

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.

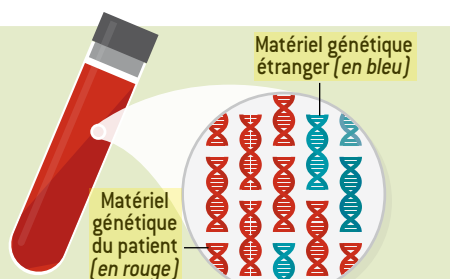
■ Les principaux obstacles à la création d'un tel réseau ne sont pas techniques, mais d'ordre institutionnel.

DES DÉTECTEURS RAPIDES DE PATHOGÈNES

Chez l'homme, quelque 1 000 pathogènes sont susceptibles de causer une maladie. On cherche à développer des appareils capables d'identifier rapidement lequel est présent chez un patient, grâce à une combinaison d'outils empruntés aux mathématiques, à la physique et à la biologie. Un réseau de tels détecteurs de pathogènes, répartis sur le territoire, pourrait émettre des alertes précoces lors du déclenchement d'une épidémie ou d'une attaque biologique. Ces appareils aideraient aussi à choisir les traitements les plus efficaces.

Étape 1

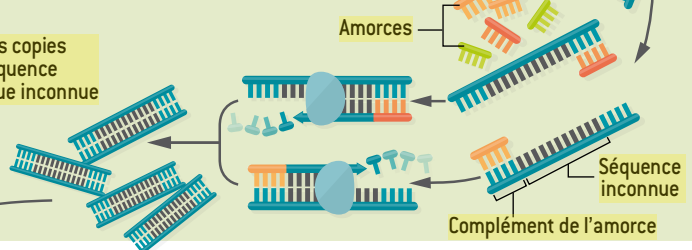
Un technicien fait une prise de sang à un malade. La majorité du matériel génétique (composé d'acides nucléiques) présent dans un échantillon provient du patient, mais une petite partie appartient au micro-organisme qui cause la maladie.



Étape 2

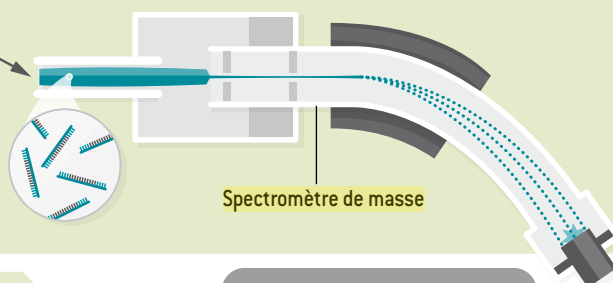
Des fragments d'acides nucléiques, qualifiés d'amorces et choisis avec soin, sont ajoutés au mélange. Les amorces se fixent sur des séquences génétiques étrangères qui sont identiques pour toute une gamme d'espèces et situées près de séquences spécifiques d'un microbe donné. De multiples copies des sections regroupant ces séquences sont ensuite réalisées, grâce à un procédé nommé PCR (Polymerase Chain Reaction).

Multiples copies de la séquence génétique inconnue



Étape 3

Un appareil nommé spectromètre de masse détermine la masse moléculaire du matériel génétique amplifié. On déduit de cette mesure la composition en acides nucléiques des séquences inconnues.



Étape 4

On détermine l'identité du pathogène en comparant la composition en acides nucléiques de ses séquences génétiques avec celles de virus, bactéries ou champignons répertoriés dans une base de données.



notre prototype. Ce dernier a déterminé que les deux enfants avaient été infectés par la même souche virale, alors inconnue. Le dispositif a aussi permis de montrer que le virus avait été récemment transmis à l'homme par les porcs, car son ARN était voisin des souches de grippe répertoriées chez ces animaux. En outre, il correspondait à des échantillons plus tardifs de ce qui allait bientôt être connu comme le virus pandémique de la grippe porcine (H1N1).

L'alerte précoce lancée lors de la découverte de ces deux premiers cas a-t-elle sauvé des vies ? On ne peut l'affirmer, mais elle n'a certainement pas fait de mal, et une technique routinière capable d'identifier une nouvelle souche virale serait en tout cas précieuse pour repérer des débuts d'épidémie.

Les détecteurs universels de pathogènes doivent encore faire leurs preuves dans des situations où les médecins n'ont aucune idée de ce qui rend leurs patients malades. Ils peuvent aussi aider à la prescription de médicaments. En effet, l'identification de la souche de bactéries en cause renseigne sur la sensibilité du pathogène aux différents antibiotiques, et permet de prescrire immédiatement les plus appropriés. Les patients guériraient ainsi plus vite, même quand ils sont infectés par des souches résistantes, car ils recevraient plus tôt le traitement optimal.

Une révolution pour l'épidémiologie

De telles machines permettront aussi aux cliniciens de déterminer rapidement si plusieurs habitants d'une région ont été infectés par le même organisme, telle la salmonelle, une cause répandue d'intoxication alimentaire. Lors d'une enquête épidémiologique, la méthode classique consiste à interroger les patients et à retracer leurs déplacements récents, afin de trouver leur éventuel point commun – comme la fréquentation d'un restaurant particulier ou l'ingestion d'un même ingrédient présent dans une salade.

Cette méthode a été appliquée dès le milieu du XIX^e siècle. Le médecin britannique John Snow s'en est ainsi servi à Londres en 1854 pour identifier l'origine d'une épidémie de choléra : il est alors remonté jusqu'à une pompe à eau collective. Une telle enquête peut prendre des semaines, voire des mois. C'est pourquoi