

Les tests rapides en bactériologie

A. Doléans¹

Y. Issabré²

J. Freney¹

¹ Laboratoire de microbiologie, EA 3090, ISPBL, Université Claude Bernard Lyon I, 8, avenue Rockefeller, 69373 Lyon
jean.freney@chu-lyon.fr

² Chef de projet diagnostics rapides, Laboratoires bioMérieux, chemin de l'Orme, 69280 Marcy l'Etoile

Résumé. L'évolution des biotechnologies et des possibilités de miniaturisation ont permis l'explosion de tests « dits » rapides dans le domaine du diagnostic médical au cours des dernières décennies. Cela explique leur part sans cesse croissante sur le marché international. Basés sur des méthodes immunologiques ou biochimiques, ces tests présentent de nombreux avantages par rapport aux tests classiques tels que rapidité, simplicité de réalisation, rendu précoce des résultats ou possibilité de délocalisation. Ces qualités en font des tests de choix aussi bien dans le domaine de l'urgence que dans celui des examens de routine. Les tests rapides demeurent cependant assez peu exploités dans le secteur de l'infectiologie et de la bactériologie en particulier. Ils concernent essentiellement le dépistage des infections urinaires, le suivi de certains paramètres infectieux ainsi que le diagnostic plus spécifique d'un nombre restreint d'espèces bactériennes. Les tests disponibles ont été mis sur le marché récemment. Cela explique le développement actuel limité de ces tests au niveau du laboratoire de bactériologie clinique. De plus, l'aspect réglementaire lié à l'utilisation de ces tests avec, en particulier, les notions de responsabilité, reste à définir. Cependant, les innovations industrielles constantes associées à l'expérience des biologistes devraient leur permettre de trouver naturellement leur place parmi l'ensemble des examens disponibles dans le milieu médical.

Mots clés : *test rapide, diagnostic bactériologique, immunoanalyse*

Summary. Advances in biotechnologies and miniaturization over the past few decades have led to an explosion in the number of rapid tests in *in vitro* diagnosis and explain their ever-growing presence in international markets. Although based on classic immunological and biochemical methods, these tests deliver many more benefits for laboratories. They are rapid and simple to perform, provide results rapidly and can be performed in remote laboratories, making them invaluable for both routine and emergency analyses. As beneficial as they may be, however, they still have a long way to go before they find widespread use in infectious disease control. Currently, rapid testing methods are used only to screen for urinary tract infections, monitor certain infectious parameters and make more accurate diagnosis of a still small number of species of bacteria. This narrow catalogue of available tests is yet another disadvantage in a list of drawbacks typically associated with rapid tests. A good portion of complaints centers on the fact that they are still too recent to have sufficient information on their levels of sensitivity and reliability. Furthermore, regulations, in particular concerning accountability, remain to be established. Nevertheless, constant innovation coupled with the experience of laboratory professionals in the field should open the way for rapid testing to earn its place in the line-up of medical laboratory tests.

Key words: *rapid test, bacteriology, immunoassay*

Article reçu le 16 octobre 2002,
accepté le 9 décembre 2002

Tirés à part : J. Freney

Les anciens Hindous avaient remarqué que les urines de certains malades décharnés et constamment assoiffés attiraient les fourmis et les mouches [1]. Cette observation représente l'un des premiers tests rapides de diagnostic du diabète. Plus tard, Thomas Willis, le grand médecin anglais du XVII^e siècle, gouttait les urines au chevet de ses patients, et une saveur sucrée orientait son diagnostic. La notion de test rapide n'est donc pas récente. Cependant, malgré ces exemples historiques, l'utilisation de ce type d'analyse dans le domaine médical est restée relativement confidentielle jusqu'au début des années 1980. Grâce à l'apparition de nouvelles technologies et les possibilités de miniaturisation, elle connaît un développement considérable ces dernières années, en particulier dans le domaine de la biochimie [2].

Un diabétique qui surveille sa glycémie à domicile par une simple piqûre au bout du doigt utilise un test rapide. De nombreux tests de grossesse et alcootests sont en vente libre. La réalisation de bandelettes urinaires pour des tests biochimiques classiques (glycosurie, cétonurie) mais aussi de prédiction de l'infection (leucocyturie, production de nitrites) est devenue pratique courante dans de nombreux services hospitaliers. Aux États-Unis, le test rapide de dépistage du streptocoque de groupe A dans la gorge est disponible depuis 1980. En France, ce test devrait être utilisé à partir de 2003.

Bien que le principe du diagnostic rapide présente de nombreux avantages, il suscite cependant une certaine réticence de nombreux biologistes qui craignent entre autres les risques liés à une utilisation excessive par du personnel non spécialisé. De plus, en ce qui concerne la bactériologie, ce type de tests reste cependant encore peu exploité par rapport à celui de la biochimie par exemple.

Place des tests rapides sur le marché

Les tests rapides occupent une place croissante au sein du marché du diagnostic biologique. Comme le montre la *figure 1* cette croissance est plus rapide que celle observée pour les tests classiques [3]. Selon Kost [4], la part de ces tests sur le marché augmente de 15 à 20 % par an. Les enjeux économiques considérables incitent les firmes pharmaceutiques à investir dans cette nouvelle voie. Les améliorations ont porté en particulier sur la miniaturisation des instruments analytiques.

Les tests rapides sont donc de plus en plus utilisés. Après une première implantation dans les pays anglo-saxons et peu à peu dans l'ensemble des pays industrialisés, ce marché s'oriente maintenant vers les pays en voie de développement. En effet, ces techniques qui allient rapidité, simplicité de réalisation et de lecture et possibilité de délocalisation correspondent parfaitement aux besoins de ces pays.

Définitions

Lorsque l'on évoque les tests rapides, on ne désigne pas un type d'examen particulier, mais plutôt un ensemble de situations analytiques dont les caractéristiques varient en fonction des pays. Ainsi, aux États-Unis, sous le terme vague de tests rapides sont regroupés les :

- PST ou *patient self testing* ou *home testing* qui sont des tests réalisés par le patient lui-même ;
- POL ou *physician office labs* ou *doctor's tests* ou tests réalisés par le médecin ;
- POCT ou *point of care testing* ou tests réalisés par un centre de soins (hôpital, dispensaire, ambulance).

Cependant, certains critères communs à l'ensemble de ces tests permettent de définir un test rapide comme un test analytique répondant aux conditions essentielles comme la réalisation rapide même en dehors du laboratoire permettant l'obtention de résultats précoces ainsi que l'utilisation aisée sans interférence sur la qualité du résultat.

Cette définition générale reprend les critères du *College of american pathologists* qui considère les POCT comme des examens biologiques prescrits au sein d'une institution médicale, mais qui peuvent être réalisés hors de l'enceinte d'un laboratoire. Ces tests possèdent, en plus des appellations citées plus haut, un grand nombre de dénominations anglo-saxonnes telles que *bedside testing*, *near-patient testing*, *physician's office testing*, *extra-laboratories testing*, *over the counter*, *decentralized testing*, *off-site*, *ancillary testing and alternative site testing* ou françaises telles que tests délocalisés ou tests décentralisés.

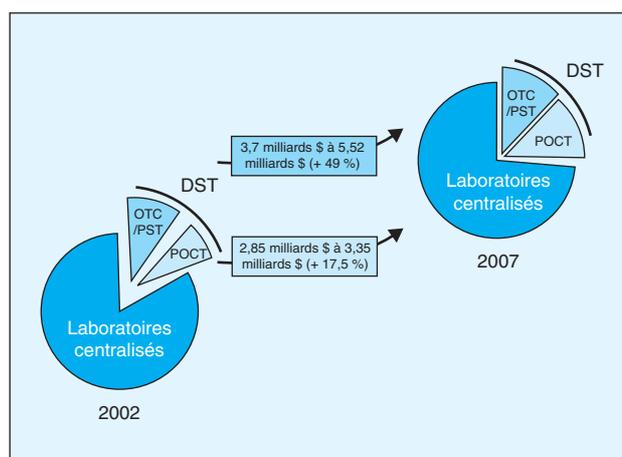


Figure 1. Le marché mondial de diagnostic *in vitro*. Ce marché est estimé à un budget total de 24 milliards de dollars en 2002 [3]. PST : *patient self testing* ; POCT : *point of care testing* ; DST : *decentralised site tests* ; OTC : *over the counter*.

Avantages

Ils sont constitués par la rapidité, la facilité et la possibilité de réalisation du test au lit du malade, dans les ambulances, ou sur le terrain (dispensaires de brousse).

Rapidité

Elle est obtenue en modifiant l'ensemble des étapes analytiques [5]. La phase préanalytique est réduite par la suppression de certaines étapes. Le test étant effectué près du malade, il n'y a pas de nécessité de transport du prélèvement au laboratoire. De plus l'échantillon est analysé dans la plupart des cas sans intervention du manipulateur (centrifugation, séparation, pipetage). La procédure d'étiquetage et d'enregistrement avant l'examen du prélèvement est également réduite. La phase analytique est elle aussi simplifiée. Enfin la phase post-analytique est raccourcie car après une lecture des résultats, ceux-ci sont aussitôt transmis au clinicien. De plus une seule personne effectue ce test, ce qui réduit le temps de l'analyse et le risque d'erreur [6]. Comme le montre la *figure 2* un contrôle de qualité rigoureux est effectué à chaque étape. Celles-ci étant réduites, la durée du contrôle l'est également. Il en est de même pour le TTAT (*therapeutic turn around time*), c'est-à-dire le temps entre la prescription du test par le médecin et le rendu des résultats (*figure 3*) [7, 8].

On peut envisager qu'un médecin qui a connaissance des résultats en temps réel puisse prendre une décision théra-

peutique plus rapide. Cela devrait améliorer le pronostic et entraîner une réduction de la morbidité et de la mortalité et donc du coût correspondant à une hospitalisation prolongée [6, 9]. Cela devrait limiter également l'encombrement des services d'urgence.

Ces méthodes étant rapides, elles peuvent être facilement intégrées à une routine journalière. Elles permettent ainsi un suivi « au jour le jour » de l'état du patient. On peut ainsi détecter une rechute et intervenir immédiatement ou au contraire arrêter le traitement. La prise de médicaments peut être aussi mieux suivie et toute mauvaise compliance décelée et corrigée.

Simplicité

La lecture et l'interprétation étant faciles, la réalisation du test peut être effectuée par du personnel non biologiste (aide-soignant, médecin, infirmier, patient).

Possibilité de délocaliser les tests

Les tests rapides semblent bien adaptés aux structures de soins dont la capacité financière ne permet pas la création et le fonctionnement d'un laboratoire d'analyses.

Cette délocalisation donne la possibilité pour le patient de réaliser ces tests chez lui (*home test*). Dans le cas du diabète par exemple, un suivi régulier de la pathologie par le malade est effectué, permettant souvent une responsabilisation de celui-ci face à sa maladie. Un autre avantage des tests rapides est la discrétion qu'ils assurent comme dans le cas de maladies sexuellement transmissibles. Cela peut également constituer un inconvénient (voir plus loin).

Cette délocalisation pourrait modifier dans l'avenir la structure des réseaux hospitaliers. Ainsi, au lieu d'avoir des laboratoires de grande taille disséminés un peu partout, on observerait le regroupement des analyses complexes dans un laboratoire central, et l'implantation de petites unités satellites en périphérie plus nombreuses et plus faciles d'accès, permettant la réalisation des diagnostics moins complexes (*tableau 1*) [10].

Autres avantages

Les tests rapides peuvent faciliter dans certains cas le dépistage à grande échelle et de manière précoce des infections bactériennes [11]. Les méthodes ont de plus en plus tendance à être moins invasives et donc moins traumatisantes pour le patient (voir paragraphe sur *Helicobacter pylori*).

Ces tests devraient en théorie permettre de réduire les coûts hospitaliers. Cette notion essentielle est cependant difficile à appréhender. Il faudrait réaliser une étude macroéconomique en regroupant diverses données (durée des séjours, traitements antibiotiques et autres, examens complémentaires, mise en œuvre des équipements et structures du laboratoire central) [10]. Le test en lui-même est en effet sou-

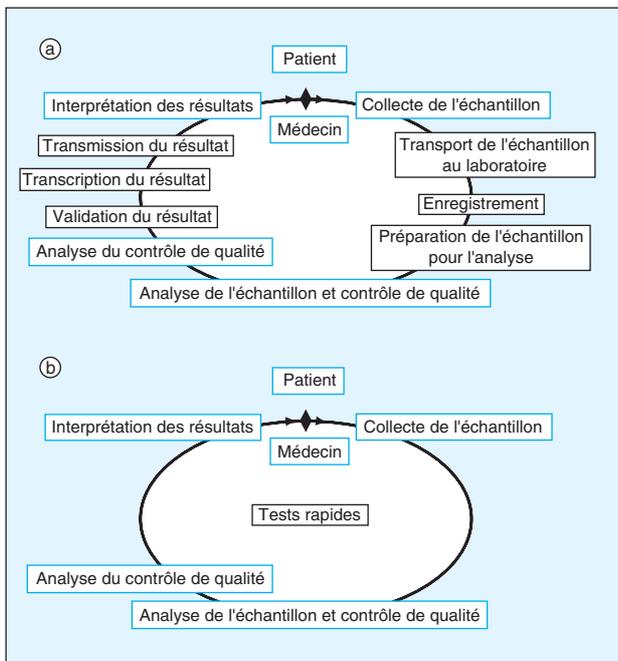


Figure 2. Le cycle du diagnostic. Les différentes phases analytiques d'un diagnostic avec un test classique (a) et avec un test rapide (b) [8].

vent plus coûteux que l'analyse effectuée en laboratoire. En revanche, une analyse plus globale de l'utilisation de ces POCT incluant l'ensemble des frais liés à l'hospitalisation, montre que finalement les tests rapides réduiraient les coûts [12]. Kost *et al.* évoquent la nécessité d'une étude économique standardisée afin de comparer les coûts des POCT par rapport aux méthodes classiques [10].

Enfin d'un point de vue purement pratique, ces tests sont généralement peu volumineux ce qui facilite leur transport notamment dans des situations d'urgence (dans les ambulances par exemple). Ils sont également robustes, ne demandent qu'une maintenance minimale et des conditions de stockage peu rigoureuses. Cet aspect représente un point essentiel pour l'implantation de ces tests dans les pays en voie de développement où l'obtention de la chaîne du froid pour la conservation des réactifs est souvent précaire.

En conclusion, les tests rapides permettraient de simplifier grandement les procédés actuels d'analyses médicales. Cela aboutirait à une meilleure prise en charge du patient et à une amélioration des conditions de travail du personnel soignant. Selon une enquête récente, 94 % des médecins estimaient que les tests rapides de détection du streptocoque du groupe A dans la gorge constituaient un progrès et étaient prêts à l'utiliser à condition qu'ils soient remboursés par la Sécurité sociale [13]. Les patients semblent également pouvoir bénéficier de ces nouvelles possibilités de diagnostic. Ces méthodes sont peu invasives et donc facilement supportables. Elles devraient permettre une réduction du nombre de visites chez le médecin traitant et, grâce à des diagnostics plus ciblés, une réduction des dépenses en médicaments. Une étude réalisée en Bourgogne en 1999 par l'Union régionale des caisses d'assurance maladie sur l'utilisation d'un test de diagnostic rapide du streptocoque du groupe A a démontré que 97 % des patients ayant participé à cette étude étaient prêts à réutiliser ce test et que

87 % d'entre eux étaient disposés à le recommander à leurs proches. Au final, ces tests rapides devraient permettre une meilleure relation patient/médecin.

Aspects réglementaires

Les États-Unis ont été les premiers à développer à grande échelle les tests rapides. Cet intérêt s'est traduit par une explosion de ces analyses sur le marché des examens biologiques. L'état américain a jugé nécessaire de contrôler cette multiplication par des textes réglementaires. C'est ainsi qu'a été proposé en 1988, le *Clinical laboratory improvement amendment (CLIA'88)*. Cet amendement permet une surveillance et un contrôle de l'ensemble des tests biologiques mis sur le marché ainsi que les programmes d'utilisation de ces tests au niveau des sites de santé désirant utiliser ces techniques. Il a été établi pour cela une sorte de cahier des charges, dans lequel se trouvent des recommandations. Elles portent sur les tests eux-mêmes (sensibilité, spécificité) ainsi que sur tout ce qui y est rattaché (formation du personnel par exemple). Si un hôpital souhaite mettre en place un programme de tests rapides dans certaines de ses unités, il doit être en conformité avec cet amendement. Le programme est pour cela contrôlé par un des organismes rattachés au CLIA (COLA, CPA) ou par un agent fédéral. La qualité du programme est évaluée et les points faibles sont signalés. Une fois ceux-ci modifiés, l'hôpital est conforme au CLIA et peut donc débiter son programme.

Ces tests doivent répondre à trois obligations :

- 1) la *Food and drug administration (FDA)* doit évaluer la technologie, l'utilisation que peuvent en avoir les cliniciens, le marché potentiel, les performances ainsi que les bénéfices que peuvent apporter ces tests [14] ;
- 2) la méthodologie doit être simple et la probabilité d'erreur négligeable ;
- 3) dans le cas de tests effectués par les patients eux-mêmes, ils ne doivent présenter aucun risque majeur même s'ils sont mal réalisés.

Aux États-Unis, les tests de laboratoire sont classés en trois catégories en fonction de leur degré de complexité et de faisabilité (*high complexity test*, *moderate complexity level test* et *waived test*, catégorie qui regroupe la majorité des tests rapides) (la liste des *waived tests* se trouve sur le site du CDC <http://www.phppo.cdc.gov/dls/clia/waived.htm>). En fonction du type de tests, les exigences du CLIA peuvent varier. Outre les États-Unis, seuls le Canada et l'Australie possèdent de telles recommandations gouvernementales. Pour les autres pays, on ne trouve aucun texte réglementaire de ce type (contrairement aux tests virologiques de dépistage du sida par exemple pour lesquels un protocole d'utilisation est clairement rédigé). C'est pour-

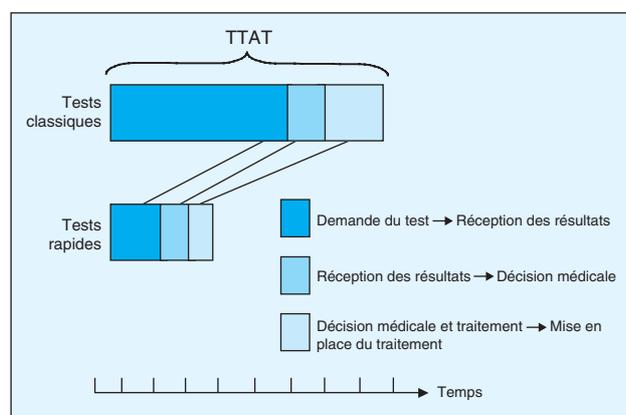


Figure 3. *Therapeutic-turn-around-time.* Les tests rapides diminuent le temps de chaque étape entre la prescription d'un test analytique et la prise de décision thérapeutique [10].

Tableau I. Lieux d'utilisation des tests rapides [9]

Lieux d'utilisation des tests rapides		
À l'hôpital	Hors hôpital	Équipes de secours
<ul style="list-style-type: none"> - unités de soins intensifs - laboratoires satellites - urgences, salles d'opération, salles d'accouchement 	<ul style="list-style-type: none"> - cliniques et centres spécialisés - centres de soins urgents - cabinets de médecins et praticiens - domicile - médecine préventive - dispensaires 	<ul style="list-style-type: none"> - dans l'espace - hélicoptères et autres véhicules pour transport de patients - bateaux, sous-marins - ambulances et autres véhicules d'urgence - lieu de l'accident - camps militaires et champs de bataille

quoi, dans certains de ces pays, des associations de professionnels ont établi des recommandations [15]. En France, les recommandations concernant la biologie délocalisée peuvent aider les biologistes qui souhaitent mettre en place des programmes de tests rapides dans leurs locaux [16]. Ces recommandations portent sur les analyses et l'équipement, la formation du personnel et l'assurance qualité. Le problème de la responsabilité y est évoqué. Ce texte insiste sur la nécessité d'une étroite collaboration entre le biologiste, le clinicien et l'administration.

À l'heure actuelle, il existe un problème d'uniformisation des protocoles et des réglementations entre les différents pays utilisant des tests rapides. Par exemple, certains pays obligent les institutions ayant recours aux tests rapides à contrôler la qualité de leurs méthodes par des tests de compétence. Ces tests sont des contrôles externes envoyés par des agences d'accréditation aux institutions. Cela permet une surveillance de la qualité des tests réalisés au sein de chaque structure, ainsi qu'une comparaison des institutions entre elles (*tableau II*) [8].

Principes techniques

Les techniques mises en œuvre au cours d'un test rapide sont essentiellement immunologiques. Il existe certains tests dont le principe repose sur des méthodes biochimiques et basés sur la mise en évidence de différents types d'activités enzymatiques bactériennes.

Méthodes immunologiques

Ce sont des méthodes d'agglutination ou des méthodes Elisa réalisées sur des échantillons cliniques. Elles reposent sur la détection des antigènes bactériens (méthodes directes) et des anticorps dirigés contre ces derniers (méthodes indirectes). Dans ce dernier cas, le diagnostic précoce est impossible car l'élévation des anticorps nécessite un certain délai. Les lectures de ces tests sont visuelles ou se font grâce à l'utilisation d'appareils de taille modeste (*pocket size, handheld, labtop*) installés directement dans les services.

Techniques d'agglutination et de coagglutination

En présence d'antigènes bactériens, des particules de latex recouvertes d'anticorps correspondants vont permettre de

visualiser une agglutination. Cette méthode proposée dans les années 1980 apparaît à présent obsolète. En effet, si elle a représenté une avancée dans le domaine du diagnostic par un rendu rapide des résultats (10 minutes contre 24 heures pour la culture), sa sensibilité peu élevée par rapport à la méthode de référence qui est la culture bactérienne représente un lourd frein à son utilisation. Hoffmann et Henrichsen en 1987 ont ainsi mis en évidence une spécificité de 98 % mais une sensibilité de seulement 73 % concernant un test de mise en évidence du streptocoque de groupe A dans la gorge (Culturette Brand Ten-Minutes Groupe A Strep ID[®]) [17]. Cette étude souligne de plus la différence de sensibilité en fonction du groupe de personnes qui réalisent ces tests, puisqu'au cours de l'étude, la sensibilité a varié de 52 à 77 %. Ces auteurs en concluent donc que ces tests ne peuvent pas remplacer la culture car un manque de sensibilité pourrait entraîner un diagnostic erroné. L'étude d'Andersen *et al.* en 1992 (spécificité 99 % et sensibilité 68 % pour un test de mise en évidence du streptocoque de groupe A) souligne elle aussi la faiblesse des réactions d'agglutination [18]. Outre leur manque de sensibilité, la difficulté de leur lecture a entraîné un désintérêt croissant au profit d'autres techniques immunologiques. Le test d'agglutination demeure cependant encore utilisé pour la détection de toxines bactériennes et de certaines espèces, notamment les streptocoques de groupe A [9].

Techniques Elisa

Les antigènes bactériens sont mis en contact avec les anticorps de l'échantillon. Il y a alors formation d'un complexe antigène-anticorps, et lors de l'étape de révélation les couples formés sont caractérisés. Plusieurs formes utilisant la technique Elisa sont disponibles :

– méthodes basées sur une révélation par réaction enzymatique : dans ces méthodes telles que la *Rapid enzyme immuno assay*, les anticorps utilisés dans la détection des antigènes bactériens sont associés à une enzyme. La révélation du complexe antigène-anticorps se fait par addition d'un substrat incolore de l'enzyme. L'action de celle-ci sur ce substrat entraîne l'apparition d'une coloration. Cette coloration est plus facilement détectable que les réactions d'agglutination précédentes et permet une évaluation qualitative ou semi-quantitative des antigènes bactériens. Cette

Tableau II. Régulation et recommandations concernant les POCT dans différents pays [7]

Pays	Régulation gouvernementale	Recommandations rédigées par des organismes professionnels	Test de compétence
Allemagne	Non	Oui	Oui
Argentine	Non	Non	Oui
Australie	Oui	Oui	Oui
Belgique	Non	Non	Non
Canada	Oui	Oui	Non
Chine	Non	Non	Non
Danemark	Non	Oui	Non
France	Non	Oui	Non
Italie	Non	Non	Non
Israël	Non	Oui	Oui
Norvège	Non	Oui	Oui
Nouvelle-Zélande	Non	Oui	Oui
Royaume-Uni	Non	Oui	Oui
Suède	Non	Oui	Oui
États-Unis	Oui	Oui	Oui

méthode se révèle plus sensible et plus spécifique que l'agglutination alors que le temps de réalisation est le même pour les deux techniques [19]. La sensibilité est cependant encore peu satisfaisante et implique la nécessité de contrôler tous les tests négatifs par une mise en culture de la bactérie afin d'éviter tout faux négatif ;

– méthodes basées sur les principes d'immunochromatographie (ICT) : une migration chromatographique est couplée à une révélation immunologique. Selon Price et Hicks, la sensibilité de ces dispositifs serait comprise entre 85 et 90 % [8]. Quelques exemples de dispositifs utilisant ces principes sont reportés dans les figures 4 et 5. Ils reposent sur la migration d'un échantillon liquide au travers d'une membrane de nitrocellulose. Dans cette membrane, les réactifs permettant la mise en évidence d'une molécule sont concentrés au niveau de bandes. La migration du flux, qui se fait soit de manière transversale, soit de manière latérale (figure 4), entraîne la coloration de ces zones. Une bande de contrôle apparaît systématiquement permettant d'affirmer la bonne migration du flux. En présence de la substance à détecter, une autre bande apparaît ; le test est alors déclaré positif. Ces tests se présentent sous deux formes : des bandelettes ou des cassettes. Les bandelettes, telles que celles utilisées pour le dépistage des infections urinaires, sont trempées dans l'échantillon alors que pour les cassettes, le liquide est déposé au niveau d'un buvard situé à l'intérieur du dispositif (figure 5) ;

– l'immunoessai optique est une réaction basée sur le changement des propriétés optiques d'une plaque de silicium. En présence de l'antigène bactérien, il y a formation d'un

complexe immunitaire qui entraîne une coloration jaune. Dans le cas contraire, la coloration est violette. Selon Price et Hicks, la sensibilité de cette méthode est excellente puisqu'elle peut atteindre 90 % [8]. Webb évoque une sensibilité de 89,1 % et une spécificité de 95 % pour un test diagnostique du streptocoque de groupe A [20].

Cette rapidité et cette facilité des tests de détection antigénique représentent une importante avancée surtout lorsqu'ils permettent le diagnostic de bactéries pour lesquelles la culture est impossible, longue ou difficile (*Chlamydia*, *Legionella*, *Mycobacterium*). De plus ces tests ont été perfectionnés de façon considérable grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux.

Actuellement, les principales améliorations des techniques Elisa consistent à les associer à des réactions de biologie moléculaire. Ces nouvelles techniques basées sur l'utilisation de sondes, de méthodes PCR et dernièrement de biopuces ou puces à ADN représentent le futur des tests rapides. Elles laissent espérer la fabrication de tests hautement sensibles et spécifiques portant aussi bien sur l'identification des bactéries que sur la mise en évidence de gènes de résistance aux antibiotiques [9].

Techniques biochimiques

Elles sont basées sur la mise en évidence d'une activité enzymatique bactérienne. Elles sont surtout utilisées pour le dépistage des infections urinaires (voir dans la deuxième partie : Principales applications). La leucocyturie est caractérisée par la mise en évidence de la leucocyte estérase produite par les polynucléaires neutrophiles. Le seuil de détection de cet examen est de l'ordre de 10 leucocytes/mm³ et le résultat est obtenu en 2 minutes [21]. À côté de ces tests urinaires, d'autres tests biochimiques ont été décrits tels que la mise en évidence d'*Helicobacter pylori* par l'activité uréasique [22].

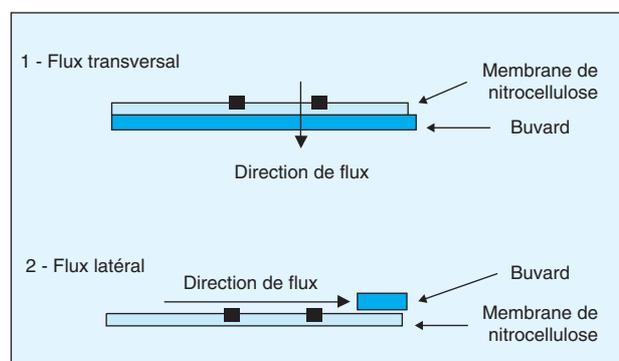


Figure 4. Principes généraux des différents types de migration des tests rapides.

Applications pour un diagnostic présomptif : marqueurs des infections urinaires

Les infections urinaires se classant au deuxième rang des pathologies infectieuses après les infections respiratoires, les analyses d'urine ou ECBU (examen cyto bactériologique des urines) représentent les examens les plus fréquemment réalisés en laboratoire [23]. Ils sont souvent très difficiles à interpréter car ils dépendent de paramètres variés liés à la fois à l'individu et à de nombreux facteurs exogènes [21].

L'intérêt des tests rapides dans le diagnostic présomptif d'infection urinaire a été largement démontré car ils permettent une décision thérapeutique immédiate. Ces tests sont généralement d'utilisation et d'interprétation faciles, et d'un coût modéré. Ils permettent un premier dépistage et un tri des urines. Ils sont d'autant plus efficaces pour le dépistage des infections urinaires qu'ils sont réalisés au lit du malade sur des urines du matin ou fraîchement émises. À l'exception de cas particuliers, seules celles présentant des signes d'infection seront dirigées vers le laboratoire pour y subir l'ECBU.

Les tests se présentent habituellement sous forme de bandelettes au niveau desquelles l'activité leucocyte estérase et la production de nitrites sont mises en évidence. La spécificité et la valeur prédictive positive (VPP) de ces méthodes sont excellentes, mais elles sont peu sensibles et ont une valeur prédictive négative (VPN) faible. Cette méthode fournit parfois des résultats erronés comme de faux négatifs si le taux de leucocytes est trop faible (< 15 leucocytes) et faux positifs en présence de leucorrhées, d'acide ascorbique, d'une grande quantité d'albumine, de nitrofurantoïne ou de gentamicine. La bactériurie est mise en évidence par le test des nitrites. Ces molécules sont produites par des bactéries qui possèdent une nitrate réductase. Au cours du métabolisme, cette enzyme réduit les nitrates en nitrites. C'est le cas notamment des entérobactéries dont *Escherichia coli* qui est la bactérie la plus fréquemment retrouvée au cours des infections urinaires. Le seuil de détection de ces tests est d'environ 10^6 UFC/mL et la lecture se fait en 30 secondes. Des faux négatifs sont quelquefois observés en présence de micro-organismes ne réduisant pas les nitrates (cocci à Gram positif et certains bacilles à Gram négatif aérobies, levures), mais aussi avec des urines diluées ou n'ayant pas séjourné suffisamment longtemps dans la vessie, un régime sans légumes, une prise de diurétiques ou un pH inférieur à 6,0. Des faux positifs peuvent être observés en présence de sang ou de colorants rouges. La réaction de mise en évidence de la catalase est quelquefois disponible, comme par exemple dans la technique de l'Uriscreen® [24]. Une association des différents tests permet d'augmenter la

sensibilité, la spécificité ainsi que leurs valeurs prédictives positive et négative.

Applications pour un diagnostic spécifique

Streptocoque du groupe A

Streptococcus pyogenes ou streptocoque de groupe A (SGA) est l'un des pathogènes les plus fréquemment rencontrés chez l'homme et se retrouve au niveau du rhinopharynx, de la peau et de l'anus [25]. Il est responsable de nombreuses pathologies, de type suppuratives ou non. Il est également responsable de complications locorégionales notamment au niveau cutané telles que érysipèle, cellulite [25] ou plus générales comme la glomérulonéphrite, le rhumatisme articulaire aigu ou la chorée de Sydenham. Son pouvoir pathogène est considérable. Les infections à streptocoques du groupe A constituent un grave problème de santé publique surtout dans les pays en voie de développement. Dans les pays développés, on observe une recrudescence des infections respiratoires hautes et une augmentation des séquelles liées à ce pathogène a même été observée aux États-Unis [26].

Le streptocoque du groupe A est responsable de nombreuses infections du haut appareil respiratoire, en particulier l'angine. En France, 9 à 11 millions de personnes consultent chaque année pour cette infection dont les critères de reconnaissance clinique sont très imparfaits. Les examens bactériologiques, pour leur part, nécessitent plusieurs jours de délai [27]. Très souvent, les médecins préfèrent traiter ces patients de façon empirique pour prévenir tout risque de complication et limiter toute diffusion de la souche [28]. Or ces angines bactériennes ne représentent pas la majorité des angines, puisque environ les deux tiers sont d'origine virale et ne nécessitent donc pas de traitement antibiotique. On

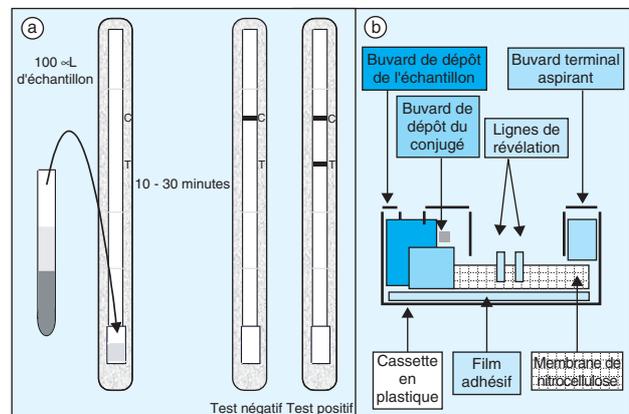


Figure 5. Procédure d'utilisation d'une cassette (a) et représentation de l'intérieur d'une cassette (b).

estime que seulement 25 à 50 % des angines sont dues à *Streptococcus pyogenes* chez l'enfant et 10 à 25 % chez l'adulte [13]. En France, chaque année, 8 à 9 millions de prescriptions abusives d'antibiotiques sont ainsi délivrées devant un tableau d'angine [13]. L'utilisation erronée de ces antibiotiques présente de nombreux inconvénients comme le risque de survenue d'effets indésirables (d'ordre digestif, allergique), le coût élevé des médicaments utilisés (en effet, la pénicilline qui est le médicament de référence n'est employée que dans 10 % des cas, les médecins ayant recours à des antibiotiques plus onéreux) et enfin l'émergence de souches résistantes. Cela explique également que la France se classe au premier rang des consommateurs européens d'antibiotiques soit 36,5 unités pour 1 000 habitants, juste devant l'Espagne (32,4), le Portugal (28,8) et la Belgique (26,7) contre seulement 8,9 unités pour 1 000 habitants pour la Hollande [29]. Le souhait des prescripteurs est donc de différencier rapidement une angine bactérienne d'une angine virale afin de limiter l'utilisation d'antibiotiques et ainsi la diffusion des phénomènes de résistance.

À l'heure actuelle, le diagnostic repose dans un premier temps sur les signes cliniques qui sont le plus souvent peu évocateurs et variables selon l'âge. La méthode biologique de référence reste la culture qui est une méthode longue et coûteuse et donc peu adaptée aux pays en voie de développement. Les tests rapides ont ainsi très vite justifié leur intérêt dans le diagnostic de l'angine à streptocoque. La plupart des tests proposés sont de type immunologique reposant sur des réactions de coagglutination, agglutination de particules de latex, Elisa et utilisant des anticorps contre des antigènes du streptocoque (streptolysine O, DNAase B, hyaluronidase, et streptokinase) [8].

Au cours de la X^e conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse de 1996, il a été estimé que l'utilisation de tests rapides pour les angines de l'adulte de plus de 25 ans permettrait de réduire d'au moins 2 millions le nombre de prescriptions d'antibiotiques. L'application de ces mesures conduirait à une économie de 23 millions d'euros (150 millions de francs).

Le problème essentiel de ces tests est représenté par un manque de sensibilité. Bien que des progrès significatifs aient été réalisés ces dernières années, permettant d'obtenir une sensibilité de l'ordre de 90 %, 10 % des angines streptococciques restent non détectées par les tests rapides [27]. Aux États-Unis, ce manque de sensibilité a conduit l'*American academy of pediatrics* et l'*American heart association* à recommander la prescription d'un prélèvement bactériologique classique afin de confirmer la négativité de ce résultat [20]. En France, les conclusions de la X^e conférence de consensus rapportent qu'il n'y a pas lieu de vérifier un test négatif chez un adulte. En revanche, pour l'enfant où le risque de RAA est présent, il semble préférable de contrôler ces résultats négatifs. Cependant, pour Ghanassia

et Reinert [27], cette sensibilité est suffisante et une augmentation de cette dernière pourrait avoir simplement comme effet une détection inutile des porteurs sains du germe et des diagnostics erronés d'angines streptococciques.

Aux États-Unis, où cette approche diagnostique est à présent généralisée, aucune augmentation des taux de complications liées aux angines n'a été observée [27]. On peut donc envisager un tel programme en France. Les médecins semblent de plus disposés à utiliser ce test [13]. Un programme d'évaluation mené par Portier en association avec l'Urcam (Union régionale des caisses d'assurance maladie) a montré que plus de 60 % des prescriptions d'antibiotiques pourraient être évitées en utilisant des tests rapides.

Parmi les autres streptocoques, *Streptococcus pneumoniae* et les streptocoques du groupe B sont aussi détectés par ces méthodes de tests rapides (tableau III) [30, 31].

Chlamydia trachomatis

Cette bactérie intracellulaire obligatoire se retrouve au niveau des cellules génitales et oculaires. Elle est responsable de nombreuses pathologies comme le trachome, les conjonctivites à inclusions de l'adulte, le lymphogranulome vénérien, les syndromes de Fitz-Hugh-Curtis et de Fiessinger Leroy Reiter, et enfin des infections urogénitales et néonatales. C'est une bactérie très largement répandue (10 à 20 % de la population mondiale). Selon Lee *et al.*, elle représenterait le pathogène à transmission sexuelle le plus fréquent dans les pays occidentaux [32]. On estime qu'aux États-Unis, 3 à 4 millions de cas sont rapportés chaque année ce qui représente un coût de 2 milliards de dollars [33]. De même, en France, dans certaines populations à risque, les taux d'infections génitales à *Chlamydia trachomatis* peuvent atteindre 15 %, voire plus [34].

Outre les infections oculaires et génitales, *Chlamydia trachomatis* est redoutée en raison des séquelles engendrées telles que l'inflammation génitale, la stérilité (association dans 50 % des cas) [35], la grossesse ectopique, les infections néonatales (conjonctivite ou pneumopathies alvéolo-interstitielles). Ces complications surviennent d'autant plus que les signes initiaux de l'inflammation pelvienne sont passés inaperçus. En effet, les infections à *Chlamydia* se développent le plus souvent en silence et restent donc non traitées. Les complications surviennent alors que *Chlamydia trachomatis* pourrait être facilement éradiquée [35]. La nécessité d'un dépistage précoce réalisable même si les signes sont absents est évidente puisqu'il permettrait en cas de diagnostic positif d'enrayer le développement de la maladie par un traitement adapté rapide.

Actuellement, le diagnostic de *Chlamydia trachomatis* repose sur plusieurs techniques : la culture qui demeure la méthode la plus sûre (*gold standard*) mais qui n'est pas réalisable partout et qui se révèle longue et coûteuse ;

l'immunofluorescence qui est une technique simple mais qui requiert un bon entraînement pour la lecture ; enfin, les tests basés sur la recherche de cellules à inclusion dont la sensibilité est mauvaise.

Des tests immunologiques permettant la détermination du genre (antigène MOMP : *major outer membran protein*) et de l'espèce (antigène LPS) ont été proposés et devraient permettre la prévention à grande échelle des épidémies à *Chlamydia trachomatis*, d'éviter les complications dramatiques qui y sont liées et de stopper la propagation de la maladie parmi les populations à risques.

Des tests rapides pour le dépistage d'autres bactéries responsables de MST, comme *Gardnerella vaginalis* ou *Neisseria gonorrhoeae*, ont également été proposés.

Helicobacter pylori

Cette bactérie à Gram négatif est responsable, en association avec d'autres facteurs environnementaux, du développement de la maladie ulcéreuse. Elle est retrouvée dans 90 % des ulcères duodénaux et dans 70 % des ulcères gastriques. Elle se trouve également associée au carcinome gastrique, au lymphome de MALT (90 % des lymphomes sont associés à une infection à *Helicobacter pylori*) et à certaines maladies cardiovasculaires. Elle représente le portage bactérien le plus fréquent au monde après la carie dentaire, avec une prévalence variant en fonction du niveau de vie (30 % en France, 80-90 % dans les PVD).

Le diagnostic de cette bactérie repose sur différents examens bactériologiques. La méthode de référence demeure la mise en culture de biopsie, mais cet examen se révèle souvent long, délicat et onéreux. Des études anatomopathologiques peuvent également être pratiquées ; leurs sensibilité et spécificité étant de très bonne qualité, à la condition d'être réalisées par un examinateur bien entraîné.

Un test rapide à l'urée (RUT pour *rapid urease test* ou CLO pour *Campylobacter like organism*), basé sur le changement de couleur d'un indicateur de pH (la phénolphtaléine), a été proposé. L'uréase bactérienne en agissant sur l'urée du milieu conduit à la libération d'ammoniac et de CO₂ qui entraîne une augmentation du pH. Ce test est réalisable directement après la biopsie, par le gastro-entérologue lui-même, qui mettra en évidence un simple changement de couleur facilement observable, ce qui diminue la part de subjectivité liée à l'interprétation du test [36]. La sensibilité de ces tests est de l'ordre de 80 % et la spécificité est excellente [22]. Des faux négatifs sont cependant rencontrés : la bactérie n'est pas détectée si elle n'est pas présente en assez grande quantité (uréase peu abondante), si le patient a pris des anti-ulcéreux et/ou des antibiotiques, ou si le prélèvement est souillé par du sang. De plus, il ne permet pas de déterminer la sensibilité de la souche aux antibiotiques à l'inverse de la culture.

Concernant les tests sérologiques, ce sont les anticorps de type IgG synthétisés à la suite de la réaction inflammatoire contre *Helicobacter pylori* qui sont détectés. Actuellement on utilise essentiellement une réaction de type Elisa sur les prélèvements sanguins. Les avantages de cette méthode sont là aussi la rapidité et la facilité, mais aussi l'aspect peu invasif puisque ces tests ne nécessitent pas de biopsie. Son coût est modéré et, en France, ce test est remboursé par la Sécurité sociale. Contrairement aux tests rapides à l'uréase, cette méthode ne permet un diagnostic qu'après quelques semaines puisqu'il faut un certain temps avant que les anticorps n'apparaissent. De même les taux d'anticorps diminuent plus tardivement après l'éradication de la bactérie, ce qui ne permet pas l'utilisation de ces tests dans le contrôle de l'efficacité d'un traitement. Ils sont plutôt utilisés dans le cadre d'une étude épidémiologique.

Actuellement les biologistes souhaitent rendre ces méthodes moins traumatisantes en utilisant non plus des échantillons sanguins, mais de l'urine ou de la salive. D'autres recherches sont menées dans le cadre de la détection des antigènes d'*Helicobacter pylori* au niveau des selles. Récemment, Fanti *et al.* ont testé un test Elisa et ont obtenu des résultats très prometteurs dans ce dernier prélèvement avec une sensibilité de 93 % une spécificité de 98 % [37].

Clostridium difficile

Cette bactérie à Gram positif, anaérobie et sporulée, représente un pathogène nosocomial très fréquent. Elle est l'agent causal de diarrhées et même de colites pseudomembraneuses qui peuvent être liées à un traitement antibiotique à large spectre. *Clostridium difficile* produit deux toxines, la toxine A ou entérotoxine, et la toxine B ou cytotoxine, qui sont à l'origine du pouvoir pathogène.

La détection de *Clostridium difficile* repose sur différentes méthodes basées soit sur la culture de la bactérie suivie de la caractérisation de la toxine, soit sur la mise en évidence directe de la toxine dans les selles [38]. À l'exception des réactions d'agglutination, qui présentent une sensibilité et une spécificité médiocres (voir plus haut), les autres tests de caractérisation de la toxine sont de bonne qualité. Bentley *et al.* ont trouvé en 1998 une sensibilité de 91 % et une spécificité de 98 % pour un test de détection de la toxine A [39]. Il existe une autre méthode basée sur la détection d'un antigène bactérien particulier, la GDH ou glutamate deshydrogénase. En ce qui concerne cette dernière technique, Staneck *et al.* ont obtenu une sensibilité de 83 % et une spécificité de 95 % [40]. Il est important de souligner cependant que la GDH n'est pas produite uniquement par *Clostridium difficile* [8].

Ce sont des techniques rapides (moins de 15 minutes au lieu de 24 heures pour la culture), simples, spécifiques et

Tableau III. Exemples de tests rapides en bactériologie

Bactérie	Nom du test	Laboratoire
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Prevue <i>B. burgdorferi</i>	Wampole
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Testpack <i>Chlamydia</i> Sure step <i>Chlamydia</i> test Immunocomb® <i>Chlamydia</i> bivalent <i>trachomatis-pneumoniae</i> IgG Immunocomb® <i>Chlamydia trachomatis</i> IgA Immunocomb® <i>Chlamydia trachomatis</i> IgG IC strip test for <i>Chlamydia</i> Quickvue® <i>Chlamydia</i> <i>Chlamydia</i>	Abbott Applied Biotech Orgenics Orgenics Orgenics Path Quidel Unipath
<i>Clostridium diphtheriae</i>	IC strip test for <i>Diphtheriae</i>	Path
<i>Escherichia coli</i>	Now® <i>E coli</i> O157 & O157 :H7	Binax
<i>Helicobacter pylori</i>	<i>H. pylori</i> test device (serum/plasma) <i>H. pylori</i> test device (whole blood/serum/plasma) <i>H. pylori</i> test strip (whole blood/serum/plasma) <i>H. pylori</i> serum cassette <i>H. pylori</i> serum strip <i>H. pylori</i> cassette (whole blood/serum) <i>H. pylori</i> -urease serum strip <i>H. pylori H. pylori</i> -urease serum cassette Sure step <i>H. pylori</i> (whole blood) Sure step test (whole blood/serum/plasma) Flex sure® HP Quickvue <i>H. pylori</i> GII test <i>H. pylori</i> antibody Pyloritek test kit Clotest	Acon Acon Acon AmeriTek AmeriTek AmeriTek AmeriTek AmeriTek Applied Biotech Applied Biotech Beckman Coulter Quidel Rapid diagnosis Serim TriMed
<i>Legionella pneumophila</i>	Now® ICT <i>Legionella</i>	Binax
<i>Legionella pneumophila</i> séro groupe 1 dans l'eau	Aquate™ <i>Legionella</i> water test	Binax
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>M. tuberculosis</i> serum cassette <i>M. tuberculosis</i> serum strip TB whole blood serum cassette BBL™ MGIT™ <i>mycobacteria</i> growth indicator tube Now® ICT <i>Tuberculosis</i> IC strep test for <i>Tuberculosis</i> <i>Tuberculosis</i> antibody	AmeriTek AmeriTek AmeriTek BD Binax Path Rapid diagnosis
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Now® ICT <i>gonorrhea</i> IC strep test for <i>gonorrhea</i>	Binax Path
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Signify strep A Now® ICT <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Abbott Binax
Streptocoque groupe A	IM strep A Clearview strep A Test pack plus strep A Test pack plus strep A OBC II Strep A strip test (throat swab) Strep A cassette Strep A strip Sure step strep A (II) test Now® ICT strep A Contrast strep A test Cards QS strep A test Quickvue flex strep A test Quickvue in-line strep A test	International microbio Oxoid Abbott Abbott Acon AmeriTek AmeriTek Applied Biotech Binax Genzyme Quidel Quidel Quidel

Tableau III (fin). Exemples de tests rapides en bactériologie

Bactérie	Nom du test	Laboratoire
Streptocoque groupe B	Strep B strip Strep B cassette	AmeriTek AmeriTek
<i>Treponema pallidum</i>	Syphilis test device (serum/plasma) Determine syphilis TP Syphilis test strip (serum/plasma) IC strip test for syphilis Syphilis antibody	Acon Abbott Acon Path Rapid diagnosis
Bandelettes urinaires	Double check strip urianalysis	Biomedical products

sensibles qui se sont imposées puisqu'elles permettent une prise en compte thérapeutique rapide de l'infection et donc une diminution des coûts.

Legionella

Helbig *et al.* ont analysé 535 urines de patients infectés ou non par *Legionella pneumophila*, en utilisant le réactif BinaxNow ICT® [41]. Le principe de ce test repose sur la détection des antigènes de la bactérie. Les résultats sont prometteurs puisque la spécificité du test était de 97,1 %. Elle a même atteint 100 % quand les échantillons étaient examinés à nouveau 60 minutes plus tard. La sensibilité était quant à elle de 79,7 %. Ces auteurs recommandent donc ce test rapide pour le diagnostic de la maladie du légionnaire et particulièrement pour les pathologies dues à *Legionella pneumophila* de sérotype 1. En 1999, Dominguez *et al.* ont eux aussi obtenu une spécificité de 100 % pour ce test. La sensibilité s'avère d'autant plus élevée que les urines sont concentrées [42]. L'avenir de ces tests repose à présent sur la détection des légionelles dans des prélèvements autres que humains, notamment au niveau environnemental.

La liste des tests rapides utilisés en France peut être consultée sur le site de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps) à l'adresse suivante (tableau III) : <http://agmed.sante.gouv.fr/htm/5/reactif/liste.htm>

Limites des tests rapides

Malgré tous les avantages énumérés ci-dessus, les tests rapides ne font pas encore l'unanimité auprès des biologistes et des bactériologistes en particulier. Une des raisons permettant d'expliquer cette réticence par rapport aux tests rapides est leur relative jeunesse. Malgré leur expansion et le développement actuel important, on manque encore de recul vis-à-vis de l'ensemble de ces tests, et la documentation les concernant n'est pas encore suffisante. De nombreuses questions se posent encore quant à leur fiabilité,

leur sensibilité et leur spécificité par rapport aux méthodes de référence. On peut citer le cas de la recherche du streptocoque du groupe A dans la gorge où un test rapide n'empêche pas la culture comme cela est recommandée par la législation américaine.

Du fait de leur nouveauté, des remarques portent sur la valeur des contrôles de qualité et de leur réalisation pratique (compétence de l'opérateur, formation des personnels) [5]. Enfin il faut également envisager le risque d'erreurs post-analytiques, de problèmes de transfert des données et d'enregistrement des résultats pouvant facilement survenir. Dans l'urgence, la transmission orale est privilégiée par rapport à la transmission écrite. Cet inconvénient est d'autant plus important que les tests rapides vont potentiellement engendrer une augmentation des informations médicales, d'où un risque accru de perte de ces informations.

Devant l'augmentation du nombre de méthodes et d'instruments, la nécessité de programmes d'assurance qualité devient indispensable. Il faut un bon contrôle des méthodes pour identifier rapidement les problèmes éventuels, d'où des recommandations de plus en plus fréquentes [10].

Une uniformisation des pratiques et procédures législatives dans l'ensemble du domaine de la santé et entre les pays s'avérerait judicieuse. Du point de vue réglementaire une question essentielle se pose sur l'entité responsable du test. S'agit-il du laboratoire pharmaceutique produisant le test, du biologiste, du clinicien, ou du patient le réalisant ? Cette question ne semble pas aujourd'hui correctement éclaircie. En France, dans les structures hospitalières, ce sont les directeurs des laboratoires d'analyses biologiques qui sont juridiquement responsables, aussi bien des tests que de la formation du personnel les utilisant [43].

D'autres critiques peuvent être émises concernant les tests rapides :

- en bactériologie le panel de tests proposés demeure encore réduit ; ces méthodes ne permettent donc pas de détecter l'ensemble des pathogènes mis en évidence par les techniques classiques ;

– un test rapide est habituellement plus coûteux qu'un test de laboratoire ;

– l'augmentation de la rapidité des rendus des résultats n'est pas toujours nécessaire ; de plus pour les hôpitaux équipés d'un système pneumatique et d'un bon réseau informatique, le gain de temps pour le rendu des résultats n'est pas toujours significatif [44] ;

– enfin dans le domaine de l'éthique, la simplicité de ces tests peut entraîner certaines dérives ; par exemple, la réalisation de certains tests à l'insu des patients.

D'autres arguments ont été avancés par les adversaires du *faster is better* lors de la *Conference on factors affecting point of care testing* à Philadelphie en 1994 [14] :

– la multiplication de ces tests et donc leur coût sont dus au manque d'expérience des personnes les réalisant ;

– les cliniciens n'ont « culturellement » pas l'habitude d'utiliser ces résultats fournis rapidement d'où une absence d'intérêt dans la prise de décision thérapeutique ;

– les POCT sont utilisés parce qu'ils sont faciles d'emploi et fournissent des résultats rapides mais non parce qu'ils impliquent une amélioration de la santé du patient.

Ces inconvénients parmi d'autres permettent de comprendre que certains biologistes s'opposent encore à une implantation généralisée des tests rapides.

L'avenir des tests rapides

Le développement des technologies (miniaturisation, utilisation de la biologie moléculaire) entraîne une multiplication des tests rapides. De plus en plus d'industriels s'orientent vers ces méthodes et essaient d'améliorer ces outils analytiques. Ceux-ci permettent déjà le diagnostic d'un important panel de bactéries. Mais celui-ci demeure encore trop faible par rapport aux multiples pathologies bactériennes et aux exigences des médecins. L'avenir des tests rapides repose donc sur une augmentation du nombre d'espèces de bactéries détectées. En plus de cette augmentation, un regroupement des analyses pourrait être envisagé. Ainsi, à partir d'un seul kit, plusieurs pathogènes pourraient être rapidement recherchés ce qui permettrait un diagnostic différentiel rapide. Cette perspective est envisageable grâce à l'intervention de la biologie moléculaire avec notamment le principe des PCR-multiplex qui en utilisant plusieurs amorces permettent un *screening* de plusieurs bactéries à la fois [9, 45]. La biologie moléculaire apporte également la possibilité d'une identification génomique de la bactérie donc d'un diagnostic d'espèce, ainsi que la mise en évidence d'éventuelles résistances aux antibiotiques. Cela permettrait d'agir rapidement et de façon appropriée dès le début du traitement.

L'utilisation de ces tests rapides dans le domaine de la bactériologie pourrait être étendue à certaines molécules physiologiques ou médicamenteuses. Le dosage de protéi-

nes telles que la CRP ou la procalcitonine permettrait une différenciation précoce des infections bactériennes et virales notamment chez les enfants, ce qui éviterait ainsi la prescription abusive d'antibiotiques [46, 47]. En effet, à l'heure actuelle, pour un enfant véritablement infecté et donc traité à bon escient, 30 nouveau-nés reçoivent également des antibiotiques alors qu'ils ne présentent aucune infection bactérienne [48]. La réduction de ces prescriptions devrait freiner l'émergence de résistances bactériennes aux antibiotiques. On peut également espérer le développement des tests rapides dans le domaine de la compliance. Si un médecin pouvait détecter rapidement le mauvais suivi d'un traitement par un de ses patients, il pourrait aussitôt y remédier. Cela pourrait éviter des rechutes et des transmissions de maladies contagieuses mal soignées ainsi que l'émergence de bactéries multirésistantes comme dans le cas de la tuberculose [49]. Grâce à un suivi régulier des patients, une mauvaise compliance peut être rapidement mise en évidence et contrée (mise en place d'une *directly observed therapy* (DOT), pour laquelle les patients doivent prendre leurs médicaments sous la surveillance du médecin). Ces tests rapides seraient donc des *drug-monitoring*, qui permettraient d'évaluer les doses de médicaments dans l'organisme du patient et de vérifier leur efficacité.

D'autres applications concernent les milieux autres que l'environnement hospitalier. Dans le domaine alimentaire, on pourrait envisager des tests rapides réalisés sur une chaîne de production d'un aliment qui permettent d'isoler et de détruire aussitôt un produit contaminé (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria*). Enfin, on peut concevoir des tests permettant de mettre en évidence des bactéries dans l'environnement, au niveau de l'air ou de l'eau comme cela est déjà fait pour le dépistage de produits chimiques.

Conclusion

Pour certains biologistes, les tests rapides sont coûteux, difficiles à gérer et n'apportent aucun bénéfice aux services médicaux. Pour d'autres, la place de ces méthodes analytiques dans le domaine du diagnostic clinique, et en particulier en bactériologie, ne peut que s'accroître pour atteindre 50 % des tests biologiques [7]. Les tests rapides présentent encore des faiblesses qui suscitent une certaine méfiance quant à leur utilisation. Le retrait précoce du marché de certains tests de mauvaise qualité et de coût élevé a conforté cette impression [6].

Cependant, l'amélioration des instruments de mesure et la diminution des prix semblent être à présent les objectifs principaux des industriels. Dans les années à venir, de tels progrès permettront la mise au point de tests rapides aussi efficaces et performants que les tests classiques de laboratoire.

À l'heure actuelle, la demande de rapidité au niveau du rendu des résultats des examens biologiques par le milieu médical et les patients, est croissante. Seuls les tests rapides pourront répondre à cette nouvelle exigence. C'est pourquoi ces méthodes devraient trouver logiquement leur place aux côtés des tests classiques de laboratoire.

Références

- MacCracken J, Hoel D. From ants to analogues. Puzzles and promises in diabetes management. *Postgrad Med* 1997 ; 101 : 138-40, 43-5, 49-50.
- Kricka LJ. Microchips, microarrays, biochips and nanochips: personal laboratories for the 21st century. *Clin Chim Acta* 2001 ; 307 : 219-23.
- Fatz D. Point of care markets. Home and physician office testing. Richmond : PJB Publications Ltd, 2002.
- Kost GJ. Connectivity. The millennium challenge for point-of-care testing. *Arch Pathol Lab Med* 2000 ; 124 : 1108-10.
- St-Louis P. Status of point-of-care testing: promise, realities, and possibilities. *Clin Biochem* 2000 ; 33 : 427-40.
- Drenck N. Point of care testing in critical care medicine: the clinician's view. *Clin Chim Acta* 2001 ; 307 : 3-7.
- Hicks JM, Haeckel R, Price CP, Lewandrowski K, Wu AH. Recommendations and opinions for the use of point-of-care testing for hospitals and primary care: summary of a 1999 symposium. *Clin Chim Acta* 2001 ; 303 : 1-17.
- Price CP, Hicks JM. Point of care testing. Washington : AACC Press, 1999.
- Monteil H, Stoll-Keller F, Harf-Monteil C. Place des tests rapides de diagnostic en bactériologie et en virologie. Communications orales à thèmes 2000. Journées nationales d'infectiologie. Lyon, 15-16 juin 2000.
- Kost GJ, Ehrmeyer SS, Chernow B, *et al.* The laboratory-clinical interface: point-of-care testing. *Chest* 1999 ; 115 : 1140-54.
- Ostergaard L, Andersen B, Olesen F, Moller JK. Efficacy of home sampling for screening of *Chlamydia trachomatis*: randomised study. *Br Med J* 1998 ; 317 : 26-7.
- Price CP. Point of care testing. *Br Med J* 2001 ; 322 : 1285-8.
- Cohen R, de Gouvello A, Levy C, de La Rocque F, Boucherat M, Portier H. Utilization of rapid diagnostic tests for group A streptococcus and bacteriologic and clinical correlations with acute angina in general medicine. *Presse Med* 1998 ; 27 : 1131-4.
- Seamonds B. Medical, economic, and regulatory factors affecting point-of-care testing. A report of the conference on factors affecting point-of-care testing, Philadelphia, PA 6-7 May 1994. *Clin Chim Acta* 1996 ; 249 : 1-19.
- Briedigkeit L, Muller-Plathe O, Schlebusch H, Ziemis J. Recommendations of the German working group on medical laboratory testing (AML) on the introduction and quality assurance of procedures for point-of-care testing (POCT) in hospitals. *Clin Chem Lab Med* 1999 ; 37 : 919-25.
- Goudable J, Aulois-Griot M, Billion P, *et al.* Recommendations concerning point-of-care systems. "Point-of-care systems" work group of the French society of clinical biology and national college of hospital biochemistry. *Ann Biol Clin* 1998 ; 56 : 114-5.
- Hoffmann S, Henrichsen J. Detection of group A streptococcal antigen from throat swabs by use of a latex agglutination test kit in general practice. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [B]* 1987 ; 95 : 89-94.
- Andersen JS, Borrild NJ, Renneberg J. An evaluation of a commercial co-agglutination test for the diagnosis of group A streptococcal tonsillitis in a family practice. *Scand J Prim Health Care* 1992 ; 10 : 223-5.
- Laubscher B, van Melle G, Dreyfuss N, de Crousaz H. Evaluation of a new immunologic test kit for rapid detection of group A streptococci, the Abbott Testpack Strep A plus. *J Clin Microbiol* 1995 ; 33 : 260-1.
- Webb KH. Does culture confirmation of high-sensitivity rapid streptococcal tests make sense? A medical decision analysis. *Pediatrics* 1998 ; 101 : E2.
- Raymond J, Sauvestre C. Microbiological diagnosis of urinary tract infections in the child. Importance of rapid tests. *Arch Pediatr* 1998 ; 5 (Suppl. 3) : 260S-5S.
- Delchier JC. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Rev Prat* 2000 ; 50 : 1418-21.
- Fabre R, Baudet JM, Cavallo JD, Crenn Y, Meyran M. Evaluation of rapid screening tests in the diagnosis of urinary infections. *Pathol Biol* 1993 ; 41 : 923-6.
- Hagay Z, Levy R, Miskin A, Milman D, Sharabi H, Insler V. Uriscreeen, a rapid enzymatic urine screening test: useful predictor of significant bacteriuria in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1996 ; 87 : 410-3.
- Bisno AL, Stevens DL. Streptococcal infections of skin and soft tissues. *N Engl J Med* 1996 ; 334 : 240-5.
- Kaplan EL. Clinical guidelines for group A streptococcal throat infections. *Lancet* 1997 ; 350 : 899-900.
- Ghanassia JP, Reinert P. How to recognize streptococcal pharyngitis? *Arch Pediatr* 1996 ; 3 : 749-51.
- Tsevat J, Kotagal UR. Management of sore throats in children: a cost-effectiveness analysis. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1999 ; 153 : 681-8.
- Cars O, Molstad S, Melander A. Variation in antibiotic use in the European Union. *Lancet* 2001 ; 357 : 1851-3.
- Dominguez J, Gali N, Blanco S, *et al.* Detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen by a rapid immunochromatographic assay in urine samples. *Chest* 2001 ; 119 : 243-9.
- Park CH, Ruprai D, Vandel NM, Hixon DL, Mecklenburg FE. Rapid detection of group B streptococcal antigen from vaginal specimens using a new optical immunoassay technique. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1996 ; 24 : 125-8.
- Lee HH, Chernesky MA, Schachter J, *et al.* Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* genitourinary infection in women by ligase chain reaction assay of urine. *Lancet* 1995 ; 345 : 213-6.
- Reddy SP, Yeturu SR, Slupik R. *Chlamydia trachomatis* in adolescents: a review. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 1997 ; 10 : 59-72.
- Cheema MA, Rahman MU, Whittum-Hudson JA, Hudson AP. Rapid communication: cervical *Chlamydia trachomatis* in women at low risk for infection. *Am J Med Sci* 2000 ; 319 : 123-5.
- Boag F, Kelly F. Screening for *Chlamydia trachomatis*. The case for screening is made, but much detail remains to be worked out. *Br Med J* 1998 ; 316 : 1474.
- Megraud F. Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996 ; 215 : 57-62.
- Fanti L, Mezzi G, Cavallero A, Gesu G, Bonato C, Masci E. A new simple immunoassay for detecting *Helicobacter pylori* infection: antigen in stool specimens. *Digestion* 1999 ; 60 : 456-60.

38. Fedorko DP, Engler HD, O'Shaughnessy EM, Williams EC, Reichelderfer CJ, Smith WI Jr. Evaluation of two rapid assays for detection of *Clostridium difficile* toxin A in stool specimens. *J Clin Microbiol* 1999 ; 37 : 3044-7.
39. Bentley AH, Patel NB, Sidorczuk M, *et al.* Multicentre evaluation of a commercial test for the rapid diagnosis of *Clostridium difficile*-mediated antibiotic-associated diarrhoea. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998 ; 17 : 788-90.
40. Staneck JL, Weckbach LS, Allen SD, *et al.* Multicenter evaluation of four methods for *Clostridium difficile* detection: immunocard *C. difficile*, cytotoxin assay, culture, and latex agglutination. *J Clin Microbiol* 1996 ; 34 : 2718-21.
41. Helbig JH, Uldum SA, Luck PC, Harrison TG. Detection of *Legionella pneumophila* antigen in urine samples by the BinaxNOW immunochromatographic assay and comparison with both Binax Legionella urinary enzyme immunoassay (EIA) and Biotest legionella urin antigen EIA. *J Med Microbiol* 2001 ; 50 : 509-16.
42. Dominguez J, Gali N, Matas L, *et al.* Evaluation of a rapid immunochromatographic assay for the detection of *Legionella* antigen in urine samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999 ; 18 : 896-8.
43. Gouget B, Barclay J, Rakotoambinina B. Impact of emerging technologies and regulations on the role of POCT. *Clin Chim Acta* 2001 ; 307 : 235-40.
44. Fleisher M, Schwartz MK. Automated approaches to rapid-response testing. A comparative evaluation of point-of-care and centralized laboratory testing. *Am J Clin Pathol* 1995 ; 104 : S18-S25.
45. Bergeron MG, Ke D, Menard C, *et al.* Rapid detection of group B streptococci in pregnant women at delivery. *N Engl J Med* 2000 ; 343 : 175-9.
46. Korppi M, Kroger L. C-reactive protein in viral and bacterial respiratory infection in children. *Scand J Infect Dis* 1993 ; 25 : 207-13.
47. Borgnolo G, Barbone F, Guidobaldi G, Olivo G. C-reactive protein in viral and bacterial gastroenteritis in childhood. *Acta Paediatr* 1996 ; 85 : 670-4.
48. Benitz WE, Han MY, Madan A, Ramachandra P. Serial serum C-reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection. *Pediatrics* 1998 ; 102 : E41.
49. Pozsik C, Kinney J, Breeden D, Nivin B, Davis T. Approaches to improving adherence to antituberculosis therapy. *JAMA* 1993 ; 269 : 1096-8.