

PERFORMANCE DE CLASSIFICATION MICROBIENNE AVEC LE LOGICIEL SCANSTATION V9

Auteurs: Dayana Muzziotti, PhD; Iseline Sanseau, MSc

Équipement : ScanStation – Version du logiciel : 9

Introduction

Les entreprises manufacturières, telles que les sociétés pharmaceutiques, intègrent constamment de nouvelles technologies dans leur flux de travail afin de garantir la bonne exécution de leurs processus de production continus. Les performances de la surveillance environnementale (EM) sont essentielles pour comprendre les conditions de chaque zone de production. De plus, il est extrêmement important de disposer d'informations en temps réel sur le type de micro-organisme(s) détecté(s) pour concevoir la stratégie de désinfection. ScanStation, incubateur et compteur de colonies en temps réel, est un outil puissant qui permet non seulement de compter les colonies en temps réel, mais aussi de les classer en bactéries ou en levures/moisissures. Le nouveau logiciel ScanStation V9 comprend un réseau neuronal Ai formé à l'identification des moisissures en fonction de leurs phénotypes. Au départ, toutes les colonies sont détectées et identifiées comme des bactéries. Mais, au fur et à mesure de l'incubation, le réseau neuronal Ai les classe comme levures/moisissures si certains critères, tels que la morphologie des colonies, sont remplis.

Le logiciel ScanStation V9 a fait l'objet de plusieurs mises à niveau afin d'améliorer sa capacité à classer les micro-organismes en bactéries ou en levures/moisissures. L'**objectif** de cette étude est d'évaluer l'amélioration des performances du logiciel ScanStation V9 en matière de classification des micro-organismes en bactéries ou en

levures/moisissures. Une comparaison entre la classification effectuée par le logiciel ScanStation V9 et la classification manuelle (méthode de référence) est également proposée.

Protocole

Cette étude a été réalisée avec des bactéries, des levures et des moisissures, et plus de 100 souches de celles-ci ont été testées (tableau n° 1). Des cultures pures de chaque souche (Biomérieux BioBall) ont été ensemencées sur des géloses TSA/SDA. La température optimale était de 32,5 °C pour les bactéries et de 22,5 °C pour les levures et les moisissures. Les échantillons ont été préparés en double. L'incubation a été réalisée respectivement avec le logiciel ScanStation V9 DLL V4.01/ **MoBIA 1.0** et le logiciel ScanStation V9 DLL V4.0.10/ **MoBIA 1.3**. Les **bactéries** ont été marquées d'une **croix (+)** tandis que les **levures/moisissures** ont été marquées d'une **étoile (★)**. La classification des bactéries et des levures/moisissures entre les deux versions du logiciel a été comparée.

Tableau n° 1. Cultures pures de micro-organismes (bactéries - vert, levures/moisissures - bleu) utilisées pour tester l'amélioration du logiciel ScanStation permettant de classer les micro-organismes en bactéries ou levures/moisissures.

Souche
<i>Acaulium acremonium</i>
<i>Alternaria alternata</i>
<i>Aspergillus brasiliensis</i>
<i>Aspergillus caesiellus</i>
<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Aspergillus oryzae</i>
<i>Aspergillus terreus</i>
<i>Aspergillus versicolor</i>
<i>Bjerkandera adusta</i>
<i>Botrytis cinera</i>
<i>Chaetomium globosum</i>
<i>Chrysosporium keratinophilum</i>
<i>Cladosporium cladosporioides</i>
<i>Cladosporium herbarum</i>
<i>Cladosporium spp</i>
<i>Curvularia aeria</i>
<i>Curvularia hominis</i>
<i>Curvularia lunata</i>
<i>Curvularia pallescens</i>
<i>Curvularia verruculosa</i>
<i>Eurotium rubrum</i>
<i>Fusarium acuminatum</i>
<i>Fusarium oxysporum</i>
<i>Fusarium proliferatum</i>
<i>Fusarium solani</i>
<i>Ganoderma resinaceum</i>
<i>Helicomyces roseus</i>
<i>Hormoconis resinae</i>
<i>Leptosphaeria maculans</i>
<i>Mucor circinelloides</i>
<i>Mucor hiemalis</i>
<i>Mucor racemosus</i>
<i>Myrothecium verrucaria</i>
<i>Neosartorya fischeri</i>
<i>Nigrospora sphaerica</i>
<i>Paecilomyces variotii</i>
<i>Penicillium aurantiogriseum hirsutum</i>
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> var. <i>aurantiogriseum</i> MUCL
<i>Penicillium chrysogenum</i>
<i>Penicillium citrinum</i>
<i>Penicillium expansum</i>
<i>Penicillium italicum</i>
<i>Penicillium rubens</i>
<i>Penicillium venetum</i>
<i>Phialophora spp</i>
<i>Phoma spp herbarum</i>
<i>Purpleocillium lilacinum</i>
<i>Rhizomucor pusillus</i>
<i>Sarocladium strictum</i>
<i>Scopulariosi brevicaulis</i>
<i>Trichoderma citrinoviride</i>
<i>Trichoderma harzianum</i>

<i>Candida albicans</i>
<i>Candida tropicalis</i>
<i>Trichophyton mentagrophytes interdigitale</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>
<i>Bacillus cereus</i>
<i>Bacillus licheniformis</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>
<i>Burkholderia gladioli</i>
<i>Citrobacter braakii</i>
<i>Corynebacterium striatum</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Debaryomyces hansenii</i>
<i>Debaryomyces maramus</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Escherichia hermanii</i>
<i>Hafnia alvei</i>
<i>Klebsiella aerogenes</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Kocuria rhizophila</i>
<i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Latilactobacillus sakei</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Morganella morganii</i>
<i>Myroides odoratus</i>
<i>Pantoea agglomerans</i>
<i>Papiliotrema laurentii</i>
<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Pseudoescherichia vulneris</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Pseudomonas stutzeri</i>
<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Rhodococcus equi</i>
<i>Rhodotorula glutinis</i>
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Shigella flexneri</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Yarrowia lipolytica</i>

Afin de valider cette étude, les classifications effectuées, respectivement, par le logiciel ScanStation V9 (DLL V4.01/ **MoBIA 1.0**) et par le logiciel ScanStation V9 (DLL V4.0.10/ **MoBIA 1.3**) ont été comparées à la classification manuelle (méthode de référence). Le coefficient de corrélation (R^2) a été déterminé

Résultats

1. Amélioration du logiciel ScanStation V9 afin de classer les micro-organismes en deux catégories distinctes : bactéries et levures/moisissures.

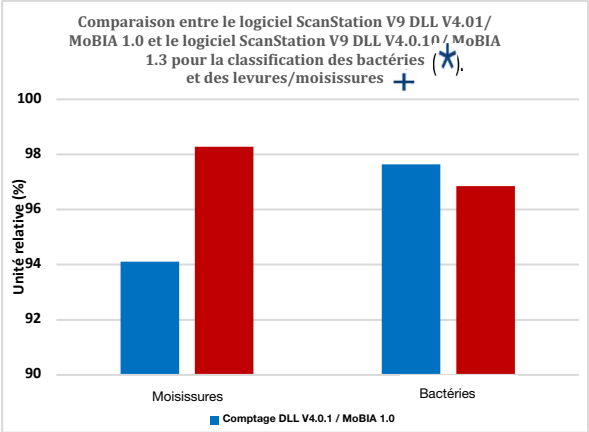


Fig. 1. Amélioration du logiciel ScanStation V9 pour la classification des microbes en bactéries + ou levures/moisissures (*).

La figure 1 montre la classification des bactéries et des levures/moisissures effectuée par deux versions différentes du logiciel ScanStation V9. Les résultats sont exprimés en pourcentage (%) et correspondent aux bactéries et levures/moisissures correctement classées sur les échantillons. Pour la classification des bactéries, aucune différence significative n'a été constatée entre la version DLL V4.0.1/ MoBIA 1.0 et la version DLL V4.0.10/ MoBIA 1.3. L'écart type (std) correspondant entre les deux versions était de 0,560. Pour la classification des levures/moisissures, le logiciel ScanStation V9 DLL V4.0.10/MoBIA 1.3 montre une légère amélioration par rapport à la version DLL V4.0.1/MoBIA 1.0. L'écart type (std) entre les deux logiciels était proche de 3. Ce résultat s'explique par l'amélioration de la classification des échantillons critiques, comme le montre le tableau n° 2. La classification des levures/moisissures a augmenté d'environ 15 à 50 %.

Tableau n° 2. Échantillons critiques montrant une amélioration significative de la classification par le logiciel ScanStation V9 DLL V4.0.10/ MoBIA 1.3

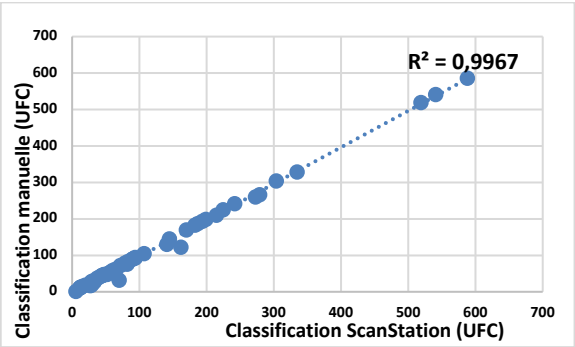
Souche	Logiciel ScanStation V9 DLL V4.0.1 / MoBIA 1.0 (%)	Logiciel ScanStation V9 DLL V4.0.10 / MoBIA 1.3 (%)
Aspergillus fumigatus	86	100

Myrothecium verrucaria	46	91
Paecilomyces variotii	75	100
Penicillium aurantiogriseum var. aurantiogriseum MUCL 29184	63	100
Trichophyton mentagrophytes interdigitale	80	100

1. Comparaison entre la classification des micro-organismes par le logiciel ScanStation V9 et la classification manuelle (méthode de référence)

Logiciel ScanStation V9 DLL V4.0.1/ MoBIA 1.0

2.a) Levures et moisissures



2.b) Bactéries

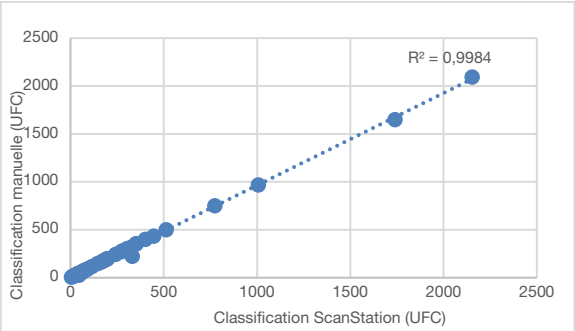


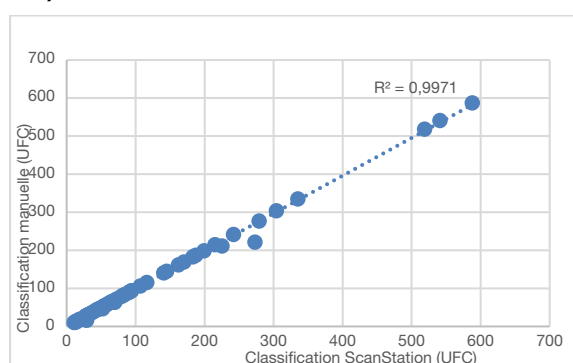
Fig. 2. Corrélation entre la classification manuelle (méthode de référence) et la classification des levures/moisissures (2.a) et des bactéries (2.b) effectuée à l'aide du logiciel ScanStation V9 DLL V4.0.1/MoBIA 1.0.

La figure 2 montre la corrélation entre la classification manuelle et la classification effectuée par le logiciel ScanStation V9 DLL

V4.0.1/ MoBIA 1.0 des levures/moisissures (2.a) et des bactéries (2.b). Le coefficient de corrélation (R^2) pour la classification des levures/moisissures (2.a) et des bactéries (2.b) est proche de 1. Il n'y a donc pas de différence significative entre la classification manuelle (méthode de référence) et celle effectuée à l'aide du logiciel ScanStation V9 DLL V4.0.1/ MoBIA 1.0.

Logiciel ScanStation V9 DLL V4.0.10/ MoBIA 1.3

2.c) Levures et moisissures



2.d) Bactéries

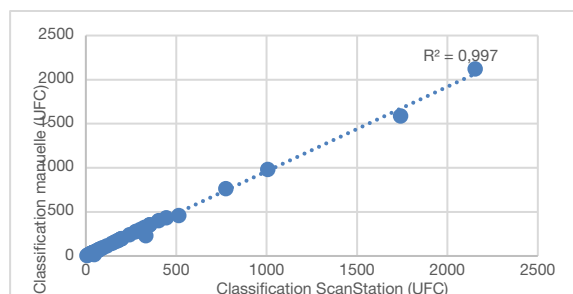


Fig. 3. Corrélation entre la classification manuelle (méthode de référence) et la classification des levures/moisissures (2.c) et des bactéries (2.d) effectuée à l'aide du logiciel ScanStation V9 DLL V4.0.10/MoBIA 1.3.

La figure 3 montre la corrélation entre la classification manuelle et la classification effectuée par le logiciel ScanStation V9 DLL V4.0.10/ MoBIA 1.3 des levures/moisissures (2.c) et des bactéries (2.d). Le coefficient de corrélation (R^2) pour la classification des levures/moisissures (2.c) et des bactéries (2.d) est proche de 1. Il n'y a donc pas de différence significative entre la classification manuelle (méthode de référence) et celle effectuée à l'aide du logiciel ScanStation V9 DLL V4.0.10/ MoBIA 1.3.

Conclusion

La comparaison établie dans cette étude entre ScanStation Software V9 DLL V4.0.1/ MoBIA 1.0 et ScanStation Software V9 DLL V4.0.10/ MoBIA 1.3 montre que les deux versions du logiciel sont capables de classer les bactéries et les levures/moisissures avec une grande précision. Cependant, la classification des levures/moisissures a été améliorée dans la dernière version du logiciel ScanStation V9.

L'amélioration du réseau neuronal artificiel destiné à classer les microbes est un *processus continu* qui est réalisé en collaboration avec nos clients, qui testent en permanence de nouvelles souches de microbes à classer.

Références

¹ Sibileau L., Alexandre T. (2022) La Vague N° 74. Real- Time detection of CFU growth with the ScanStation smart incubator expedites the environmental monitoring process, 37- 43.