

Automatisation de la bactériologie

Alexandra Leocadie (Ingénieure biomédicale)¹, Philippe Tappie (Ingénieur biomédical)²

- 1. Centre hospitalier de Versailles, 177, rue de Versailles, 78150 Le Chesnay, France
- 2. CHD Vendée, La Roche-sur-Yon, France

Correspondance:

Alexandra Leocadie, Centre hospitalier de Versailles, 177, rue de Versailles, 78150 Le Chesnay, France. aleocadie@qht78sud.fr

objectif de cet article est de donner de la lisibilité au lecteur sur l'automatisation de la bactériologie, en proposant un état de l'art et des retours d'expérience sur les points de vigilance à prendre en compte.

L'inoculation et l'ensemencement des échantillons sur des milieux de culture, notamment des géloses, s'effectue aujour-d'hui encore dans de nombreux établissements par une action humaine relevant de l'expertise et de la dextérité des techniciens de laboratoire pour effectuer cette opération.

La mise en culture dans les incubateurs et l'observation de l'évolution des cultures sont des missions qui sont menées de façon quotidienne par les techniciens de laboratoire pour le suivi avant observations des cultures positives.

La mission est aujourd'hui réalisée via un grand nombre d'équipements (postes de sécurité microbiologiques [PSM], étuves...) et de postes de travail diffusés dans le laboratoire de microbiologie. Cela nécessite en particulier la mise en place d'une organisation complexe et chronophage pour l'équipe du laboratoire.

Les différentes étapes d'un examen de bactériologie sont présentées dans la *figure 1*. L'ensemencement correspond à la première étape de la prise en charge des échantillons (j0). Actuellement, comme expliqué plus haut, les phases du j0 sont toutes manuelles. Les techniciens travaillent sous un PSM où ils sélectionnent et étiquettent les milieux gélosés, mettent en culture les géloses en isolant les colonies en cadrans, réalisent les frottis sur des lames qui sont ensuite colorées.

La traçabilité des géloses s'effectue manuellement sur des feuilles de travail papier, ce qui est chronophage et source d'erreur.

Les enjeux de l'automatisation en microbiologie portent sur la qualité, la traçabilité, la reproductibilité de l'ensemencement, le délai de rendu du résultat au patient et la diminution du risque de contamination inter-échantillons.

Parmi les avantages d'un tel projet, l'automatisation de la bactériologie permet au technicien de gagner du temps, lui permettant de se concentrer sur des tâches dites à plus forte valeur ajoutée.

Le secteur de la microbiologie est parmi les derniers à être automatisé, principalement parce qu'il s'agit d'un domaine particulièrement complexe, par la variété des milieux de culture, des échantillons, et des conditions nécessaires au développement des bactéries. Le modèle économique peut être une cause possible de ce retard : les coûts d'exploitation sont raisonnables car les principaux consommables (les géloses) ne sont pour l'instant par captifs des automates. Ainsi, tout le coût se reporte sur l'investissement, ce qui limite les installations aux établissements avec une bonne capacité d'investissement.



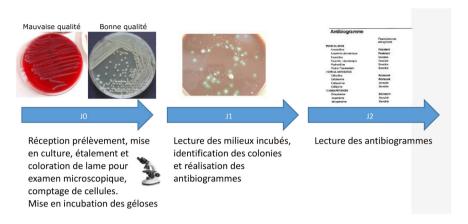


FIGURE 1

Principe d'un examen de bactériologie

L'automatisation en microbiologie s'est accélérée avec la mise en place des GHT, et peut présenter une alternative aux difficultés de recrutement.

L'automatisation en bactériologie prend en charge une grande palette d'échantillons qui va d'un simple prélèvement d'urine (prélèvement majoritaire), à des prélèvements bronchopulmonaires, génitaux, de selles, de sang, pharyngés, auriculaires, sur une variété de milieux de culture solides (les géloses) et liquides (les bouillons). Des prélèvements rares, type ostéoarticulaires peuvent également être pris en charge via un circuit semiautomatisé. Enfin, l'automatisation prend également en charge l'étalement des lames.

Trois sociétés proposent aujourd'hui une solution de chaîne pour l'automatisation de la bactériologie.

La société BECKMAN COULTER distribue la gamme d'ensemenceur DxM Autoplak et élargit son portefeuille avec les incubateurs intelligents AiPlak, tous deux créés et fabriqués par la société SENER. Si l'ensemenceur est commercialisé depuis 2018, la société lance cette année l'étuve intelligente. Les deux équipements sont interconnectés par un convoyeur interne aux appareils, formant la solution Ai5 Lab. L'ensemenceur et l'incubateur peuvent également fonctionner comme des modules totalement autonomes.

L'ensemenceur peut être dédié à la prise en charge des géloses uniquement (modèle Advance) mais peut également gérer les lames et les bouillons (modèle Complete). Les fonctionnalités optionnelles incluent la distribution de disques et l'ensemencement de bi-plate. Il dispose, comme les appareils concurrents, d'un système d'ouverture et fermeture automatique des bouchons, avec la spécificité de pouvoir inoculer également des tubes non bouchés (certains laboratoires ne souhaitant pas refermer l'échantillon après la cytologie urinaire, réduisant ainsi le traitement manuel et les coûts associés).

Le DxM Autoplak peut charger en continu jusqu'à 120 échantillons grâce à ses doubles tiroirs indépendants, pouvant contenir

un mélange de types de tubes/conteneurs. Les pinces du système reconnaissent la couleur et la taille des tubes, différenciant ainsi les échantillons.

Sa capacité de chargement des géloses est de 440 pour 11 types de milieux de culture configurables (carrousels de chargement et déchargement compris), et il offre une cadence allant jusqu'à 105 géloses ensemencées par heure. La technologie SENER d'ensemencement utilise une quadruple oese, réutilisable jusqu'à 3000 fois par oese (l'oese est l'instrument utilisé pour prélever et étaler l'échantillon). Une vérification en sortie de l'ensemenceur permet de confirmer la correspondance entre la gélose produite et l'échantillon initial. La société n'impose pas à ce jour l'utilisation de ses consommables.

Dans sa version actuelle Ai5 Lab, le système permet de placer deux étuves AiPlak de 420 emplacements chacune, à la suite de l'ensemenceur Autoplak. Cette configuration permet à l'Autoplak de charger jusqu'à 960 géloses. Les développements en cours pour 2025 incluent une variante avec 4 incubateurs, pouvant accueillir jusqu'à 1680 géloses. Tous les échantillons sont entièrement numérisés et des algorithmes d'interprétation IA sont disponibles.

La spécificité de la chaîne Ai5 Lab est son encombrement réduit qui permet de la mettre en place dans une zone de 6 m² seulement pour un ensemenceur et deux étuves.

Ensuite, la société BECTON DICKINSON propose une chaîne automatisée BD KiestraTM entièrement modulaire (flexible et évolutive) puisque chaque équipement peut être installé et utilisé indépendamment des autres, ensemenceur et étuves intelligentes, sont alors en format « Stand Alone ». Elle est composée d'un ensemenceur BD KiestraTM InoquIA, d'une étuve intelligente BD KiestraTM ReadA, d'un convoyeur et du système informatique BD SynapsysTM.

À la suite du rachat de la société Kiestra en 2012, Becton détient la maîtrise de l'évolution de la solution dans son ensemble.



L'ensemenceur BD KiestraTM InoqulA dispose d'une capacité de chargement très importante, puisqu'il intègre jusqu'à 16 types de géloses différentes, pour un total de 812 boites en entrée. Il peut prendre en charge jusqu'à 180 échantillons (dans le cas des urines) sur 4 portoirs de chargement indépendants et accessible en continu, pour une cadence d'ensemencement allant jusqu'à 220 géloses par heure (110 en monoboite). Ses platines d'ensemencement indépendantes lui permettent de prendre en charge jusqu'à 4 ensemencements de gélose en parallèle pour un même échantillon.

L'ensemenceur dispose également d'une solution d'ensemencement semi-automatisée permettant la gestion des prélèvements non liquides sous un PSM. Le prétraitement éventuel de l'échantillon est fait sous le PSM en question par le technicien, qui dépose ensuite le prélèvement sur la gélose l'étalement de l'échantillon sur la gélose est géré automatiquement par l'ensemenceur. D'autre part, un piqueur de colonies BD KiestraTM IdentifA est proposé en option, permettant la préparation automatique des plaques d'identification MALDI TOF pour les automates de la société BRUKER à intégrer ensuite manuellement dans le spectromètre de masse.

La société met en avant un risque de contamination maîtrisé grâce au prélèvement global avec embout à usage unique (qui va ensuite alimenter l'ensemble des milieux de culture prévus par le protocole de prise en charge de l'échantillon), et un ensemencement sur gélose fermée, grâce à sa technologie de bille roulante à usage unique. L'étalement se fait sur boite fermée, par électromagnétisme entre la bille et un aimant placé en dessous de la boite. Les étuves intelligentes BD Kiestra™ ReadA ont une capacité de chargement de 1152 géloses par étuve. Les images sont prises par une caméra d'une précision de 25 Méga Pixels, télécentrique, et la gestion de l'image fait l'objet d'un brevet spécifique qui consiste à reconstituer une photographie optimale à partir de 22 photographies prises par le système à partir de trois sources lumineuses différentes. Les stations de lecture et de repiquage BD KiestraTM ergonomicA peuvent être connectées au convoyeur afin d'économiser les déplacements des techniciens, gagner du temps et standardiser les pratiques.

L'accès aux données de l'extérieur est facilité par un lien Web grâce à la solution informatique BD SynapsysTM, permettant de faire de la télébactériologie, de gérer et de traiter les systèmes et les données sur place et à distance. Deux applications d'imagerie digitales marquées CE IVDR sont disponibles pour les analyses d'urine et les MRSA (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline). Pour ces deux types d'analyses, en fonction du paramétrage souhaité par les opérateurs, le logiciel est à même de prendre la décision de jeter les géloses négatives et croissances non significatives, sans passer par la validation d'un opérateur. Cette fonctionnalité implique l'utilisation des milieux de culture Becton Dickinson.

Enfin, la société BIOMERIEUX distribue une solution pré-analytique automatisée fabriquée par la société COPAN, composée d'un ensemenceur automatisé WASP avec un carrousel de 9 silos de 42 géloses soit 378 géloses avec 3 types d'oeses 1, 10, 30 microlitres pour ensemencer des volumes variables d'échantillons avec de nombreux schémas optimisant un isolement de qualité. Les prises d'échantillons sont validées par une caméra. Il existe un module optionnel de préparation des lames, Slide Prep EVO, qui réalise un étalement standardisé de qualité. Il existe également un module d'enrichissement des bouillons. La société BIOMERIEUX complète son offre d'automatisation avec des étuves intelligentes WASP LAB. Les incubateurs peuvent être dédiés à une atmosphère aérobie (0₂) ou une atmosphère CO₂. Les incubateurs disposent de 2 capacités, les incubateurs simples avec 795 boîtes et les doubles avec 1590 boîtes.

Le lien entre la solution WASP et la solution WASP LAB s'effectue par le biais de modules de convoyage ajustables en nombre, en fonction des contraintes spatiales de laboratoire et également par une solution informatique embarquée le WASPLAB User Interface (WebApp).

Les stations de lecture ne sont pas reliées à un convoyeur et peuvent être installées à distance de la chaîne automatisée, dans une pièce plus calme pour interpréter les géloses.

La solution BIOMERIEUX possède un logiciel d'intelligence artificielle PHENOMATRIX® IA apportant un gain de temps au technicien et renforçant la standardisation de l'interprétation (grande reproductibilité). Notamment l'IA couplée à un système expert à règle interconnecté aux résultats du SIL (cytologie, gram, données démographiques patients) assure une lecture et un tri plus rapide des boîtes en fonction de la numération, de la couleur et morphologie des colonies, suivant un algorithme décisionnel mis en place par le biologiste.

Les incubateurs permettent l'incubation et l'imagerie (via une caméra de 27 Méga Pixels, haute résolution) de l'ensemble de géloses provenant du WASP (ensemenceur) ou ensemencées sur les stations manuelles. Il est possible de faire sortir des incubateurs les géloses sur demande. PHENOMATRIX IA permet de visualiser les échantillons par groupes homogènes d'interprétation. Avec PHENOMATRIX IA, toute la liste des géloses d'un même groupe homogène sont mises à la poubelle sur un clic et sans intervention physique sur les géloses. Sans PhenoMATRIX, l'opérateur met à la poubelle sur un clic les géloses de chaque échantillon et doit recommencer à chaque échantillon, sans action physique sur les géloses.

Les géloses positives, après validation de lecture sont quant à elle stockées dans un carrousel de sortie de chaîne possédant 10 colonnes de 40 géloses pour les trier en fonction de l'analyse ultérieure à effectuer : identification, antibiogramme, repiquage... L'IA PHENOMATRIX trie aussi les échantillons positifs et c'est même un des avantages de prioriser les actions sur les échantillons d'intérêt qui doivent être pris en charge en priorité, dans un souci de qualité des soins.

Il existe un module de Picking, appelé le « Colibri ». Le COLIBRI est distinct de la chaîne et de l'incubateur. Les géloses doivent



Tableau I

Prérequis d'implantation

Société	BECKMAN COULTER			BECTON DICKINSON			BIOMERIEUX		
	Ensemenceur	Étuve intelligente	Informatique	Ensemenceur	Étuve intelligente	Informatique	Ensemenceur	Étuve intelligente	Informatique
Modèle	DxM Autoplak	DxM Aiplak	Ai Module, informatique interne à l'automate	KIESTRA INOQUIA	Kiestra ReadA	Kiestra™ System Control Unit (serveur)	WASP	WASPLab	WEB APP & WASP Core
Poids à vide	500 kg	À déterminer	NA	1406 kg	900 kg (1), 1600 (2), 2300 (3)	262 kg	588 kg	619 kg	NA
Dégagement calorifique	4761 BTU/h	À déterminer	NA	3400 BTU/h	Valeurs max : 4200 BTU/h (1), 7300 BTU/h (2), 10 500 BTU/h (3)	3750 BTU/h	3000 BTU	Incubateur double 11 090 BTU, Incubateur simple 8603 Btu	Serveur Wasplab 6790 BTU
Températures min et max tolérées	15 °C à 30 °C (26 °C à 2500 m d'altitude)	15 °C à 30 °C (26 °C à 2500 m d'altitude)	NA	18 - 27 °C	18-27 °C	10-28 °C	5-40 °C	5 °C/32 °C	Serveur Wasplab 5 °C/32 °C
Encombrement au sol et en hauteur	185 \times 92 \times 200 cm (long \times larg \times hteur)	200 × 95 × 230	NA	410 × 93 × 235 cm (long × larg × hteur) prévoir 80 cm autour pour les maintenances hteur mini 278 cm	258,2 × 233 × 228,6 cm (1) 358,2 × 233 × 228,6 cm (2) 458,2 × 233 × 228,6 cm (3) prévoir 80 cm autour pour les maintenances hteur mini 278 cm	75 × 113 × 101,5 cm (long × larg × hteur)	933 mm w × 1925 mm l × 1960 mm h & 328 kg/ m ²	- Imageur : P 1213 mm × L 375 mm × H 1971 mm - Incubateur simple : P 830 mm × L 1120 mm × H 2313 mm - Incubateur double : P 830 mm × L 1738 mm × H 2313 mm	Serveur Wasplab : 810 mmL × 1020 mm P × 1970 mm H
Caractéristiques de l'alimentation électrique nécessaire	240 VAC ; ~ 10A AC 1 PH 50-60 Hz Puissance maximale à 1100 VA max Puissance moyenne : 600 VA	240 VAC ; ~ 10A AC 1 PH 50-60 Hz	NA	208-240 VAC, 50/60 Hz puissance élec : 1000 W	208~240 V AC 16A, 50/ 60 Hz puissance électrique 1350 W (1), 2380 W (2), 3400 W (3)	208-240 Vac 50-60 Hz 2× group 16 A puissance élec : 1100 W	208/240 Vac, 50/60 Hz, 1500 W max (peak) mono phase 1500 W max	208/240 Vac, 50/60 Hz, 2750 W max (peak) mono phase Ligne dédiée avec interrupteur différentiel 300 MA class A	Serveur Wasplab : 208/ 240 Vac, 50/60 Hz, 3500 W max (peak) mono phase Ligne dédiée avec interrupteur différentiel 300 MA class A
Contraintes spécifique de l'air comprimé nécessaire (pression, qualité)	NA	NA	NA	Pression d'air en entrée : min 6 bar	Pression d'air en entrée : min 6 bar	NA	NA robots électriques exclusivement	NA	NA
Contraintes spécifique du CO ₂ nécessaire (pression, qualité)	NA	À déterminer	NA	NA	Consommation 50 L/h	NA	NA	Pression 2 bars max, consommation : Incubateur simple 7 kg/ mois Incubateur double 14 kg/ mois	NA
Caractéristiques informatiques	1 RJ45	1 RJ45	NA	1 RJ45	1 RJ45	1 RJ 45 Non virtualisable à ce jour	NA	NA	Non virtualisable, caractéristiques Physiques ci-dessus
IA	AliModules			Kiestra ^{IM} Optis : algorithme de lecture de l'image Synapsys : solution informatique, traçabilité et organisation du travail Les applications d'imagerie digitales B0 utilisent des algorithmes basés sur de l'intelligence artificielle nous avons 2 applications digitales BD Kiestra Urine culture application et MRSA Application				PhenoMATRIX	
Nombre de maintenance préventive annuelle	2	2	NA	2	2	NA	2	2	1 comprise dans la maintenance des incubateurs
Durée de la maintenance préventive	4 h	4 h	NA	1/2 journée, en général tôt le matin ou en fin de journée	1/2 j/étuve, en général tôt le matin ou en fin de journée	NA	4 h	½ journée	NA
MARQUAGE CE IVDR	Oui	Oui	NA	Oui	Oui	NA	Oui	Oui	Oui

NA : non applicable.



être récupérées sur le carrousel de sortie de la chaîne et chargées sur le carrousel d'entrée du COLIBRI. Quand le COLIBRI sera relié par un convoyeur à la chaîne, les boites iront en automatique de l'un à l'autre.

L'IA PHENOMATRIX fonctionne par options qui sont cumulables : PhenoMATRIX Essential (ECBU), PhenoMATRIX Select (BMR, dépistages), PhenoMATRIX TAG (cerclage automatique des colonies d'intérêt pour ECBU notamment), PhenoMATRIX 12H, PhenoMATRIX multi-boites et prochainement en 2025 : PhenoMATRIX Plus (auto-release des positifs/négatifs ou les 2), les géloses seront alors interprétées automatiquement et sortiront de la chaîne sans intervention humaine.

La gestion de projet demande l'implication, dès le début du projet, de l'équipe travaux dans la prise en compte des contraintes d'implantation et d'environnement. Les prérequis d'implantation sont récapitulés dans le *tableau I*.

Il est nécessaire, d'autre part, d'impliquer dès le commencement du projet, la direction du système d'information (service informatique), afin de mesurer le phasage temporel et la faisabilité de connexion de la chaîne automatisée au système d'information et en particulier à la prescription informatisée. Il faut prendre en compte notamment la nécessité de mettre en place un serveur de sauvegarde correctement dimensionné (non virtualisable pour certaines sociétés), ainsi que le temps nécessaire au paramétrage du système pour le connecter au système informatique en place. L'automatisation de la bactériologie peut, de prime abord, entraîner la suppression des équipements de type PSM et étuves. Il faut néanmoins avoir une vision à plus long terme et sur toute la durée de vie de la chaîne. En effet, en cas de maintenance préventive ou curative, il est nécessaire de maintenir une activité dégradée manuelle, avec a minima des PSM et des étuves (02 et CO2). Ce parc est donc plutôt à redimensionner. Lors d'un déménagement ou d'un renouvellement contraint en termes d'espace, il faut prendre en compte une période de remplacement et paramétrage d'une nouvelle chaîne pendant une durée d'1 à 2 mois (jusqu'à 6 mois en cas de changement de société), nécessitant de déplacer ponctuellement l'activité en mode dégradé et manuel (prévoir également PSM et étuves de secours).

Les étuves intelligentes ne prennent pas en charge la création d'un environnement anaérobie, il reste donc nécessaire de conserver un circuit de prise en charge adapté.

Les innovations en cours de développement chez les différents industriels se porte sur différents versants :

- l'orientation vers la suite logique de la chaîne vers l'identification et l'antibiogramme, qui reste aujourd'hui déconnectée;
- la poursuite du développement des algorithmes des logiciels d'intelligence artificielle qui tend à concentrer et optimiser le travail des biologistes sur les géloses positives

Déclaration de liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

