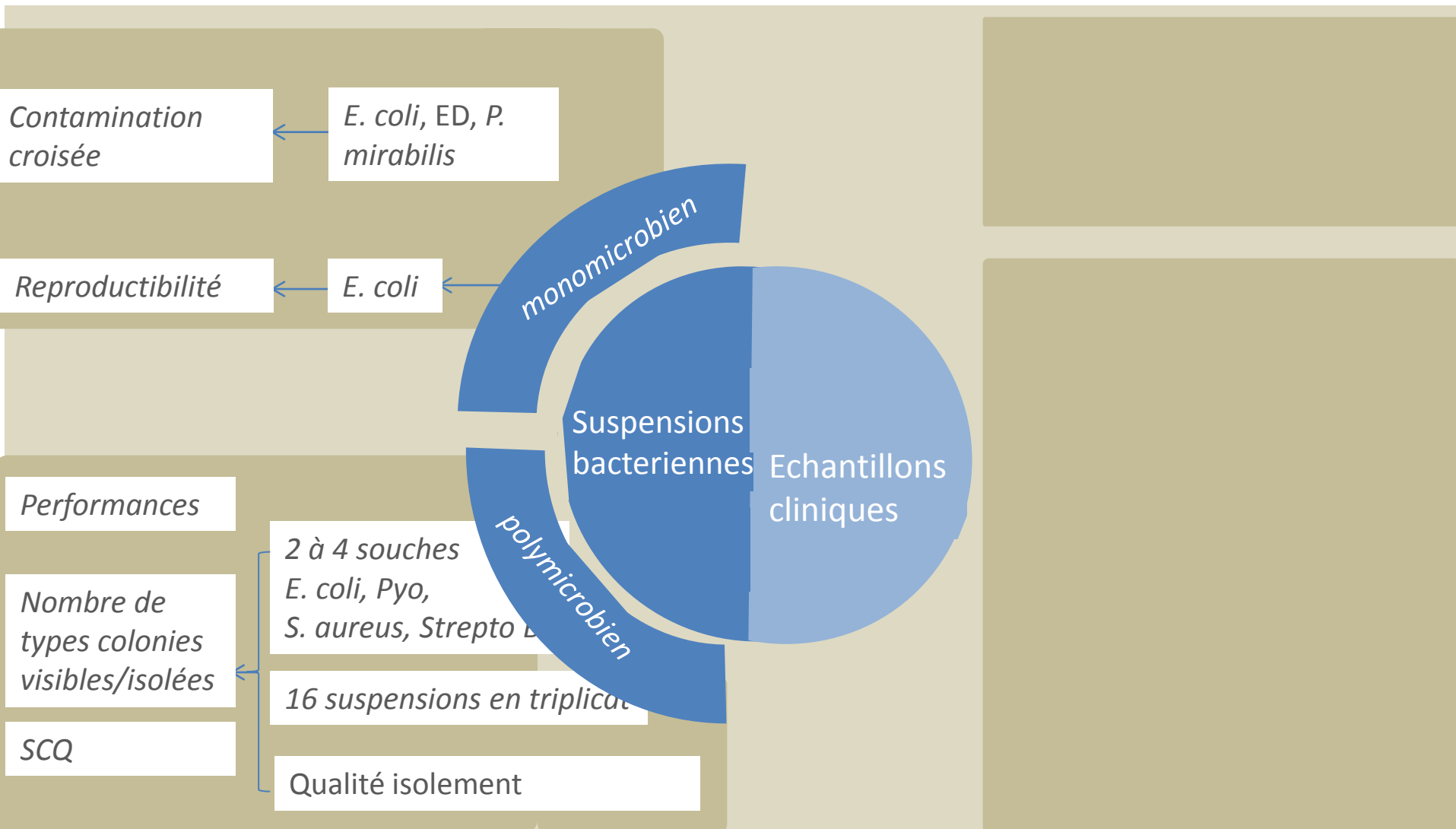
Stratégie d'étude



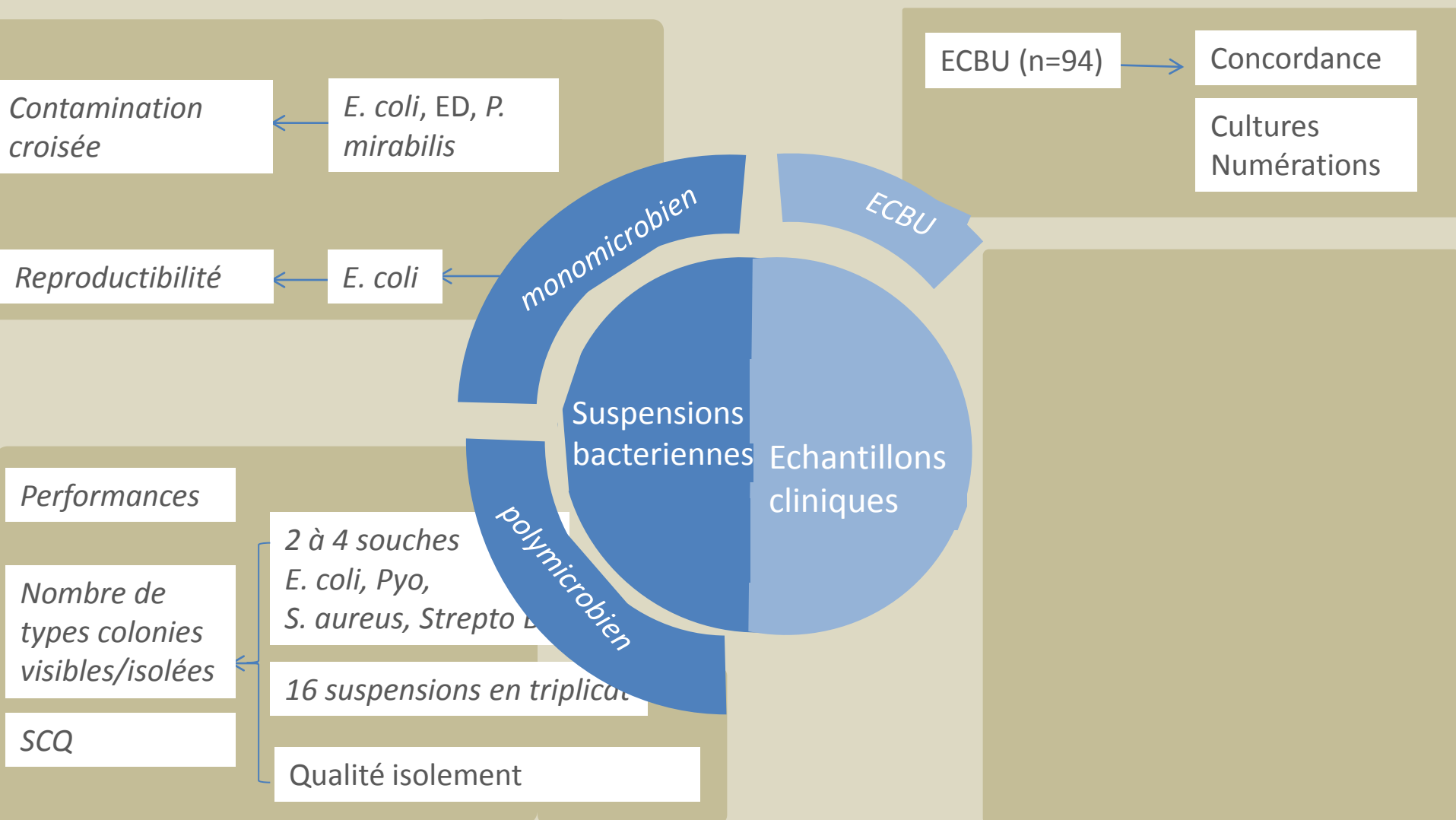
Stratégie d'étude: suspensions monomicrobiennes calibrées



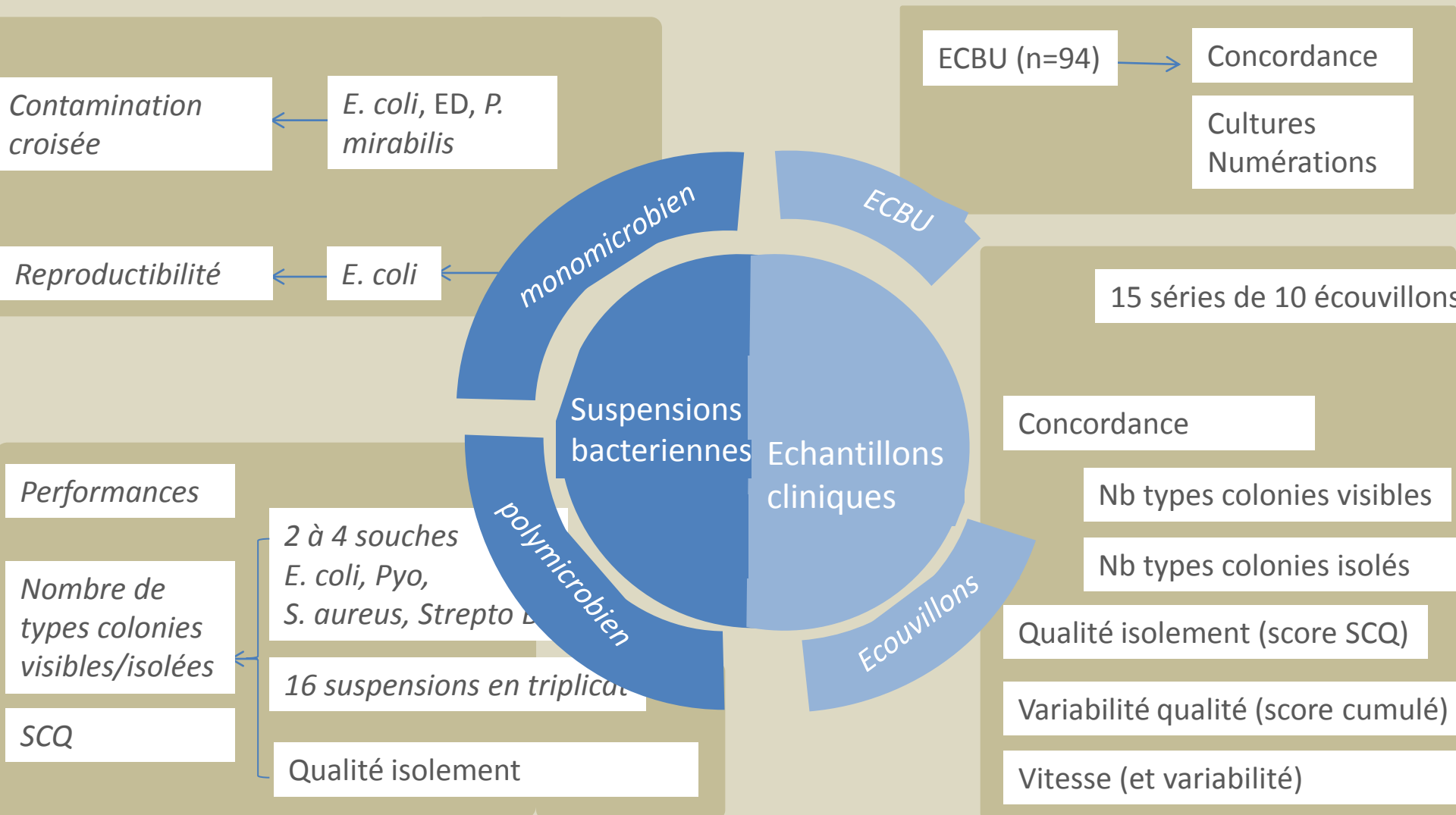
Stratégie d'étude : suspensions polymicrobiennes calibrées



Stratégie d'étude : échantillons cliniques (1)

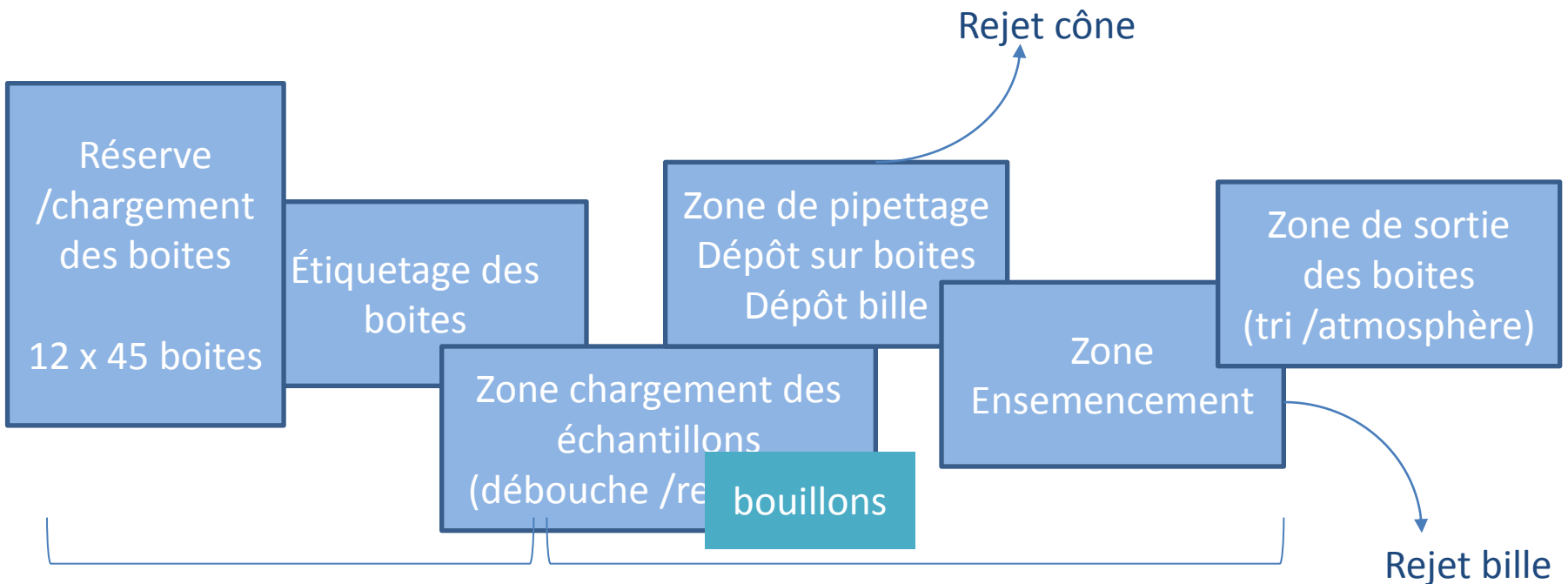


Stratégie d'étude: échantillons cliniques (2)



Résultats

L'automate Inoqula FA / MI



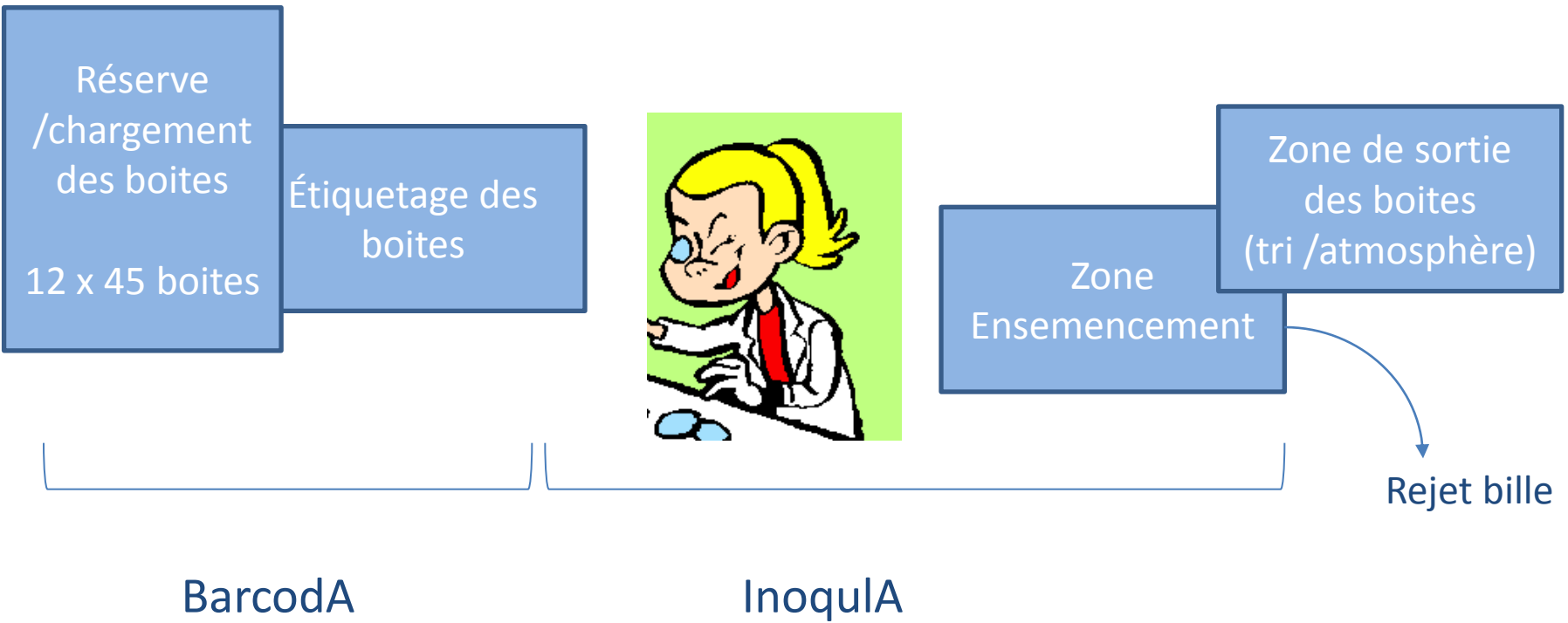
BarcodA

Lots boites
Heure ensemencement
Chargement
Pilote « sample → boites »

Inoqula

Tout ce qui est en lien avec inoculation/
sortie automate
Gestion relations mécaniques /
communication

L'automate Inoqula FA / MI



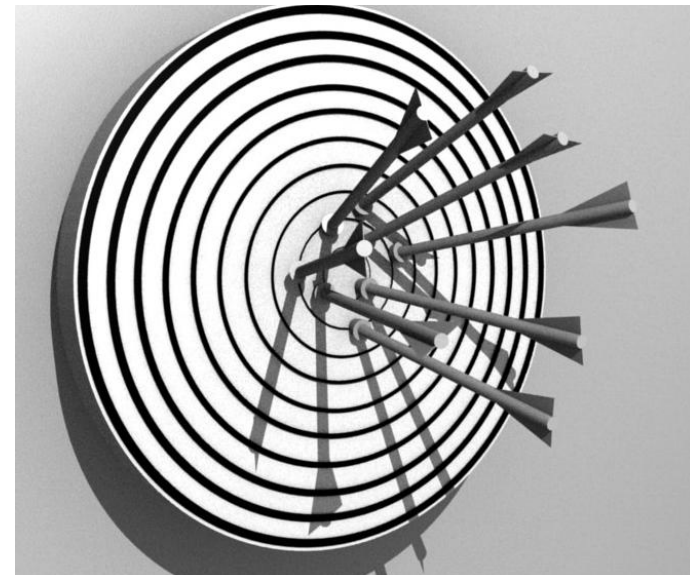
Flexibilité et possibilités

- Milieux de cultures
 - Types de contenants
 - Conditions d'ensemencement (schémas, volumes)
 - Modalités ensemencement des bouillons
-
- Quelques limites

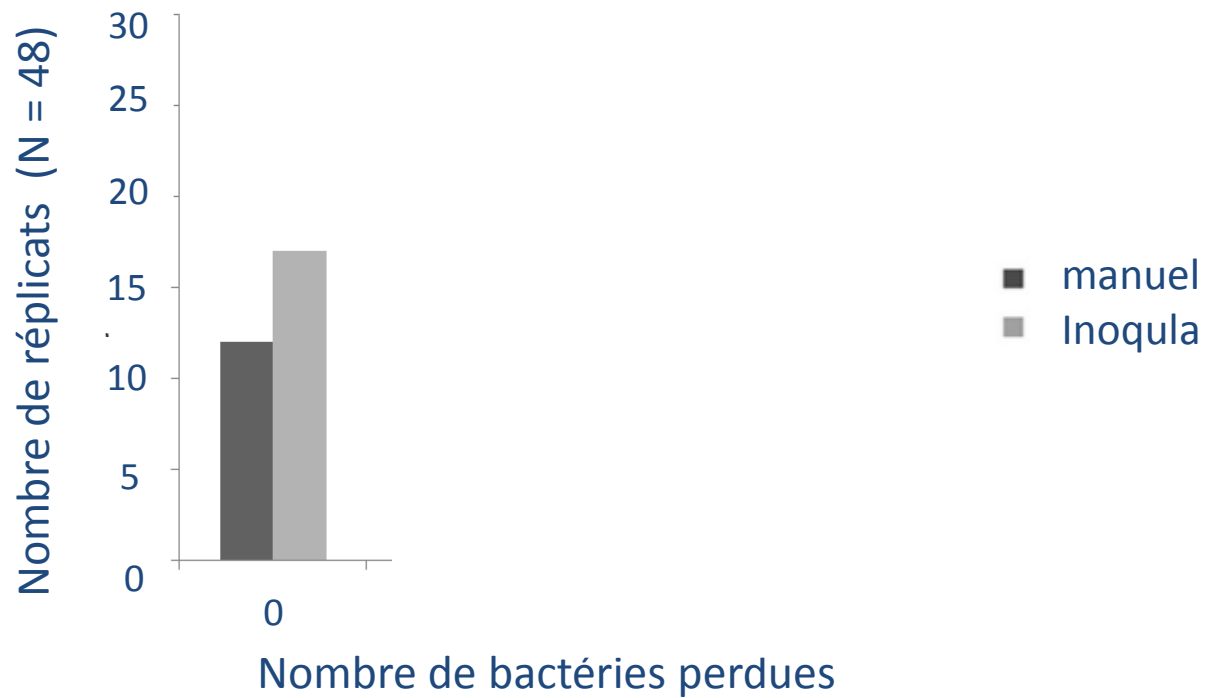


Suspensions monomicrobiennes

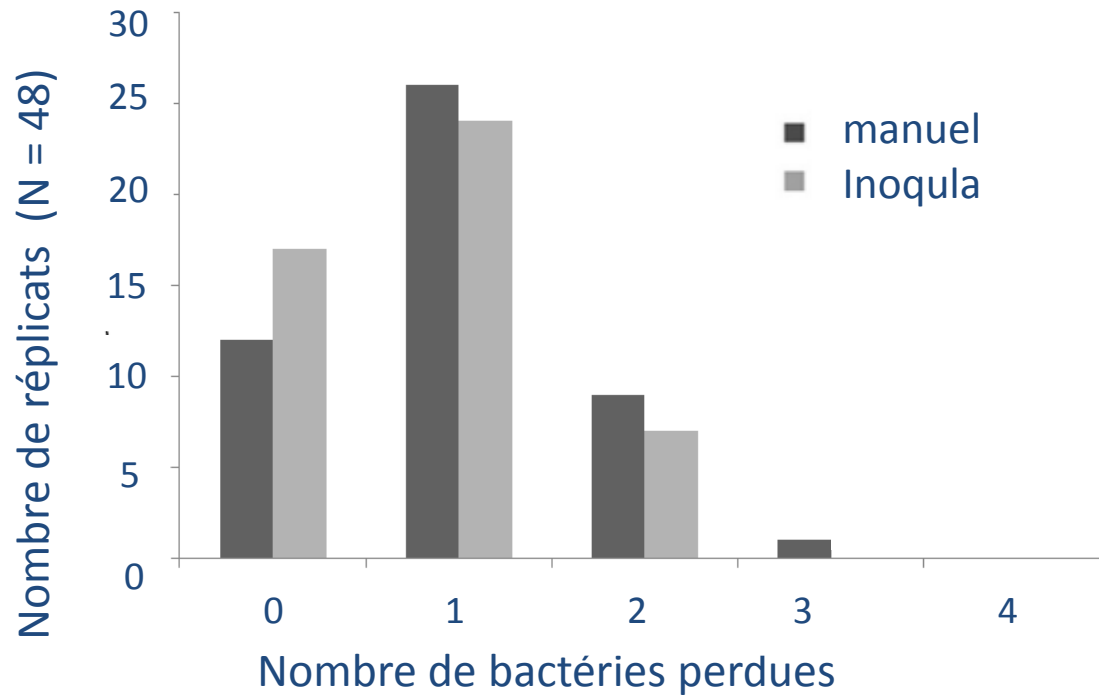
- Contamination croisée : aucune
- Reproductibilité (CV 12 à 30%)
 - 10 μl *E. coli* 10^4 UFC/ml \rightarrow 8-18 colonies /boite
 - 100 μl *E. coli* 10^4 UFC/ml \rightarrow 95-136 colonies /boite



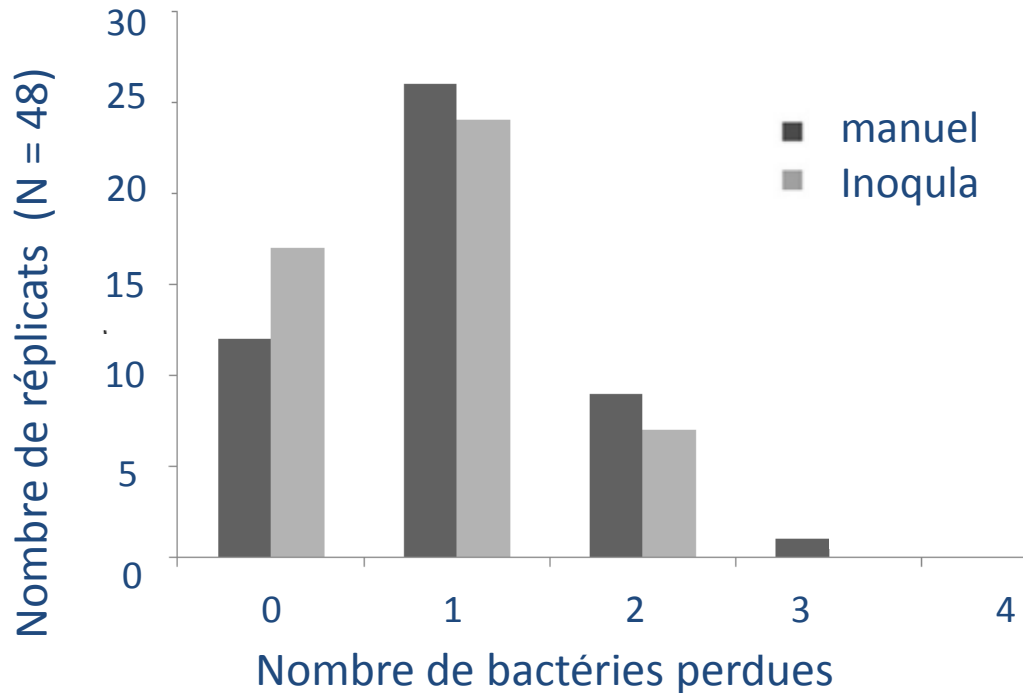
Suspensions polymicrobiennes (1)



Suspensions polymicrobiennes (1)



Suspensions polymicrobiennes (1)



Réplicats

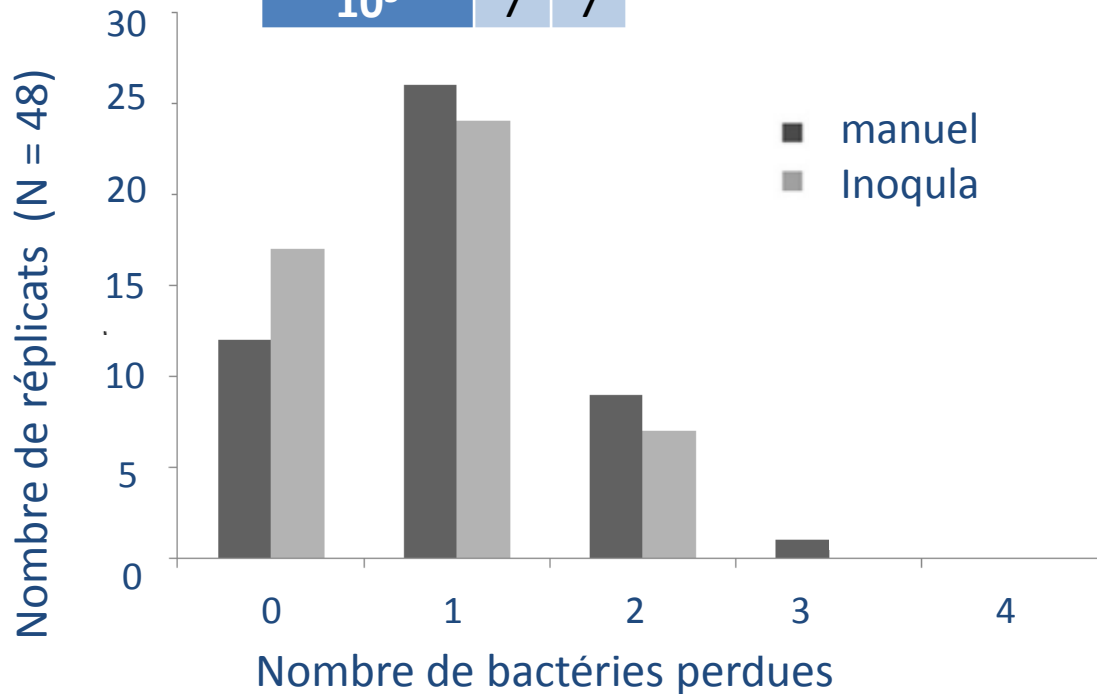
- +10 %
- +14% par rapport à la méthode manuelle

Isolats

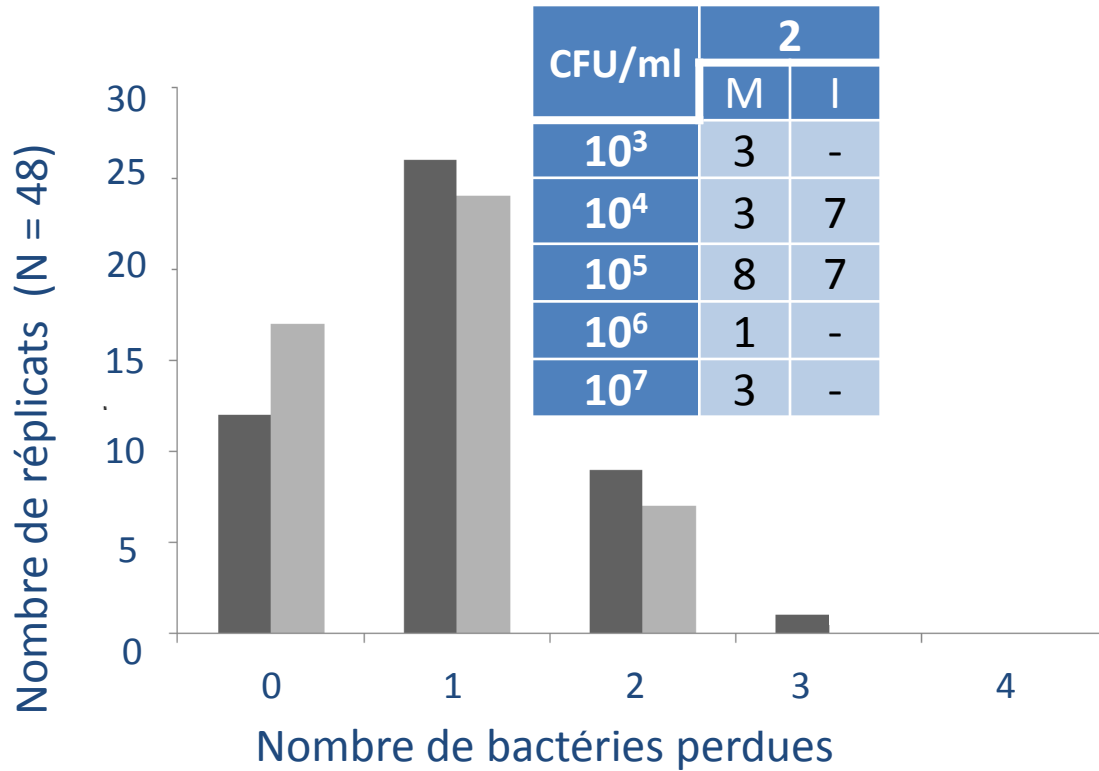
- Défaut de sensibilité
 - Manuel : 32%
 - Inoqula : 26%

Suspensions polymicrobiennes (1)

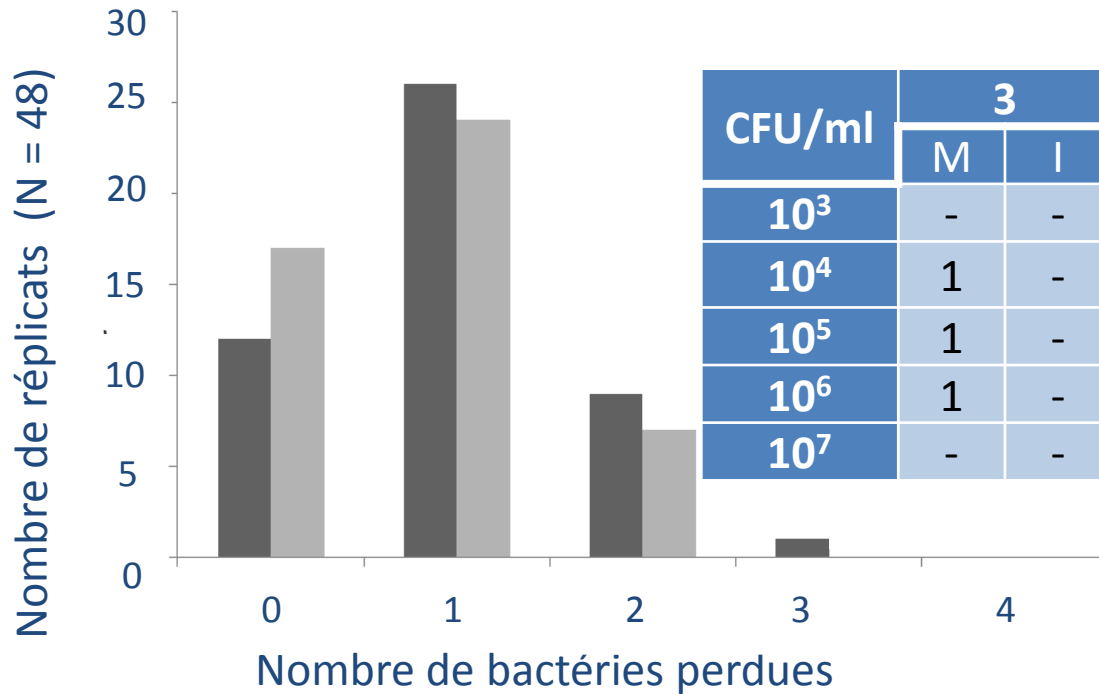
UFC/ml	1	
	M	I
10^3	5	10
10^4	14	7
10^5	7	7



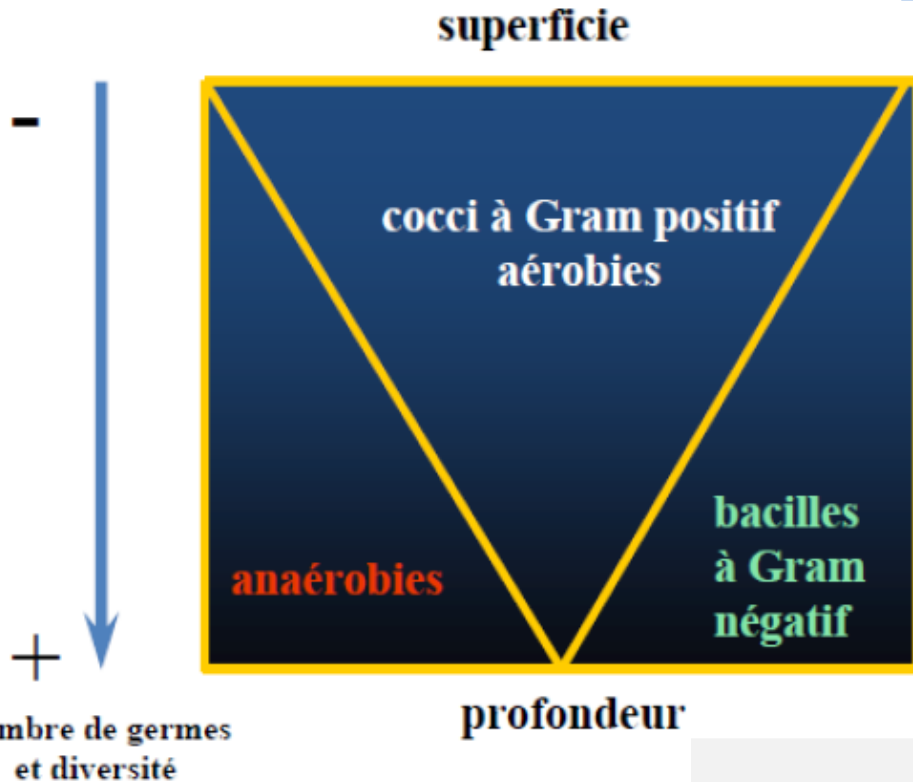
Suspensions polymicrobiennes (1)



Suspensions polymicrobiennes (1)

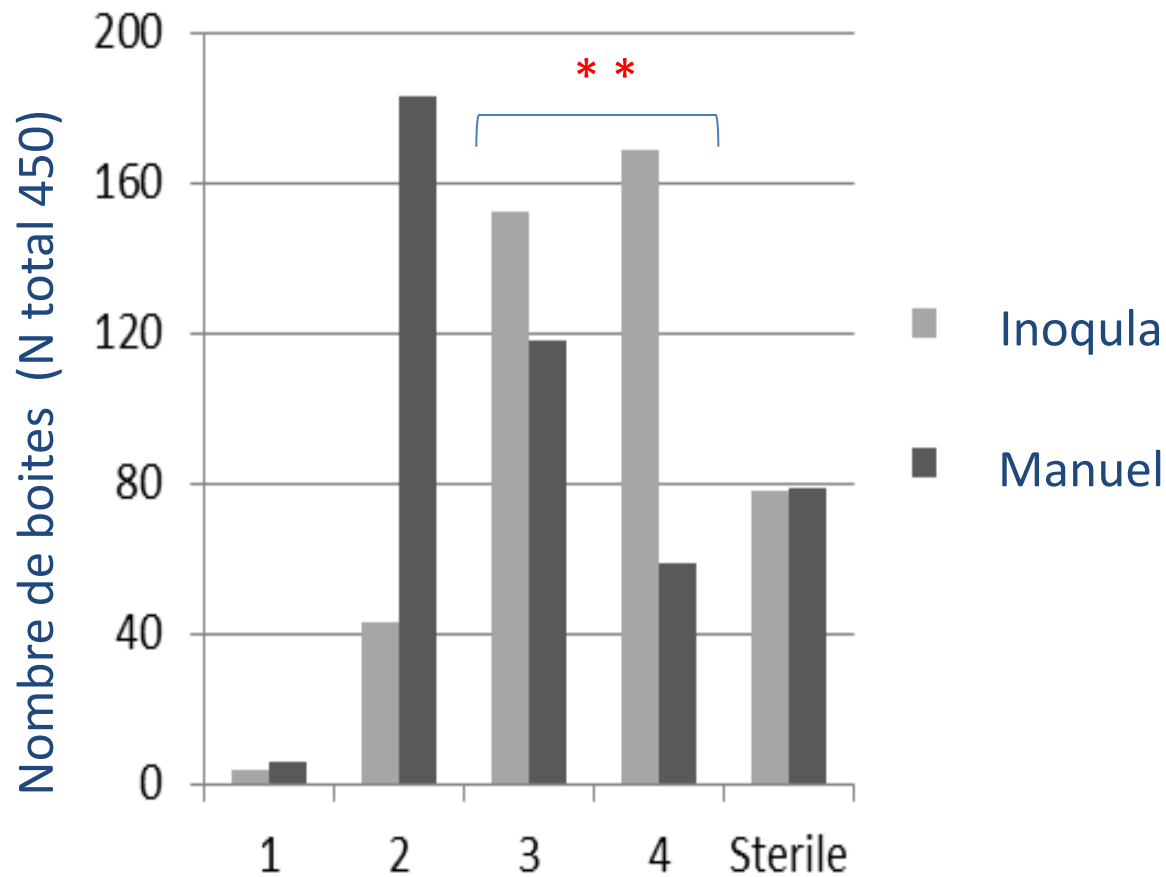


Suspensions polymicrobiennes (1)



UFC/ml	Manuel	Inoqula
$\leq 10^4$	Strepto B: 14 / 15 Pyo: 3 / 9	Strepto B: 9 / 15 Pyo: 6 / 9
10^5	<i>S. aureus</i> : 6 / 18	<i>S. aureus</i> : 3 / 18
$\geq 10^6$	<i>E. coli</i> : 5 / 42	-

Score composite de qualité d'isolement



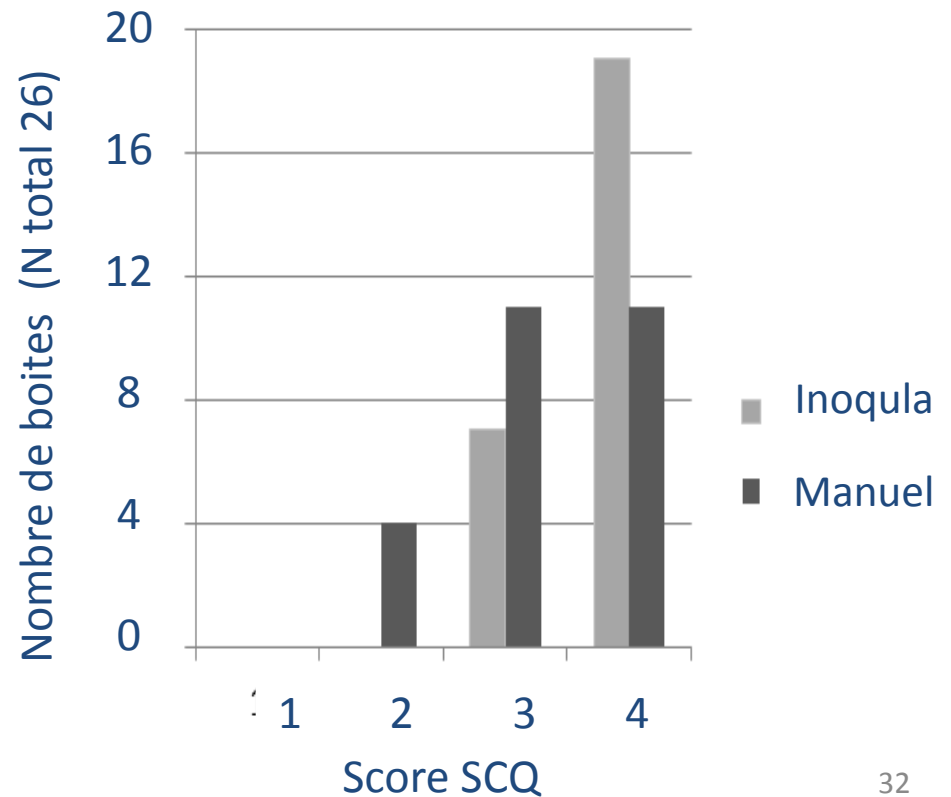
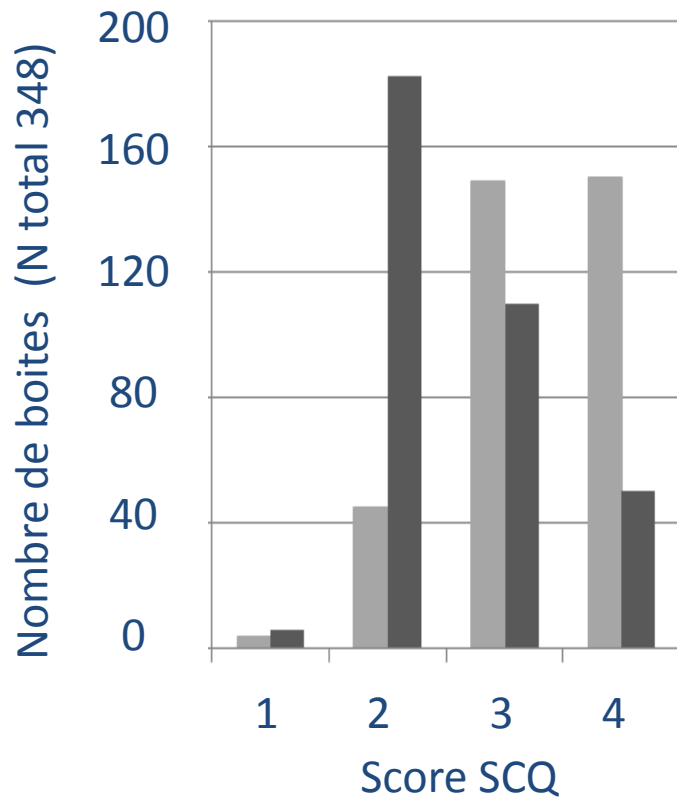
Score composite qualité isolement

Score composite de qualité d'isolement

150 écouvillons

Echantillons polymicrobiens

Echantillons monomicrobiens

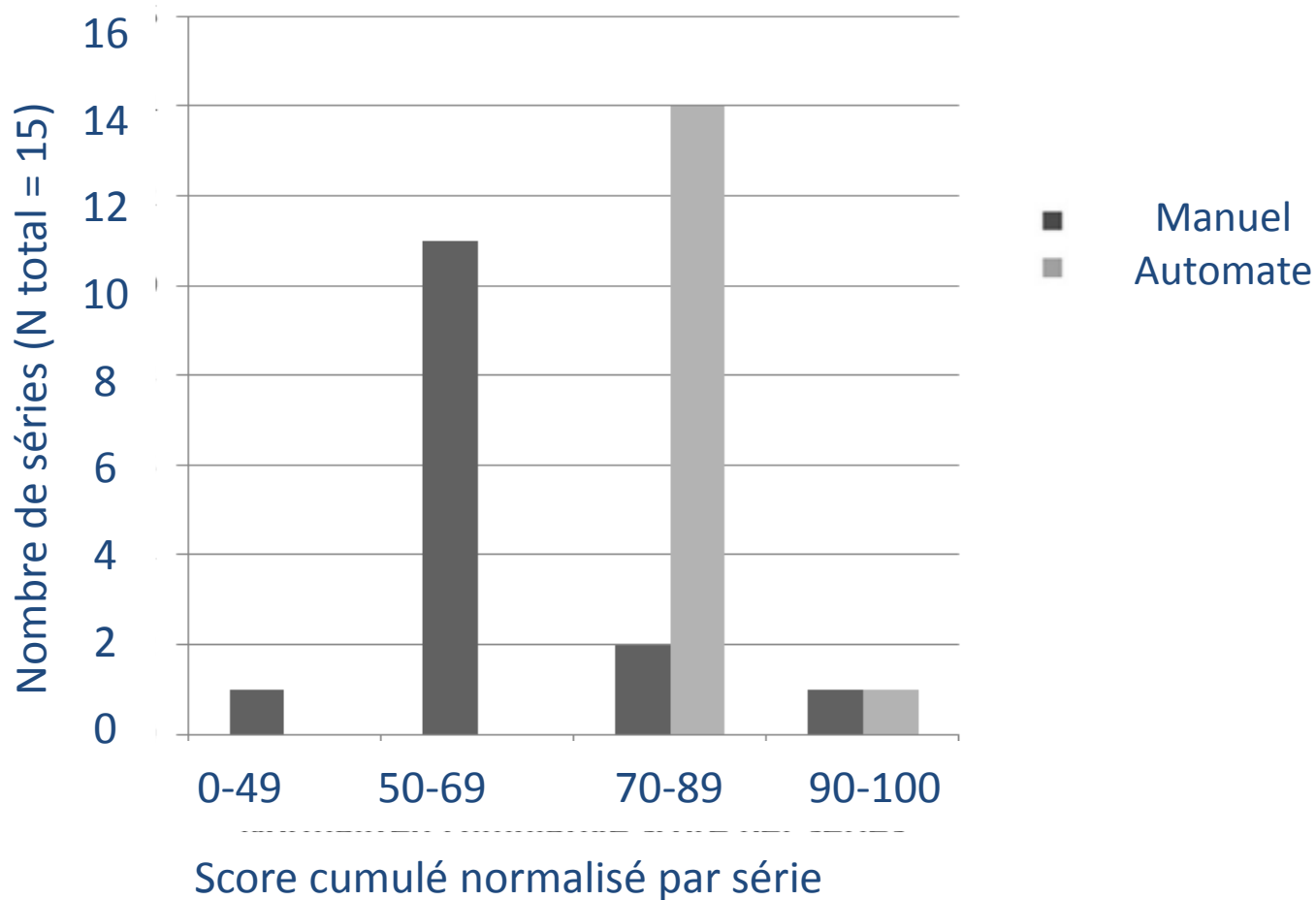


Echantillons cliniques : ECBU

- Concordance : 83%
- Discordances : n=32 boîtes (19 échantillons)
 - max 1 log,
 - Sans conséquence sur l'interprétation
- Tendance à surestimation par méthode manuelle

Inoqula	Manuel							
	-	<10 ³	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	>10 ⁷
-	113	2						
<10 ³	4	13	3					
10 ³		2	13	1				
10 ⁴				5	6			
10 ⁵					3	6		
10 ⁶							7	
10 ⁷							8	1
>10 ⁷								1

Echantillons cliniques : variabilité à l'échelle d'un laboratoire (1)



Echantillons cliniques : vitesse d'ensemencement

Vitesse similaire sur petites séries

Pour 10 écouvillons

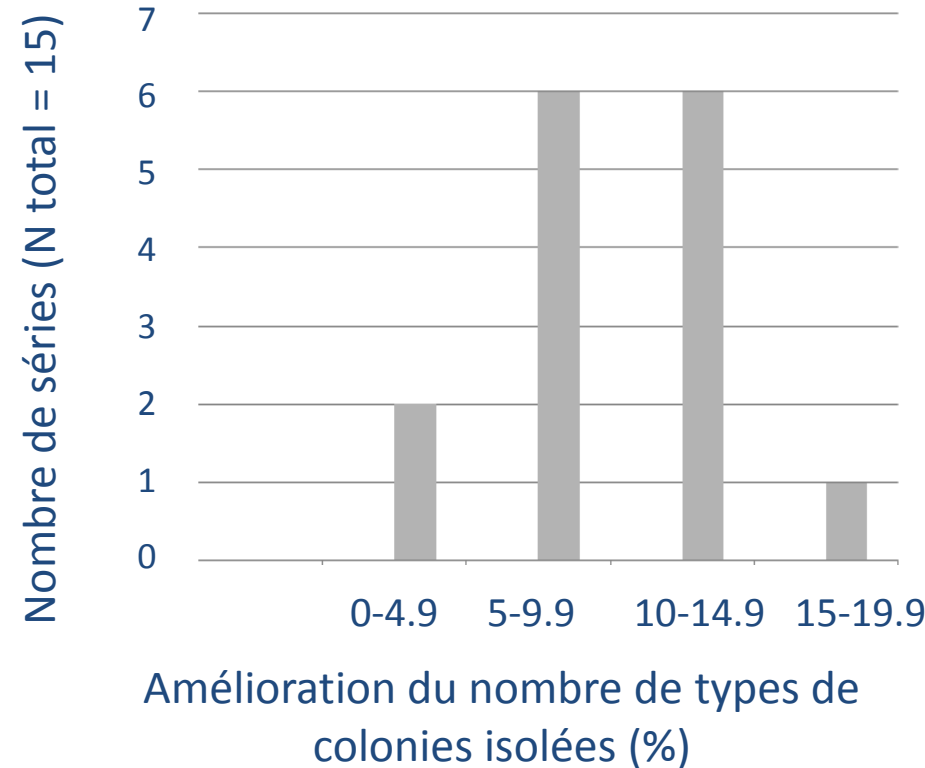
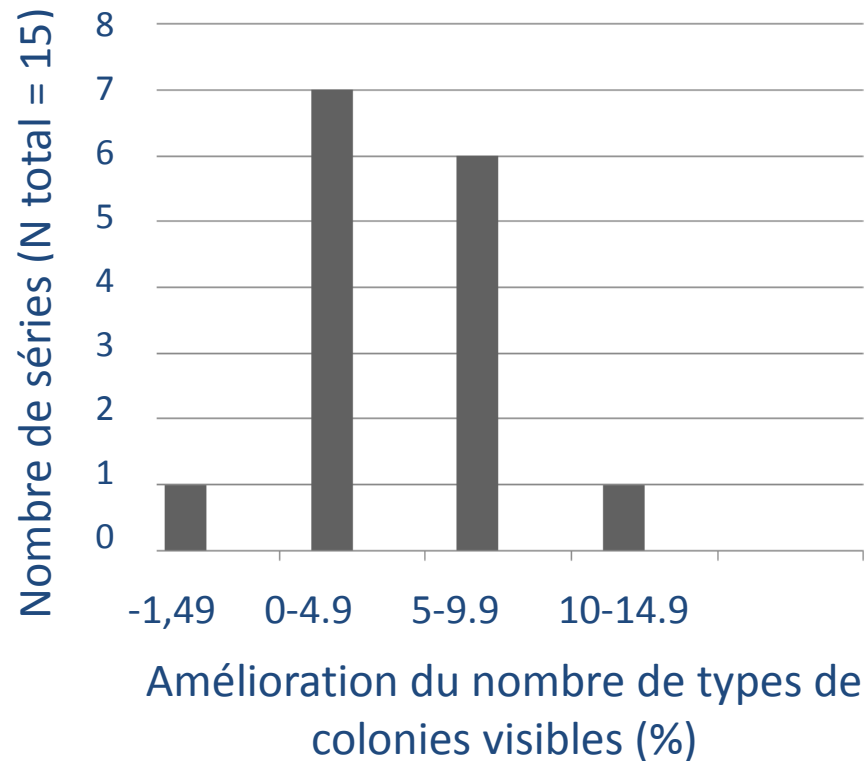
- Automate : 14 minutes
- Techniciennes: 9min 30 à 17min
(médiane 12 min)

Module FA et MI sont exclusifs

Une seule zone d'ensemencement pour 2 modules

Ergonomie MI

Echantillons cliniques : variabilité à l'échelle d'un laboratoire (2)



Conclusions

- Plus de colonies
- Colonies mieux isolées
- Tracabilité améliorée

- Moins de repiquages
 - +++ si couplé au maldiTOF

- Impact majeur de la proportion des échantillons mono/polymicrobiens
- Méthodologie d'évaluation à codifier

- Ca reste cher



Merci de
votre
attention

Remerciements

Pauline Froment
Hélène Marchandin
Philippe Van de Perre