

Le diagnostic microbiologique: toujours plus rapide

S. Emonet, M. Eyer, L. Tissières Lovey, Institut Central des Hôpitaux, Hôpital du Valais, Sion

Le formidable développement de la médecine avec l'avènement des greffes, des chimiothérapies et des immunothérapies a rendu notre population de patients plus vulnérable aux infections. Pendant longtemps, nous avons pu traiter nos patients avec des antimicrobiens à large spectre sans risque de «rater la cible», et adapter notre traitement aux résultats de l'analyse microbiologique, quand ces derniers étaient enfin disponibles.

L'émergence et la dissémination rapide de pathogènes multirésistants (MDR) parallèlement au manque d'intérêt commercial au développement de nouveaux antimicrobiens rend impossible la poursuite de cette approche. Afin d'éviter une ère « post-antibiotique » de la médecine, des programmes de gestion des antimicrobiens (« antimicrobial stewardship » - AMS) ont été intensivement développés au cours de la dernière décennie dans les hôpitaux [1]. Cependant, pour pouvoir choisir un traitement ciblé, le clinicien a besoin d'un diagnostic microbiologique rapide et fiable.

Malheureusement, les bactéries sont des êtres vivants et prennent entre 24 et 72h pour croître sur les géloses de sang. Une journée de plus était nécessaire pour l'identification sur la base des sucres consommés et des enzymes produites par la bactérie. L'antibiogramme, traditionnellement réalisé en faisant croître les bactéries en présence de divers antibiotiques à diverses concentrations, demande encore 16-24h supplémentaires. Au total, il y a 10 ans, il fallait encore 3-6 jours entre le prélèvement et le moment où le médecin obtient une réponse « utilisable ». Un délai inacceptable pour l'AMS puisque cela va forcer le médecin à faire un traitement « à l'aveugle » avec des antibiotiques de large spectre.

Heureusement, le diagnostic microbiologique a subi une véritable révolution moléculaire durant cette dernière décennie avec l'avènement de la spectrométrie de masse (MALDI-TOF MS) [2], qui permet d'identifier une bactérie présente en culture en 1-2 min au lieu de 24h-48h, et la simplification des outils de détectations de l'ADN bactérien et viral par PCR permettant un diagnostic microbiologique en général 1-2h après le prélèvement, puisque l'on évite ainsi le transport vers le laboratoire et le temps de culture. L'automatisation des cultures, présente en Suisse depuis à peine 1-2 années, permet la détection continue des cultures positives avec un gain potentiel de 24h supplémentaires pour le rendu des résultats [3].

L'automatisation des cultures en bactériologie : de quoi parle-t-on ?

Jusqu'à récemment, l'automatisation était « réservée » à la chimie, l'hématologie, et l'immunologie (sérologies), domaines dans lesquels le type de spécimen reçu varie peu (sang, urine, liquides corporels) et où les procédures nécessaires à l'analyse se prêtaient plus facilement à une standardisation. En bactériologie, il est question de prélèvements de toutes sortes, autant liquides que solides, venant de n'importe quelle partie du corps. Il s'agit de faire croître des être vivants nécessitant des milieux et conditions de culture différents selon le type de germe recherché. Enfin, il faut une expertise humaine très spécifique pour choisir les colonies à identifier par MALDI-TOF MS au milieu de la flore commensale souvent présente en plus sur les plaques de pétri. On comprend dès lors la difficulté d'automatiser la bactériologie.

Malgré cela, l'automatisation de l'ensemencement des prélèvements est devenu une réalité, grâce au transfert des prélèvements plus « compliqués » vers des tubes adaptés après la prise en charge initiale (sonication pour les prothèses, homogénéisation des biopsies,...). Depuis une année, le transfert des plaques ensemencées dans des incubateurs « intelligents », capables de prendre des photos à des temps d'incubations déterminés, complète cette offre. Il est donc maintenant possible de surveiller en continu la croissance, et un prélèvement ensemencé le matin, identifié comme positif par l'incubateur « intelligent » dans l'après-midi, pourra être pris en charge (MALDI-TOF MS pour l'identification et démarrage de l'antibiogramme) le jour même !

Grâce à l'automatisation telle qu'elle existe actuellement à l'ICH, il est donc possible, pour les germes classiques (Entérobactéries, Staphylocoques, Streptocoques), d'obtenir l'identification le jour même et le résultat de l'antibiogramme le lendemain³. On parle donc d'un délai entre le prélèvement et le résultat final de 24-48h au lieu de 3-6 jours il y a à peine une décennie ! Ce gain de temps dans le diagnostic bactériologique a un impact non seulement pour le traitement d'infection chez nos patients en favorisant l'AMS [4], mais également pour le contrôle de l'infection.

Dans le futur, on peut attendre de ces « incubateurs intelligents » qu'ils permettent une pré-identification morphologique des colonies présentes sur la plaques (expertise purement humaine pour l'instant), et que les mêmes procédures automatisées s'appliquent à la réalisation de l'antibiogramme [5].



Figure 1: Plaques positives présentées par l'incubateur « intelligent »

Conclusion

Avec la simplification des outils de PCR et l'automatisation de la culture, la microbiologie est l'un des domaines diagnostiques qui a évolué le plus rapidement ces 10 dernières années. L'ICH, en offrant aux médecins installés et hospitaliers de nos régions un diagnostic microbiologique rapide à la pointe du progrès, leur permet de limiter l'utilisation d'antibiotiques de large spectre et d'éviter le développement et la dissémination de bactéries multi-résistantes dans notre pays et nos hôpitaux.

Références

- [1] Dyar OJ, Huttner B, Schouten J, Pulcini C, Espag. What is antimicrobial stewardship? *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2017;23:793-8.
- [2] Emonet S, Shah HN, Cherkaoui A, Schrenzel J. Application and use of various mass spectrometry methods in clinical microbiology. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2010;16:1604-13.
- [3] Cherkaoui A, Renzi G, Vuilleumier N, Schrenzel J. Copan WASPLab automation significantly reduces incubation times and allows earlier culture readings. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2019;25:1430 e5- e12.
- [4] Emonet S, Charles PG, Harbarth S, et al. Rapid molecular determination of methicillin resistance in staphylococcal bacteraemia improves early targeted antibiotic prescribing: a randomized clinical trial. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2016;22:946 e9- e15.
- [5] Cherkaoui A, Renzi G, Fischer A, et al. Comparison of the Copan WASPLab incorporating the BioRad expert system against the SIRscan 2000 automatic for routine antimicrobial disk diffusion susceptibility testing. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2019.

Personne de contact

Dr Stéphane Emonet

stephane.emonet@hopitalvs.ch