

La spectrométrie de masse au service des microbiologistes : une révolution en marche !

Utilisée depuis 2008 en microbiologie de routine pour l'identification bactérienne à partir de colonies, la Spectrométrie de Masse (SM) de type MALDI-TOF-MS* est prisée à la fois pour sa simplicité de mise en oeuvre, la rapidité d'obtention et la fiabilité des résultats. Les laboratoires bioMérieux réunissaient les 21 et 22 mai derniers quelque 60 clients utilisateurs lors d'un symposium dédié à cette technologie de pointe. L'occasion d'échanger sur les dernières améliorations du système VITEK® MS bioMérieux, mais aussi d'évoquer également les limites et les perspectives avec les équipes internes dédiées. Retour sur deux journées riches d'enseignements et d'échanges.

Entrée dans les mœurs des centres hospitaliers et des structures privées de taille conséquente, la spectrométrie de masse améliore l'identification bactérienne de manière significative. La caractérisation de nombreux spectres bactériens est désormais disponible et le développement de banques de données équivalant à des empreintes génétiques est devenu un véritable enjeu pour comparer les spectres. Leader dans le domaine de la bactériologie bioMérieux a à cœur d'apporter cette technologie au service de tous les microbiologistes, en leur offrant le plus grand savoir-faire. « *La spectrométrie de masse fait désormais partie de l'offre bioMérieux et ce symposium qui coïncide avec l'anniversaire des 50 ans de la société est aussi l'occasion de revenir sur l'histoire et de réitérer notre engagement dans la microbiologie* » a déclaré Alexandre Mérieux en ouverture de la rencontre, rappelant que l'objectif est double : renforcer la valeur médicale pour le patient et arriver à proposer des solutions pour optimiser la performance des laboratoires.

« *Nous avons besoin d'un outil puissant qui doit simplifier une étape clé d'un processus diagnostique complexe* » s'accordent à dire les microbiologistes. En présence d'une bactériémie, l'identification rapide des micro-organismes est l'un des éléments essentiels pour une prise en charge optimale des patients, or

la signature unique (spectre) révélée pour chacune permet de différencier les bactéries. « *Il s'agit avant tout de médecine, et avec l'avantage médical que procure la technologie MALDI-TOF, nous sommes au début d'une révolution* », affirme Sylvestre Tigaud, médecin microbiologiste au CHU de la Croix-Rousse (Lyon) dont le service est tout nouvellement équipé avec le système VITEK® MS bioMérieux. L'identification bactérienne nécessitait auparavant 36 à 72 h est désormais réduite à 24 h. L'objectif demeure avant tout de comprendre pourquoi il y a infection, à quelle bactérie elle est liée, et comment potentiellement s'en débarrasser. Une des variables dans le choix des techniques est bien la simplicité d'utilisation par l'ensemble des technicien(ne)s, et la machine automatisée ouvre, de l'avis de la profession, une véritable voie d'évolution pour la microbiologie.

> Bases de données : plusieurs options possibles

Le MALDI-TOF en microbiologie est ainsi une technique rapide, économique, nécessitant peu de matériel biologique, et permettant l'identification au laboratoire de plus de 90 % des souches sans tests complémentaires.

Deux approches sont possibles : la représentation d'une espèce courante par une population d'une dizaine de souches (les souches doivent alors avoir 50 pics



Machine Vitek MS bioMérieux

communs pour appartenir à une même espèce), ou par une seule souche pour une approche rapide, mais qui ne sera pas forcément fidèle à la biodiversité de cette espèce. Le système VITEK® MS repose quant à lui sur le premier principe avec la création d'une matrice de segments pour chaque espèce.

Zoom

Le système VITEK® MS proposé à l'ensemble des laboratoires contient :

- des stations de préparation
- un logiciel pour l'interprétation qui va héberger la ou les bases de données

Plusieurs options s'offrent alors à l'utilisateur : utiliser la base de données VITEK® MS contenant les souches de référence fournies par bioMérieux (base fermée), ou disposer de la base



Alexandre Merieux,
Vice président
unité microbiologie
bioMérieux



Dominique De Briel,
praticien hospitalier
au CH de COLMAR



Gisèle Gay,
biologiste au LBM
Analys Martigues



Olivier Paour, (chef produit
Vitek MS bioMérieux)
lors de l'ouverture
du symposium



Omar Belgacem,
Responsable des
applications Mald,
Axima, Kratos Shimadzu



Olivier Paour (chef produit
Vitek MS bioMérieux) et **Mr Burrucio**
du CHU Poitiers

universitaire VITEK® MS + Saramis comme un second système de référence (base ouverte).

« Le concept du système est de permettre l'évolution des bases de données de sorte à intégrer de nouvelles espèces pour offrir toujours davantage de possibilités d'identification bactérienne » explique Olivier Paour, chef de produit VITEK® MS.

Zoom

Depuis avril 2012 la base de données fermée contient

- 755 espèces
- 13 790 souches
- 29 873 spectres

Avec au minimum 8 souches par espèce et jusqu'à 25 espèces contenant plus de 100 isolats (en moyenne 18 souches par espèce).

Enfin, la technologie de spectrométrie de masse s'étend désormais à l'identification de germes directement à partir de flacons d'hémoculture ainsi que de mycobactéries et de germes anaérobies, ou encore, en vue du typage bactérien et à la mise en évidence de mécanismes de résistance. « La technologie vise à mesurer une masse (!) » pointe Omar Belgacem (Kratos Shimadzu, responsable des applications MALDI) et « la précision et la sensibilité de l'instrument sont les deux valeurs essentielles dès lors qu'on a de petits échantillons pour obtenir une haute résolution ».

» Le point de vue des utilisateurs

« L'équipement VITEK® MS - ID contient une base de données de plus de 29 000 spectres, ce qui fournit un avantage clé comparé aux autres systèmes d'identification MALDI TOF », se réjouit Gisèle GAY, biologiste au LBM Analys (Martigues), précisant que les résultats sont accompagnés d'un pourcentage de

confiance et d'un code couleur associé, ce qui facilite leur interprétation. En vue de la qualification VITEK® MS de la société Sel Analys, G. Gay rappelle que l'analyse de risques prend en compte les 5M, à savoir : les Matières premières (échantillons et réactifs), la Main d'oeuvre (soit le facteur humain via le personnel du laboratoire), la Méthode (techniques utilisées dans le laboratoire et dans le procédé de manipulation VITEK MS), le Matériel (instrument VITEK® MS) ou encore le Milieu (facteurs environnementaux au sein du laboratoire).

« L'étude d'impact sur l'identification des bactéries et levures menée entre février et mars 2013 suite à l'acquisition du VITEK® MS mi-décembre 2012 a révélé que 60 références réactifs avaient pu être supprimées » rapporte Dominique De Briel, praticien hospitalier exerçant au CH de COLMAR (Service de Microbiologie), se réjouissant d'un gain de près de 75 K€. Il note également une performance globale de VITEK® MS CE-IVD v.2.0 proche de 90 % sur 100 bactéries d'identification difficile (72 % de concordances totales et 12 % de discordances mineures). « Nos travaux

de recherche de résistance à l'Ertapénème et à l'Imipénème sur 11 souches d'entérobactéries - dont 8 représentantes de 6 mécanismes enzymatiques- sont tout à fait prometteurs », dévoile t-il enfin.



Participants au Symposium VITEK® MS bioMérieux

À venir

« Parmi les perspectives figure celle de rassembler à la fois les espèces cliniques, environnementales et vétérinaires » déclare Victoria Girard, du service R&D de la société Biomérieux, précisant qu'un renforcement de la base de données est également attendu avec l'ajout de 291 nouvelles espèces dans la prochaine mise à jour (soit 1 047 espèces au total). « Les applications recherche du système VITEK® MS sont bien plus importantes que celles menées actuellement » observe Omar Belgacem

Aussi de nouveaux protocoles ont-ils été présentés concernant les mycobactéries, les moisissures (47 espèces nouvelles) et l'identification directe dans les urines. « Des souches viennent également s'ajouter afin de cibler les espèces pour lesquelles l'identification est particulièrement importante » souligne V. Girard. Au final, les futures mises à jour concerneront les moisissures, les mycobactéries, les légionnelles et les espèces de classe 3.

De nombreux arguments portent à penser que d'ici 5 ans la spectrométrie de masse deviendra le standard des laboratoires de microbiologie : l'outil d'identification est particulièrement efficace, la connaissance des spectres protéiques s'améliore et enfin les outils de détection de la résistance aux antibiotiques ainsi que ceux de typage progressent. « Le futur fera donc de toute évidence de la spectrométrie de masse un formidable outil de protéomique que nous pourrions prochainement développer aux Etats-Unis avec l'agrément de la FDA », avance Olivier Paour, notant que bioMérieux réalise 85% de son chiffre d'affaires à l'export.

* Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass spectrometry