



pourrions considérablement accroître leur intérêt en les interconnectant à l'échelle d'une nation, voire de la planète entière. Ils constitueraient alors le premier système d'alerte à grande échelle permettant de détecter précocement et en temps réel des maladies nouvelles, des intoxications alimentaires, des pandémies et d'éventuelles attaques bio-terroristes.

Des méthodes datant de plus de 150 ans

Les méthodes actuelles pour diagnostiquer les maladies infectieuses sont fondées sur des techniques de culture développées par Louis Pasteur il y a plus de 150 ans. On collecte un échantillon de tissu du patient – du sang, du mucus ou de l'urine, par exemple –, puis on le transfère dans un flacon rempli de nutriments ou sur un support recouvert d'agar, un extrait d'algues gélatineux qui permet aux pathogènes de

se développer. Au bout d'une journée ou deux, les microbes se sont tant multipliés que les techniciens de laboratoire peuvent les identifier. En examinant si ces cultures meurent en présence de médicaments variés et à quelle vitesse, on en profite pour tester l'efficacité des traitements médicamenteux.

Même si cette méthode était plus rapide, elle ne serait pas idéale. En effet, beaucoup de pathogènes sont difficiles à cultiver, par exemple parce qu'ils ne se multiplient que dans des milieux particuliers. La culture est même parfois vouée à l'échec, quand le prélèvement chez le malade a été réalisé après un premier traitement antibiotique.

J'ai commencé à m'intéresser au diagnostic et au suivi des maladies infectieuses quand je travaillais sur de nouvelles méthodes pour découvrir des antibiotiques, au sein de l'Agence américaine de projets

de recherche avancés pour la défense. L'objectif était de trouver, parmi des milliers de candidats, des composants qui neutralisent de nombreuses espèces de bactéries différentes, en détruisant un segment d'ARN (un acide nucléique similaire à l'ADN et essentiel au fonctionnement de toutes les cellules vivantes) qu'elles ont en commun.

Avec mes collègues, nous avons utilisé des appareils nommés spectromètres de masse pour déterminer si les médicaments potentiels se fixaient à l'ARN bactérien. Ces appareils permettent de déterminer la masse des molécules avec une grande précision. En soustrayant à la masse totale obtenue celle, connue, de l'ARN bactérien, nous pouvions déduire la masse de n'importe quel composant qui y était collé – de la même façon qu'on pèserait un chien en montant avec lui sur une balance et en soustrayant son propre poids. Chaque composant ayant une masse unique, nous

déterminions alors sa nature à partir de sa masse.

Nous avons remarqué que cette technique permettrait d'identifier des bactéries, des virus, des champignons et des parasites. Il suffirait de « peser » quelques brins bien choisis d'ARN ou d'ADN de ces organismes. Chaque brin est composé de sous-unités, ou nucléotides, souvent désignées par des lettres: A (adénine), C (cytosine), G (guanine) et soit U (uracil) pour l'ARN, soit T (thymine) pour l'ADN. Certaines séquences d'acides nucléiques sont caractéristiques de pathogènes donnés.

Retrouver la composition d'un ARN à partir de sa masse

Comme les poids moléculaires des nucléotides diffèrent notablement l'un de l'autre, on peut déterminer la composition d'un brin particulier à partir de sa masse. Par exemple, un brin d'ADN pesant 38765,05 daltons (le dalton correspond à $1/12^e$ de la masse de l'atome de carbone ^{12}C et vaut environ $1,66 \times 10^{-27}$ kilogramme) contient les nucléotides suivants: 43 adénines, 28 guanines, 19 cytosines et 35 thymines. Cette combinaison est la seule à donner cette masse moléculaire précise sans avoir recours à des fractions de nucléotide, qui n'existent pas dans la nature. On déduit ensuite de cette composition l'espèce de micro-organisme correspondante.

Pour identifier les pathogènes, on doit distinguer leur ADN ou leur ARN de ceux du patient dans l'échantillon. La plupart du temps, la quantité d'ADN ou d'ARN étranger présente dans les cultures ne suffit pas pour les mesures et il faut en réaliser des copies. Au lieu d'attendre que les microbes se développent en culture, on utilise une technique nommée amplification par PCR (pour *Polymerase Chain Reaction*, ou réaction en chaîne par polymérase), où des enzymes nommées polymérases dupliquent les acides nucléiques et amplifient ainsi la quantité d'ADN ou d'ARN présente. La PCR sert à détecter des pathogènes depuis longtemps, mais seulement quelques-uns d'entre eux à la fois. Mes collègues et moi l'avons couplée à la spectrométrie de masse, afin de développer une méthode qui autorise la détection simultanée de nombreux organismes.

La clef est de limiter la quantité d'acide nucléique à multiplier par PCR pour obtenir

L'AUTEUR



David ECKER est chercheur et inventeur chez Ibis Biosciences, une filiale de la compagnie pharmaceutique américaine Abbott.

un diagnostic certain. Nous y parvenons en étant très sélectifs sur les segments d'ADN ou d'ARN à dupliquer. Nous ne nous intéressons qu'à des séquences de nucléotides connues pour contenir deux sous-régions adjacentes très utiles pour le diagnostic: l'une est commune à tout un groupe de bactéries (par exemple le groupe des bactéries qui se colorent de façon spécifique dans un test nommé coloration de Gram, au fondement de la classification des bactéries depuis le XIX^e siècle) et l'autre est spécifique d'une espèce au sein de ce groupe (par exemple le staphylocoque doré, *Staphylococcus aureus*). Cibler de multiples séquences de ce type permet d'identifier des catégories et des sous-catégories sans allonger inutilement la procédure.

Après avoir extrait l'ARN ou l'ADN des micro-organismes, nous leur ajoutons des amorces, c'est-à-dire de courts morceaux d'ADN similaires à ceux qui amorcent la copie des nucléotides dans une cellule vivante. Ces amorces se fixent sur les fragments ciblés, qui sont multipliés par les enzymes de la PCR. Nous « pesons » ensuite les fragments au moyen du spectromètre de masse, puis nous comparons les valeurs obtenues avec celles d'une base de données, où nous avons répertorié les caractéristiques de plus d'un millier d'organismes connus pour être infectieux chez les humains. Ce dispositif constitue un détecteur universel de pathogènes, capable d'identifier le vecteur de la maladie chez un patient en seulement quelques heures.

Un prototype testé en 2009

Un prototype a été testé dans des conditions réelles en 2009, lorsqu'une fillette de neuf ans et un garçon de dix ans, habitant à deux endroits différents du Sud de la Californie, ont présenté des symptômes ressemblant à ceux de la grippe. Un frottis de la gorge (prélèvement de cellules en raclant la surface) a été effectué chez ces enfants et les échantillons ont été soumis à des tests rapides et standards de dépistage de la grippe. Les résultats suggéraient que le virus de la grippe était bien responsable de la maladie, mais ne permettaient pas d'identifier la souche en cause.

Les échantillons ont été envoyés à la ville voisine de San Diego, où le Centre de recherche médicale de la marine testait

L'ESSENTIEL

■ On développe des détecteurs capables d'identifier en quelques heures une bactérie, un virus ou un parasite ayant contaminé un malade.

■ Grâce à ces biocapteurs, les patients recevraient un traitement adéquat plus tôt et les médecins ne prescriraient plus inutilement certains antibiotiques.

■ L'interconnexion d'un petit nombre de ces détecteurs permettrait de repérer les épidémies de façon précoce.

■ Les principaux obstacles à la création d'un tel réseau ne sont pas techniques, mais d'ordre institutionnel.