L'avenir du diagnostic en microbiologie

l'évolution, la révolution ou le bogue de l'an 2000 ?

par Michel Couillard

Le capitaine Kirk avait l'air préoccupé. Il se demandait pourquoi un membre de son équipage s'était écroulé quelques minutes plus tôt et se mettait maintenant à délirer. Le docteur, qui avait été appelé sur les lieux, arriva enfin.

– Qu'y a-t-il Jim ?

Le capitaine expliqua brièvement la situation. Le Dr McCoy s'agenouilla près du malade et ouvrit un « tricorder », sorte de sonde électronique qu'il tenait au creux de la main. Il passa l'appareil au-dessus du patient et déclara :

– Cet homme souffre d'une poussée de fièvre romulanaise, Jim.

– Pouvez-vous faire quelque chose, docteur ?

– Oui, j'ai ce qu'il faut à l'infirmerie. Mais c'est un virus contagieux, Jim. Il faudra vacciner tout l'équipage.

La littérature, la télévision et le cinéma de science-fiction regorgent d'exemples comme celui-là, où la médecine de l'avenir dispose d'appareils technologiquement très perfectionnés, tenant dans la paume de la main, capables d'identifier sur-le-champ une multitude d'agents pathogènes exotiques. Sommes-nous si loin de cette vision futuriste du diagnostic des maladies infectieuses ? Peut-être pas.

L'évolution : les enjeux

Les enjeux scientifiques

Les enjeux scientifiques seront sans doute au cœur des grands changements du XXIe siècle. Un meilleur niveau d'éducation dans la plupart des pays, la libre circulation de l'information grâce à Internet et une plus grande compétition à l'échelle planétaire seront des facteurs d'évolution déterminants.

La compétition dans le domaine des connaissances est une question de survie pour les scientifiques engagés dans une carrière qui leur a demandé des années de préparation, de sacrifices et d'efforts. Dans la plupart des pays développés, où les sources de subventions publiques tendent à diminuer, on encourage le partenariat avec l'industrie. Cette dernière s'attend à des résultats concrets à court et à moyen terme pour accroître l'avoir de ses actionnaires. Cet impératif économique a pour conséquence de favoriser le développement technologique au détriment de projets de recherche de nature plus fondamentale.

M. Michel Couillard, Ph.D., microbiologiste, travaille au secteur Sérodiagnostic et virologie du Laboratoire de santé publique du Québec.

En revanche, l'échange d'information, encore au cœur de la vie scientifique, a pour effet de faire connaître les découvertes scientifiques à un plus grand nombre de personnes, constituant ainsi un terrain fertile pour faire germer de nouvelles idées, de nouveaux concepts. En fin de compte, l'avancement des connaissances est plus rapide et s'accompagne d'une accélération des progrès technologiques.

Les enjeux médicaux

Sur le plan médical, les enjeux commencent à poindre. D'un côté, la baisse de la natalité dans les pays industrialisés a eu pour effet de stimuler la recherche et l'application de mesures de prévention de la morbidité et de la mortalité néonatales et infantiles. Au Québec, par exemple, ces mesures font partie des priorités en matière de santé. De l'autre côté, l'accession des *baby-boomers* à la retraite et leur soif d'activités de toutes sortes en feront une clientèle de choix pour tout ce qui peut prolonger la vie et maintenir une meilleure qualité de vie. L'engouement pour une alimentation plus saine, les produits nutraceutiques et le citrate de sildenafil (Viagra®) ne sont que des exemples parmi d'autres illustrant la tendance vers la recherche de la santé et du plaisir. Le troisième âge pourrait être cette longue période de vacances avant le quatrième âge, dernière étape de la vie.

Malgré les compressions budgétaires subies ici comme ailleurs, une population de mieux en mieux éduquée exige de meilleurs services médicaux,

ce qui a pour effet de stimuler l'élaboration d'épreuves de laboratoire fiables, mais surtout plus rapides et plus facilement accessibles.

Les enjeux économiques

Au cœur des transformations auxquelles nous assisterons au cours des prochaines années réside l'intérêt des multinationales biopharmaceutiques pour l'ouverture de nouveaux marchés auprès d'une clientèle de plus en plus soucieuse de son bien-être et prête à payer pour conserver une meilleure santé, le plus longtemps possible. Il suffit de voir la publicité tous azimuts des compagnies, mais aussi les investissements énormes de cette industrie dans la recherche et le développement de médicaments pour soulager les problèmes cardiaques, le stress, l'embonpoint, l'hypercholestérolémie, etc. Les consommateurs visés sont ceux qui ont la capacité de se procurer ces médicaments. Demain, ils seront à l'âge de la retraite. Alors, il faut conserver ces clients en les maintenant en vie le plus longtemps possible.

L'industrie pharmaceutique a mis au point une stratégie pour stimuler la vente de ses produits en offrant gratuitement à des hôpitaux l'appareillage et le matériel nécessaires pour faire les tests de laboratoire visant à détecter la présence d'une infection. Lorsqu'elle est confirmée, on vend à gros prix le seul médicament efficace disponible pour la traiter. On s'assure de la sorte que le dépistage sera offert au plus grand nombre de personnes possible, de façon à maximiser les ventes du médicament. Cette stratégie a porté ses fruits pour le traitement de l'hépatite C avec l'interféron α, notamment, et on l'utilise maintenant pour promouvoir le traitement de l'influenza avec un anti-neuraminidase. Il y a un hic, toutefois : lorsque les prévisions de volume de clients atteignent les objectifs de rentabilité fixés, ou que le médicament est bien implanté, on cesse de subventionner les épreuves de laboratoire. Ayant créé des attentes auprès de la population et du corps médical, les hôpitaux n'ont d'autre choix que de payer pour continuer à offrir le service de diagnostic.

La révolution : les progrès technologiques

Les grandes révolutions

Après la révolution industrielle, la révolution automobile et la révolution de l'information, on pourrait voir au début du prochain siècle se concrétiser la révolution moléculaire. En appliquant les techniques de génie génétique pour étudier et manipuler les gènes, on parvient maintenant à transformer le monde vivant en modifiant des espèces dans le but de leur attribuer des caractéristiques « souhaitables », tant au point de vue de l'agriculture que de la santé animale et humaine. Déjà, une grande partie du maïs et du canola cultivés en Amérique du Nord provient de semences transgéniques, c'est-à-dire qui ont été génétiquement modifiées pour résister aux herbicides et aux insectes. Dans quelques années, des troupeaux de vaches produiront du lait « amélioré », constitué de protéines humaines, puisqu'on aura remplacé les gènes des protéines bovines sensibilisantes par des gènes humains permettant la synthèse de protéines plus facilement assimilables.

Le secteur biomédical n'échappe pas non plus à ces transformations. Par exemple, le projet du génome humain constitue une entreprise de grande envergure dont les retombées médicales et pharmaceutiques sont encore difficiles à mesurer. La cartographie et le séquençage des chromosomes devraient être terminés d'ici 2003. Il faudra des années ensuite pour comprendre cette masse d'information, dessiner l'architecture moléculaire de l'être humain et saisir toutes les implications de cette découverte. En même temps, on voudra bénéficier rapidement des retombées de ces travaux pour dépister et corriger les anomalies génétiques et les maladies héréditaires, prévenir la susceptibilité à l'infection par certains microorganismes, ou encore prolonger la durée de la vie. En dehors du questionnement éthique que soulèvent ces sujets, les enjeux économiques précités seront au cœur des choix qui se poseront à notre société.

Les nouvelles technologies

Des progrès technologiques considérables ont été accomplis en moins de deux décennies dans le domaine de la biologie moléculaire. La mise au point d'appareils très perfectionnés et la baisse du coût des réactifs permettent de réaliser la séquence complète

Une population de mieux en mieux éduquée exige de meilleurs services médicaux, ce qui a pour effet de stimuler l'élaboration d'épreuves de laboratoire fiables, mais surtout plus rapides et plus facilement accessibles.

Repère

des acides nucléiques d'un micro-organisme en quelques semaines seulement. L'application de techniques complexes de génétique moléculaire a facilité la découverte de virus inconnus dans des tissus malades (par exemple le 8e virus herpétique humain [HHV-8] dans le sarcome de Kaposi). Enfin, par l'entremise de la microbiologie cellulaire, nous pouvons entrevoir un avenir pas trop lointain où l'on pourra ajuster le fonctionnement du système immunitaire pour répondre de façon mieux ciblée à l'agression d'un agent pathogène plutôt que d'être le témoin passif de l'infection[1,3]. Les nouvelles technologies appliquées à la microbiologie visent principalement à réduire le délai d'analyse de façon à permettre une intervention plus rapide au chevet du malade. Pour atteindre cet objectif, on marie les technologies génétiques avec celles de l'électronique et de la micro-informatique. Résultat : on dispose d'instruments pouvant, par exemple, déceler la présence de marqueurs comme les gènes de résistance, ou préciser la séquence d'un gène particulier pour repérer des mutations, tout en offrant une économie de temps, d'échantillon et de réactif par rapport aux techniques actuelles.

Le laboratoire de demain

Certaines technologies de l'avenir permettront de reconnaître la présence du ou des micro-organismes ayant causé une infection chez un patient et de les identifier à partir d'une goutte de sang, en quelques minutes seulement. Fiction ? Un manufacturier propose actuellement des systèmes à cassettes utilisant le laser comme mode de lecture des tests. L'un de ces produits peut mesurer dans un échantillon la présence d'anticorps dirigés contre l'agent de la toxoplasmose, le cytomégalovirus et le virus de la rubéole en 12 minutes.

Une entreprise européenne entrevoit d'étendre la mesure de la charge d'acides nucléiques à une variété de virus et d'agents microbiens. La technique, basée sur le principe de l'amplification génique (PCR), fait appel à une sonde fluorescente qui s'attache à chaque fragment d'acide nucléique nouvellement synthétisé au cours d'un cycle d'amplification. La sonde est ensuite dégradée par l'ADN polymérase pendant la synthèse du brin complémentaire d'ADN, ce qui provoque la libération du signal fluorescent. Un appareil peut mesurer en continu l'émission de fluorescence et calculer le nombre de copies du génome recherché par millilitre de l'échantillon de départ en moins de trois heures.

Ici même, une entreprise québécoise veut révolutionner le diagnostic microbiologique en offrant une épreuve de laboratoire qui peut identifier la bactérie à l'origine d'une infection en moins d'une heure. En prime, ce test détermine le degré de sensibilité aux antibiotiques du germe pathogène.

On parle aussi de techniques ultra-rapides (certains appareils peuvent réaliser 100 000 détections par jour), de micromachines et de nanotechnologie (*encadré 1*). Certains vont même jusqu'à prédire que, au cours du XXIe siècle, les microbiologistes

Encadré 1

Nanotechnologie et nanomédecine : naissance d'une nouvelle science ?

La nanotechnologie peut être définie comme la capacité d'ordonner les structures moléculaires et les atomes avec précision et flexibilité tout en respectant les propriétés intrinsèques des lois physiques. Ainsi, si nous pouvions emmagasiner une centaine d'atomes dans un nanomètre cube avec n'importe lequel de la centaine d'éléments, nous aurions à peu près 100100 façons différentes d'organiser les atomes dans ce seul nanomètre cube[4]. De nombreuses sociétés publiques, comme la NASA, ou privées, comme IBM, se sont engagées dans ce domaine de recherche. Les applications possibles pourraient révolutionner l'industrie aérospatiale et informatique. On pense aussi à de multiples applications médicales, comme des trousses de diagnostic munies de sondes miniatures pouvant transmettre à distance l'information obtenue *in vivo* dans les liquides organiques ou différents foyers anatomiques[2]. La nanomédecine, comme on l'appelle déjà, propose même la mise au point de robots microscopiques qui permettraient aux médecins de procéder au traitement ou à la reconstruction de parties vitales du corps humain à l'échelle cellulaire et moléculaire (consulter à ce propos les sites Internet http://www.foresight.org/Nanomedicine ou http://www.nano.org.uk).

Les nouvelles technologies appliquées à la microbiologie visent principalement à réduire le délai d'analyse de façon à permettre une intervention plus rapide au chevet du malade.

Repère

Encadré 2

Un laboratoire dans une puce !

Le « LabChip™ », ou « laboratoire dans une puce », a été conçu pour les techniques de séparation moléculaire et utilise les concepts de la microdynamique des fluides. Les opérations qui s'y déroulent sont de l'ordre du nanolitre (10^{-9} litre). Les volumes d'échantillon et de réactifs sont donc 1000 fois inférieurs à ceux qu'exigent les techniques actuelles, ce qui a pour effet de diminuer les coûts de certains réactifs et d'économiser ceux qui sont précieux. Le LabChip se compose de deux couches laminées placées dans une cassette de plastique de la taille d'une diapositive de 35 mm. La couche supérieure porte les puits pour l'échantillon et les réactifs. Ils sont connectés par un réseau de conduits microscopiques gravés dans la pièce inférieure. Après avoir rempli les réservoirs, on place la cassette dans un instrument de la taille d'un grille-pain relié à un ordinateur. Ce dernier contrôle le mouvement du liquide à l'intérieur de la puce par l'intermédiaire d'un courant électrique à haut voltage. L'échantillon parcourt ainsi le labyrinthe tracé grâce à des forces électro-osmotiques et électrophorétiques. Les opérations pouvant ainsi être réalisées dans la puce sont similaires à celles qui sont effectuées dans le laboratoire, comme la distribution de réactifs, la dilution, le mélange, la séparation et la détection de macromolécules. Les applications visées par ce système concernent l'analyse génétique, le diagnostic des maladies, l'examen des constituants sanguins et la conception de médicaments. Et ce n'est qu'un début : l'industrie planifie déjà des systèmes capables de mesurer des picolitres (10^{-12} litre)…

identifieront les micro-organismes grâce à des systèmes automatisés comportant, sur une puce jetable, des centaines de gènes provenant de tous les agents pathogènes connus[3] (*encadré 2*). Déjà, un système de génotypage du VIH sur une puce d'environ 13 x 13 mm vient de faire son apparition sur le marché[5,6]. Bien entendu, ces dispositifs doivent faire leurs preuves et des évaluations rigoureuses indépendantes devront être effectuées avant qu'ils puissent remplacer les méthodes existantes.

Le bogue de l'an 2000 : la pratique médicale vis-à-vis des changements technologiques

Ne pas voir les nouveautés comme des panacées

Les découvertes précitées se répercuteront sur la façon dont nous verrons le diagnostic de laboratoire des maladies infectieuses. On peut raisonnablement s'attendre à court et à moyen terme à une automatisation accrue des laboratoires de microbiologie, qui leur permettra de réaliser des épreuves nécessitant des opérations complexes de ségrégation et d'étude des macromolécules tout en utilisant de très petits volumes de réactifs. En revanche, il pourrait être plus difficile de mettre en question les aléas de ces technologies, et il faudra un personnel hautement qualifié pour en assurer le fonctionnement et l'entretien.

Bien des facteurs devront être pris en considération avant que l'on puisse identifier tout le monde microbien par l'entremise d'une puce. On peut d'ores et déjà prévoir que certaines épreuves de détection de micro-organismes ou d'acides nucléiques ne se qualifieront pas pour les systèmes à puces ou les nanotechnologies à moins d'être précédées d'étapes de concentration ou d'amplification.

Verrons-nous à moyen terme des trousses technologiquement complexes faire leur entrée dans le cabinet médical ? C'est possible si elles permettent de faire le diagnostic en quelques minutes seulement et qu'un traitement est disponible. D'autre part, il faut penser à vérifier la conformité des nouvelles technologies destinées à un point de service (*point-of-care testing*). L'accessibilité de ce type d'épreuves, qu'elles soient simples ou complexes, ne doit pas occulter la nécessité de mettre en place et de maintenir toutes les barrières de sécurité nécessaires. Il faut s'assurer en outre que ces nouveaux tests diagnostiques répondent à des exigences strictes en matière de qualité et ne pas oublier que toute dérogation aux protocoles établis est susceptible d'entraîner des résultats douteux ou carrément erronés.

Il peut arriver qu'un médecin ait été informé de l'existence de nouveaux procédés par la lecture de publications. Il pourrait alors être tenté de prescrire des analyses qui ne sont pas offertes par les laboratoires de première ligne ou même de référence. Même si la demande est pertinente dans un contexte clinique donné, le microbiologiste doit expliquer que la technique est de nature expérimentale et préciser, le cas échéant, que le procédé, les réactifs et les résultats ne sont pas encore standardisés et que les critères de contrôle de qualité ne sont pas encore définis ni satisfaits.

La transmission d'informations incomplètes avec l'échantillon ainsi que le délai entre la prescription de l'analyse et la réception du rapport sont présentement le talon d'Achille des

services du laboratoire de microbiologie. Il est évident que, de ce côté, des améliorations importantes devront être réalisées pour favoriser l'informatisation des demandes et accélérer la transmission des résultats d'analyses.

L'autodiagnostic, ou « loto-diagnostic »

Et comment gérer les cas de patients qui auront utilisé une trousse en vente libre pour dépister une maladie infectieuse et qui iront consulter leur médecin pour avoir une ordonnance d'antibiotique ou d'antiviral ?

Les médecins de première ligne seront-ils appelés à commenter, à critiquer ou à interpréter les résultats de tests obtenus par le patient lui-même ? Il est clair que « monsieur et madame Tout-le-monde » n'ont pas la formation et les compétences nécessaires pour comprendre l'importance d'un prélèvement adéquat, les limites des tests rapides et les problèmes d'interprétation qui leur sont associés. On peut souhaiter que de telles situations ne puissent survenir, car elles présenteraient trop de désavantages et de conséquences indésirables pour le patient et le médecin appelé à réparer les pots cassés. De toute façon, il faudra reprendre ces tests dans un contexte où les normes d'utilisation sont respectées avant de confirmer le diagnostic.

Attention : patients instruits !

Le médecin fait parfois face à un phénomène nouveau, qui vraisemblablement prendra de l'ampleur avec l'accès à Internet et la publicité « grand public » que certaines compagnies pharmaceutiques ont amorcée – avec le traitement de la calvitie, notamment –, soit celui du patient qui connaît l'existence d'une nouvelle épreuve diagnostique. Ainsi, certains médecins se sont vu réclamer la détection de l'antigène p24, la mesure de la charge virale du VIH ou le test de détermination de la résistance au VIH avant que ces tests soient disponibles dans un laboratoire québécois. Dans une telle situation, il est important d'expliquer que les nouvelles épreuves sont réservées aux contextes de recherche. Au besoin, l'omnipraticien peut consulter un expert pour en savoir plus sur le sujet.

LE PROGRÈS fait partie de nos vies et a particulièrement bien servi le XX^{e} siècle. À l'aube du XXI^{e} siècle, que peut-on espérer de la technologie ? Favorisera-t-elle l'amélioration des conditions de vie de l'humanité, ou verrons-nous s'accroître les disparités entre les pays et les individus ? En fait, les transformations technologiques auxquelles nous assistons dans notre quotidien ne sont pas radicales, mais surviennent parfois dans un laps de temps très court si l'on regarde un tant soit peu en arrière. L'accessibilité aux épreuves de laboratoire en microbiologie sera de plus en plus grande, de même que l'éventail des possibilités diagnostiques. Face aux changements qui se pointent à l'horizon, une bonne dose d'esprit critique s'impose. □

Date de réception : 13 octobre 1999.
Date d'acceptation : 1er novembre 1999.

Summary

The future of diagnotic tests in microbiology. Science fiction scenarios frequently offer a glimpse of the future of infectious disease diagnosis, often represented by handheld gizmos able to recognize almost any pathogen in only a few seconds. The evolution of diagnostic microbiology is intertwined with scientific, medical and economic stakes where a well-educated population is requesting better medical services, including reliable and rapid diagnostic tests. The biomedical industry is expected to use discoveries in molecular genetics to revolutionize identification of microorganisms. Diagnostic kits devised to give results in less than an hour for multiple microorganisms are under development. The trend for the future is smaller devices, fewer reagents, higher through-put, faster analysis and lower delays. On the other hand, a critical approach is warranted when new kits and technologies are publicized. Usage of any new procedure in the microbiology laboratory should be preceded by rigorous validation and quality control. These principles might impede accessibility to point-of-care testing and confidence in over-the-counter kits for particular infectious diseases.

Key words: microbiology, forecasting, diagnosis, laboratory.

Mots clés : microbiologie, futurologie, diagnostic, laboratoire.

Il faut s'assurer que les nouveaux tests diagnostiques répondent à des exigences strictes en matière de qualité et ne pas oublier que toute dérogation aux protocoles établis est susceptible d'entraîner des résultats douteux ou carrément erronés.

Repère

Bibliographie

1. Bergeron MG, Ouellette M. Le diagnostic des maladies infectieuses en une heure : une révolution nécessaire. *Med Sci* 1997 ; 13 : 998-1001.
2. Boriello SP. Science, medicine, and the future: near patient microbiological tests. *Br Med J* 1999 ; 319 : 298-301.
3. Falkow S, Tompkins LS. The application of molecular biology to medical bacteriology: yesterday, today, and tomorrow. *ASM News* 1999 ; 65 : 31-321.
4. Merkle RC. Biotechnology as a route to nanotechnology. *Trends Biotechnol* 1999 ; 17 : 271-4.
5. Service RF. Microchip arrays put DNA on the spot. *Science* 1998 ; 282 : 396-9.
6. Vahey M, Nau ME, Barrick S, Cooley JD, Sawyer R, Sleeker AA, et al. Performance of the Affymetrix GeneChip HIV PRT 440 platform for antiretroviral drug resistance genotyping of human immunodeficiency virus type 1 clades and viral isolates with length polymorphisms. *J Clin Microbiol* 1999 ; 37 : 2533-7.

1 enfant sur 5 souffrant de la maladie de Steinert congénitale meurt peu après sa naissance

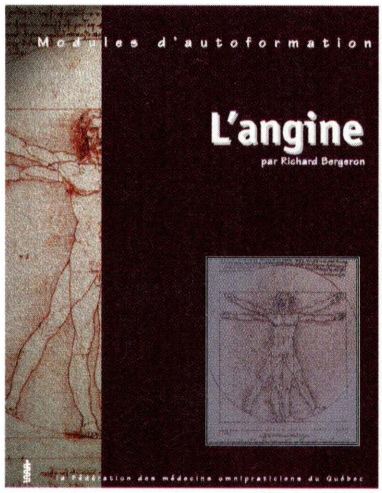
1 800 567-ACDM

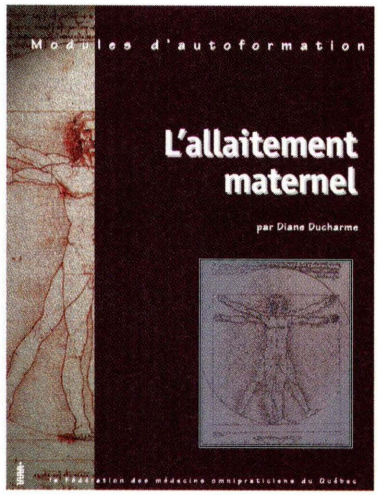
Association Canadienne de la Dystrophie Musculaire

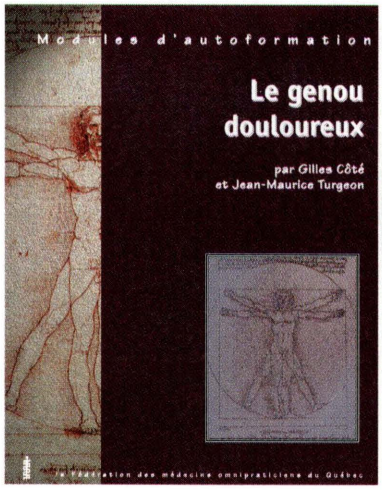
Donner, c'est leur redonner espoir

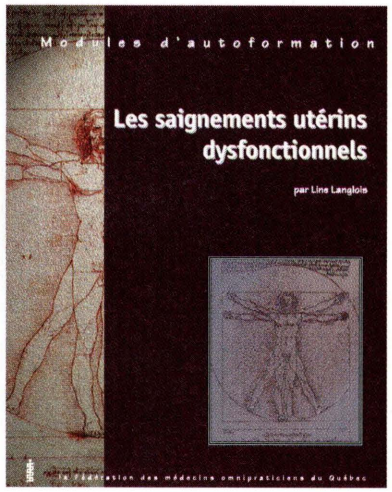
Groupe La Mutuelle

Modules d'autoformation









En vente chez Somabec et au stand d'accueil des congrès de formation continue de la FMOQ

Renseignements : 1 800 361-8118
Télécopieur : (450) 774-3017
courriel : bp295@somabec.qc.ca