



Katia Jaton¹, Gilbert Greub¹

Le diagnostic moléculaire syndromique des maladies infectieuses

Ces 20 dernières années ont été marquées par le développement et l'avancement des techniques de biologie moléculaire en microbiologie. Ces méthodes ont révolutionné l'identification des microbes, la détection des pathogènes directement à partir des prélèvements cliniques et même le monitoring de la réponse à certains traitements antiviraux. Ils ont permis la détection de germes fastidieux, de croissance lente ou difficile, pour lesquels les méthodes traditionnelles restent peu sensibles. Cependant, pendant de nombreuses années, le diagnostic moléculaire n'était réalisé que dans les laboratoires spécialisés pour des indications limitées du fait de sa complexité.

Ces techniques d'amplification continuent à se développer et deviennent pour certaines d'entre elles de plus en plus automatisées. De plus leur coût a diminué, leur utilité clinique a été démontrée dans de nombreuses situations. Actuellement, le diagnostic moléculaire est utilisé de manière routinière dans beaucoup de laboratoires et son application clinique va continuer à s'étendre ces prochaines années. La révolution a eu lieu, la biologie moléculaire devenant le nouveau «gold standard» pour le diagnostic de plusieurs maladies infectieuses.

Jusqu'à il y a quelques années, une des limites majeures du diagnostic moléculaire microbiologique était le fait que chaque pathogène potentiel était ciblé de manière individuelle, l'approche syndromique n'était effectuée que dans certains laboratoires spécialisés [1]. Mais actuellement, de nombreux tests «prêts à l'emploi», fa-

temps du personnel. Les avantages majeurs de ces tests sont la rapidité du rendu des résultats et la facilité d'exécution. Ils peuvent être effectués 7/7 jours et 24h/24, ce qui est d'une réelle utilité lorsque l'on pense au diagnostic de la méningite par ex. Il y a également une nécessité d'obtenir un résultat rapidement (comme dans les autres disciplines de la médecine de laboratoire) pour guider le traitement, si possible ciblé, et ainsi éviter l'utilisation abusive des antibiotiques à large-spectre ou, lors de suspicion d'une maladie contagieuse, pour l'isolement du patient. Et de plus, vu les coûts médicaux à la hausse, il est de plus en plus important de reconnaître rapidement une maladie bénigne qui peut être soignée en ambulatoire, la distinguer d'une maladie grave nécessitant une hospitalisation.

Malgré tous ces avantages, nous sommes devant des questionnements importants quant au choix des tests; en effet aucun n'est complet, aucun n'est parfait et tous ont un prix non négligeable pour le laboratoire et pour les patients. De plus, comment aborder ces questions devant une pression importante de la part des firmes et des médecins qui souhaitent parfois avoir tous les panels à disposition, puis, lorsque certains laboratoires ouvrent cette boîte de pandore, s'interrogent sur la signification de certains résultats?

Les infections respiratoires communautaires sont une cible particulière pour les PCR multiplex. En effet une réponse rapide pourrait parfois faire renoncer à des antibiotiques (la plupart du temps s'agissant d'une étiologie virale), ou donner un antibiotique

ciblé, renvoyer le patient à la maison ou l'hospitaliser. Il est vrai que seuls quelques virus peuvent être traités et que l'identification des autres virus n'influence pas le traitement. En effet, l'identification d'une étiologie virale n'exclut pas une surinfection bactérienne ou une co-infection avec plus d'un virus. Mais il est clair que dans un contexte d'économie des coûts de la santé, les indications cliniques pour l'utilisation de ces tests sensibles et rapides doivent être connues et respectées. Ces tests syndromiques restent chers et ne devraient pas être utilisés pour n'importe quelle infection virale banale, qui ne nécessite pas de diagnostic étiologique. Par contre ils restent essentiels dans une population ciblée avec des symptômes respiratoires tels que les patients transplantés, les personnes immunocompromises, les patients aux soins intensifs, les patients avec une maladie respiratoire chronique, les enfants en détresse respiratoire, les nouveau-nés. Chez ces patients, les buts cliniques sont la réduction de la mortalité et de la morbidité et l'introduction d'un traitement spécifique si celui-ci existe. La probabilité pré-test est donc essentielle.

De plus toutes les étapes de l'analyse doivent être connues et contrôlées:

1. Au niveau pré-analytique

Pour le médecin: le bon prélèvement au bon moment chez le bon patient (probabilité pré-test).

Pour le laboratoire: la manipulation du prélèvement doit se faire selon les bonnes pratiques du **diagnostic moléculaire** afin d'éviter des contaminations entre deux prélèvements (n'ou-

Il est vrai que seuls quelques virus peuvent être traités et que l'identification des autres virus n'influence pas le traitement.

ciles à utiliser et capables de détecter un nombre impressionnant de bactéries, virus en une seule analyse, envahissent le marché. Cette technologie de multiplexage a permis d'augmenter l'offre de pathogènes recherchés, en diminuant les coûts réactifs et le

¹ Dr med. Katia Jaton, Prof. Gilbert Greub, Institut de Microbiologie, Centre Hospitalier Vaudoise (CHUV)



blions pas qu'il s'agit d'amplification). En effet actuellement, grâce à l'automatisation, le problème de contamination des tests moléculaires se situe surtout au niveau de la pré-analytique.

2. Au niveau analytique

Une quantification ou semi-quantification est nécessaire afin de pouvoir avoir un regard critique sur le résultat positif; est-il fortement ou faiblement positif, la courbe est-elle correcte? Ces éléments seront nécessaires pour l'interprétation finale. Par exemple, que faire d'un test positif pour la grippe en plein été chez un patient qui n'a pas voyagé? La visualisation de la courbe d'amplification, la quantification nous permettent d'interpréter ce test avec des éléments objectifs. Des contrôles externes sont nécessaires afin de vérifier la sensibilité et la spécificité analytiques de ces tests même s'ils sont prêts à l'emploi.

De même ces tests avant la mise sur le marché devraient être évalués par le fabricant et non pas par les laboratoires qui se retrouvent en position de « testeurs » malgré eux. De plus des publications scientifiques montrant des valeurs de sensibilités, spécificités, valeurs prédictives positives et négatives sur une population « normale » versus ciblée devraient être à disposition.

3. Au niveau post-analytique

La connaissance du test est essentielle. Quels sont les pathogènes ciblés? Sont-ils tous des pathogènes stricts? Quelle est la probabilité pré-test? En fait l'interprétation d'une détection moléculaire doit être faite en fonction du prélèvement, du type de patient et de la situation épidémiologique.

Les infections gastro-intestinales sont également une cible intéressante pour les PCR multiplex [2] et nous assistons à une révolution technologique avec l'introduction des méthodes moléculaires classiques et rapides. Quoi de plus attractif que d'avoir en une à deux heures un résultat pour, comme

certaines systèmes le proposent, 22 cibles incluant des bactéries, parasites et virus à l'origine de diarrhées? Cependant parmi ces 22 pathogènes ciblés, combien sont pertinents pour le clinicien? Comment interpréter certains résultats positifs pour un « virus exotique »?

Dans ce contexte, à nouveau, les trois étapes essentielles des tests de laboratoires doivent être suivies: la pré-analytique, l'analytique et surtout l'interprétation post-analytique du résultat en fonction de la clinique, de l'épidémiologie. Un des points essentiels à retenir est que les analyses moléculaires mettent en évidence aussi bien les organismes vivants que les organismes morts et l'on sait que l'ADN bactérien peut persister très longtemps selon les microorganismes et/ou leur localisation chez l'hôte. La persistance ou durée de PCR positives post-gastro-entérite est actuellement inconnue pour plusieurs pathogènes et par conséquent, une PCR peut rester positive plusieurs jours/semaines/mois après un épisode infectieux et peut donc refléter soit une infection active, soit une infection passée ou soit un portage asymptomatique. De plus nous savons que environ 8% des individus sont porteurs de STEC faiblement pathogènes, ce qui a déjà entraîné une nette augmentation des cas suspects que le NENT reçoit pour confirmation [3], et ces PCR n'étant pas quantitatives, un suivi de l'infection est totalement contre-indiqué. Un autre effet inattendu de la rapidité des tests est que le médecin peut traiter tout de suite le malade sans attendre les trois jours des résultats de la culture, période qui suffit souvent à faire diminuer les symptômes et à renoncer à tout traitement; ceci pourrait faire augmenter la consommation des antibiotiques, alors que l'un des avantages escompté est une diminution de cette consommation. Dans ce contexte, une mise en culture, bien que moins sensible, reste utile pour la détermination de la susceptibilité aux antibiotiques et pour une éventuelle enquête épidémiologique.

Die syndromische Molekular Diagnostik von Infektionskrankheiten

Die letzten 20 Jahre waren in der Mikrobiologie von der Entwicklung und den Fortschritten der molekularbiologischen Techniken geprägt. Diese haben die Identifikation von Mikroben, den direkten Nachweis von Krankheitserregern anhand klinischer Blutproben und sogar die Überwachung des Ansprechens auf bestimmte antivirale und viele andere Behandlungen revolutioniert. Derzeit erobern zahlreiche Schnelltests den Markt. Das Multiplex-Verfahren hat es ermöglicht, das Angebot der getesteten Krankheitserreger zu erweitern und gleichzeitig die Reaktionskosten sowie den personellen Zeitaufwand zu verringern. Angesichts der steigenden medizinischen Kosten wird es zunehmend wichtiger, eine harmlose Erkrankung, die rasch ambulant versorgt werden kann, von einer schweren, die einen Spitalaufenthalt erfordert, unterscheiden zu können. Trotz all dieser Vorteile stellen sich wichtige Fragen bezüglich der Testwahl. Denn keiner der Tests deckt das vollständige Erregerspektrum ab oder ist perfekt, und alle haben einen für das Labor und die Patienten stolzen Preis. Wie kann man dies in einer angespannten Notfallsituation am besten ansprechen?

Le laboratoire de microbiologie d'hier a évolué, les méthodes changent et doivent être prises en considération. Cependant leurs performances doivent être connues, et une bonne communication entre les laboratoires et les médecins cliniciens est essentielle afin de tirer parti des avantages de ces nouvelles technologies et d'éviter une spirale infernale technologique.

Correspondance:
Gilbert.Greub@chuv.ch

Références

- 1 Ten years of R&D and full automation in molecular diagnosis. Gilbert Greub, Roland Sahli, René Brouillet and Katia Jaton. *Future Microbiol.* 2016;11(3):403–25.
- 2 Panels gastro-intestinaux par PCR multiplex pour la prise en charge des diarrhées du voyageur: performants et utiles. Laurence Rochat, Antony Croxatto, Serge De Vallière, Valérie D'Acremont, Blaise Genton. *Rev Med Suisse*, 2017; 13: 963–7.
- 3 Augmentation inattendue du nombre de déclarations d'infections à E. coli entéro-hémorragique ces derniers mois en Suisse: influence des nouvelles méthodes de PCR multiplex employées pour le diagnostic primaire? OFSP, 2015, Bulletin 52: 988.