

LA MICROBIOLOGIE DANS TOUS SES ETATS

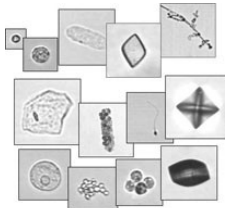
Aujourd'hui, notre laboratoire de microbiologie ne ressemble en rien à nos anciennes paillasses. D'énormes progrès ont été réalisés et la mise en commun de nos moyens sur le Plateau Technique de Brumath nous a permis de profiter de la disponibilité et des performances de nouveaux automates : cytomètre de flux pour la cytologie urinaire, ensementeur automatique et tout récemment spectromètre de masse pour les identifications bactériennes.

Abordons ensemble toutes les nouveautés du Laboratoire Biolia : cytologie urinaire automatisée, PCR et spectromètre de masse.



1. Le sédiment urinaire automatisé : état des lieux après un an d'utilisation

La cytologie urinaire est effectuée grâce à l'IQ200, automate utilisant la technologie de la cytométrie de flux. Les particules contenues dans des urines sont analysées en fonction de leur morphologie. Le cytomètre les isole une à une dans un flux laminaire, les présente face à un objectif de microscope inclus dans l'automate. Un appareil photographique prend 500 photos par échantillon et classe ainsi les éléments : leucocytes, hématies, levures, cristaux, cylindres...



Les avantages de l'automate sont :

- la réalisation d'un sédiment urinaire *standardisé*,
- un *gain de temps* certain,
- une *fiabilité* assurée par la connexion directe sur notre informatique sans saisie manuelle des résultats,
- un *rendu des résultats possible le jour même du prélèvement*.

Le comptage automatisé étant beaucoup plus sensible que le comptage manuel, les urines présentant une leucocyturie non significative sur l'automate IQ200 (< 10 000/ml) ont une **VPN (valeur prédictive négative) d'infection urinaire proche de 100%**.

Nous pouvons ainsi rendre un résultat au clinicien le jour du prélèvement urinaire dans 41% des ECBU : « Absence probable d'infection urinaire. Vérification par culture en cours. En cas de positivité, un résultat complémentaire vous parviendra ». La culture reste systématique et montre **environ 1%** de reprise, nous devons rester prudents chez les enfants et/ou les immunodéprimés.



2. La PCR couplée CHLAMYDIAE - GONOCOQUE

Depuis début 2014, en collaboration avec le Laboratoire des Vosges de Strasbourg nous effectuons une recherche combinée des deux germes principaux responsables d'infections sexuellement transmissibles (IST) :

- *Chlamydiae trachomatis*
- *Neisseria gonorrhoeae*

La PCR offre une très grande sensibilité, supérieure à la culture notamment celle du Gonocoque. La technique va donc permettre de faire le diagnostic d'infection lorsque la clinique est présente, mais aussi de dépister les sujets asymptomatiques, en particulier les femmes.

La recherche est faite sur :

- urines de premier jet (flacon stérile sans borate),
- prélèvement urétral,

- prélèvement endocervical ou vaginal.

Seule la recherche de Chlamydiae par PCR est remboursée par la sécurité sociale, la recherche du Gonocoque effectuée en parallèle n'est pas tarifée par nos laboratoires mais le résultat est rendu simultanément.

Recommandations thérapeutiques HAS 2010 :

- traitement antigonocoque : ceftriaxone (500 mg une seule injection) ou céfixime (400 mg prise orale unique)
- associé au traitement antichlamydiae : azithromycine (1g en monodose) ou une cycline



3. La spectrométrie de masse de type MALDI-TOF

Dernier arrivé dans notre laboratoire de microbiologie, cet automate nous permet d'identifier les microorganismes en très peu de temps. Là où nos galeries d'identification nécessitaient une incubation de 10 à 24 heures pour rendre un résultat, cette nouvelle technologie va nous identifier le germe en quelques minutes !

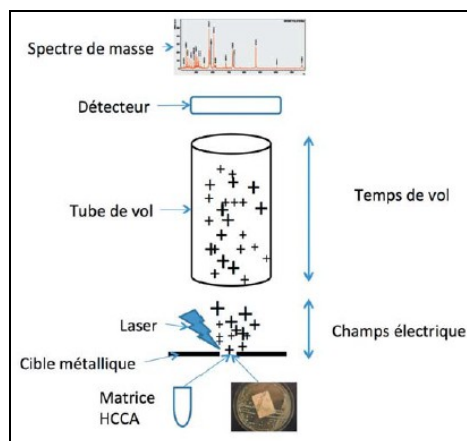
Principe :

La spectrométrie de masse (SM) adaptée à la microbiologie permet une détection et une identification des microorganismes par mesure de la masse de leurs protéines.

La technologie SM de type MALDI-TOF associe une source d'ionisation laser assistée par une matrice (MALDI : Matrix assisted laser desorption) et un analyseur de temps de vol (TOF : time of flight).

L'analyse d'un échantillon comprend trois phases :

1. Une phase d'ionisation et de passage à l'état gazeux de l'échantillon : on dépose la colonie + la matrice sur une cible métallique. L'ensemble est soumis à un laser qui permet vaporisation (desorption) puis ionisation et formation d'ions de masse différentes
2. Une phase de « vol » : les molécules sont accélérées et séparées dans une colonne de vide (tube de vol) en fonction de leur charge (z) et de leur masse (m)
3. Une phase de détection : un détecteur situé à l'extrémité de la colonne transforme les informations en un spectre de masse représenté sous forme d'un graphique. L'axe des abscisses correspond au rapport masse sur charge (m/z) et l'axe des ordonnées à l'intensité relative du signal.



L'identification du germe repose sur la comparaison du profil de spectres obtenu à une banque de données mise à disposition par le fournisseur.

Actuellement la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF permet une identification des microorganismes à partir des colonies de bactéries, de levures et de champignons filamenteux.

Une autre application intéressante est celle de l'identification directe sur un bouillon d'hémoculture positive.

L'énorme avantage de cette technologie est le gain de temps pour l'identification du germe, l'antibiogramme quant à lui nécessite toujours actuellement une incubation de 8 à 18 heures.