

La bactériologie connaît aussi sa révolution technologique

G. Praz, L. Tissières Lovey, Hôpital du Valais (RSV) - Institut Central (ICHV), Sion

Introduction

Le diagnostic microbiologique des maladies infectieuses a connu un développement considérable, durant ces dernières années. Grâce aux progrès technologiques, la biologie moléculaire est entrée dans la routine depuis quelques années. Son apport a été considérable, en permettant de mettre en évidence, de façon rapide, des micro-organismes non-cultivables ou alors à croissance très lente.

A de rares exceptions près, la bactériologie a peu bénéficié de ces nouvelles technologies coûteuses et peu adaptées à la très grande majorité des examens effectués dans la routine d'un laboratoire de Microbiologie.

La première étape consiste toujours en une mise en culture afin d'obtenir, sur différents milieux, les colonies de germes à identifier. Cette première étape, incompressible prend un jour.

Ce n'est qu'après que commence l'identification qui prend à quelques exceptions près entre 6 et 36 heures, voire nettement davantage pour des infections polymicrobiennes.

Malgré ces contraintes, des innovations technologiques récentes permettent de diminuer de façon très impressionnante ce délai.

Voici un exemple qui illustre bien cette véritable révolution technologique :

Un patient diabétique, hospitalisé pour une infection grave du pied, subit le jour même un premier débridement chirurgical. Le frottis parvient au laboratoire en fin de journée. L'examen direct met en évidence une flore mixte. Dès le lendemain matin vers 11h00, le laboratoire confirme une infection polymicrobienne due à *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* et *Serratia marcescens*.

Habituellement, un tel prélèvement nécessite un ou plusieurs repiquages pour isoler les différentes colonies et identifier les différentes espèces. Avec les méthodes traditionnelles le temps nécessaire pour arriver à un tel résultat est 48 à 96 heures.

Un tel gain de temps est possible grâce à une véritable révolution technologique pour l'ensemencement automatisé des échantillons cliniques et pour l'identification, par spectrométrie de masse, en quelques minutes, des microorganismes à partir d'une colonie sur une gélose.

1. Ensemencement automatisé des échantillons cliniques

Cette technologie a évidemment été développée pour sa rapidité. Elle permet, théoriquement, d'ensemencer environ 180 plaques à l'heure. Elle améliore également de façon très importante la qualité de l'ensemencement [1]. La figure ci-dessous (Fig. 1) montre deux plaques, l'une ensemencée à la main (à droite) et l'autre par l'automate (à gauche), après une nuit d'incubation. Sur la plaque ensemencée par l'automate les colonies sont bien individualisées et peuvent être immédiatement prélevées pour une identification par spectrométrie de masse.

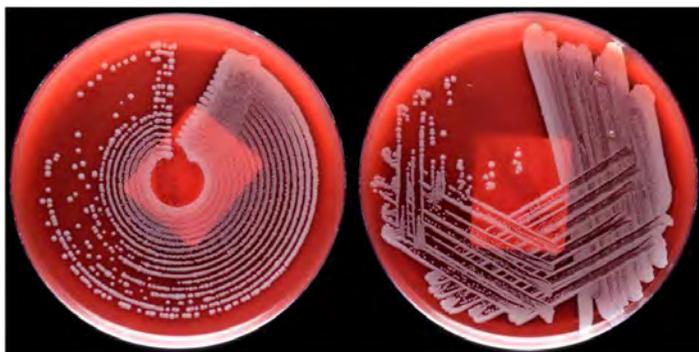


Fig. 1: Plaques ensemencées à la main (à droite) et par l'automate (à gauche)

2. Identification des micro-organismes par spectrométrie de masse

Cette technologie, appelée "MALDI-TOF MS" (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight-Mass Spectrometry), constitue une vraie révolution en bactériologie [2].

Elle est basée sur le fait que la multitude des composants d'un micro-organisme est spécifique à l'espèce. Le principe est donc de désintégrer les micro-organismes et de recueillir leurs différents composants sous forme d'un spectre, qui constitue une sorte d'empreinte digitale du microorganisme (Fig. 2). Ce spectre est ensuite identifié, par comparaison à ceux des différentes espèces figurant dans une base de données. Tout ce processus se fait en quelques minutes avec une fiabilité redoutable [3].

Nous avons comparé cette technique à la méthode traditionnelle avec près de 1000 souches. Plus de 90 % des micro-organismes les plus fréquemment isolés sont ainsi identifiés correctement à l'espèce.

Coûts

Contrairement à toutes les nouvelles technologies utilisées le MALDI-TOF n'augmente pas les coûts. Au contraire, il les diminue de façon considérable. On estime qu'une identification par cette méthode est environ 10 fois moins chère qu'avec les méthodes traditionnelles (Fr. 1 vs 10) pour un investissement de base du même ordre de grandeur et une capacité très nettement supérieure, en raison de la rapidité des identifications (quelques minutes versus 5 à 24 heures). Théoriquement, une centaine d'identifications peuvent être faites en moins de 3 heures.

Cette technologie fiable, peu coûteuse et facile à utiliser constitue une vraie révolution pour le diagnostic microbiologique des infections.

Elle est également utilisable pour l'identification des mycobactéries, des champignons ou des dermatophytes. Enfin elle offre d'intéressantes perspectives de développement pour la détermination rapide de la résistance aux antibiotiques, de la mise en évidence de facteurs de virulence ou encore en épidémiologie.

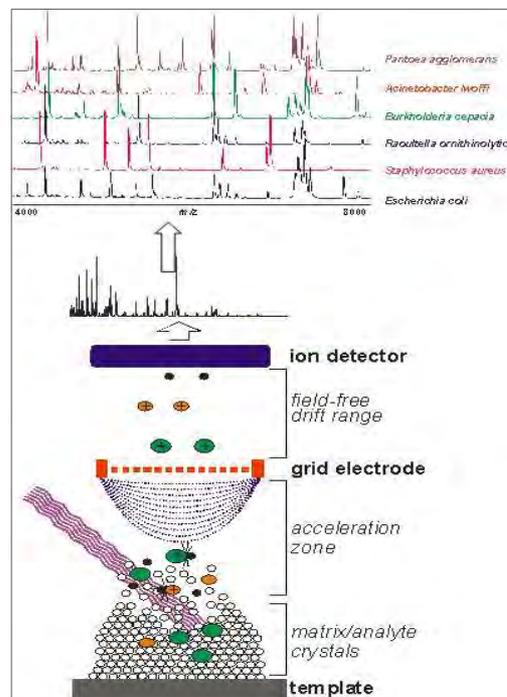


Fig. 2: Principe du MALDI-TOF : désintégration - ionisation, accélération, séparation, détection, identification

Conclusions

Ces deux nouvelles technologies, intégrées de façon harmonieuse dans le contexte global du diagnostic microbiologique, permettent de gagner un temps considérable pour l'identification des micro-organismes responsables d'infections. Ce gain de temps facilite, dans de nombreux cas, une meilleure prise en charge de certaines infections graves. En effet, même en l'absence d'antibiogramme, l'antibiothérapie peut être optimisée selon les espèces mises en évidence.

Références

- [1] Rice F, Baruch A, Microbiology Department et al. Evaluation of bioMérieux's PREVI™ Isola., an Automated Microbiology Specimen Processor : Improving Efficiency and Quality of Results. ASM General Meeting 2009; C-06-4.
- [2] Bizzini A, Greub G. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, a revolution in clinical microbial identification. Clin Microbiol Infect 2010; 16:1614-1619.
- [3] Cherkaoui A, Hibbs J, Emonet St et al. Comparison of two Matrix-Assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification of routine identification of bacteria to the species level. Journal of Clinical Microbiology, Apr. 2010; 1169-1175.

Personnes de contact

Dr Gérard Praz
Lysiane Tissières Lovey

gerard.praz@hopitalvs.ch
lysiane.tissieres@hopitalvs.ch