

## Tests rapides et nanotechnologies appliqués aux analyses de laboratoire

**Michel G. Bergeron, M.D., FRCPC**

Professeur et directeur,  
Division de microbiologie et du  
Centre de recherche en infectiologie (CRI)  
Université Laval  
2705 boul. Laurier,  
Québec (Québec) G1V 4G2 Canada

Tél. : 418-654-2705  
Courriel : Michel.G.Bergeron@crchul.ulaval.ca

Journées annuelles de santé publique  
Montréal, 24 octobre 2006



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 1

## Maladies infectieuses : Première cause de mortalité à l'échelle mondiale

| Maladies                      | Décès par année<br>(millions) | Pourcent<br>(%) |
|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| <b>INFECTIONS</b>             | 17,0                          | 30              |
| Maladies<br>cardiovasculaires | 11,0                          | 20              |
| Cancer                        | 7,0                           | 12              |
| Autres et accidents           | 10,5                          | 19              |
| Inconnues                     | 10,5                          | 19              |
| <b>TOTAL</b>                  | <b>56,0</b>                   | <b>100</b>      |



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 2

Cette présentation a été effectuée le 24 octobre 2006, au cours du Symposium "L'utilisation des analyses de laboratoire en santé publique" dans le cadre des Journées annuelles de santé publique (JASP) 2006. L'ensemble des présentations est disponible sur le site Web des JASP, à l'adresse <http://www.inspq.qc.ca/jasp>.

## Infections : Le Québec et le Canada ne sont pas épargnés

VIH/SIDA

SRAS

*Clostridium difficile*

Influenza (Grippe)

SARM (*S. aureus* résistant à la méthicilline)

“Walkerton” : Eau contaminée

Virus du NIL

Maladie de la vache folle



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB – Journées maladies de santé publique, 24 octobre 2006 – 3

## Mortalités dues aux maladies infectieuses (OMS : rapport 2004 sur la santé)

|   | Décès (millions)<br>Annuellement |
|---|----------------------------------|
| Infections des voies respiratoires<br>(grippe, pneumonie)                         | 4,0                              |
| VIH / SIDA  | 3,0                              |
| Infections que l'on pourrait prévenir par vaccins<br>existants chez les enfants * | 3,0                              |
| Diarrhée ( <i>E. coli</i> , Salmonelle, Choléra)                                  | 2,0                              |
| Tuberculose   | 1,6                              |
| Malaria   | 1,2                              |

\*Coqueluche, Poliomyélite, Diphtérie, Rougeole (1/2 décès), Tétanos, Méningite et hépatite B  
Mathers, C.D., et al. Deaths and Disease Burden by Cause: Global Burden of Disease Estimates for 2001 by World Bank Country  
Groups 2003. World Bank Washington, D.C.

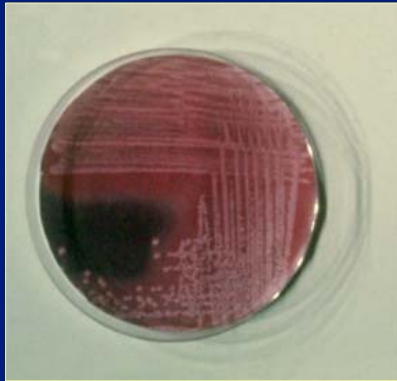


Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB – Journées maladies de santé publique, 24 octobre 2006 – 4

## Microbiologie pasteurienne

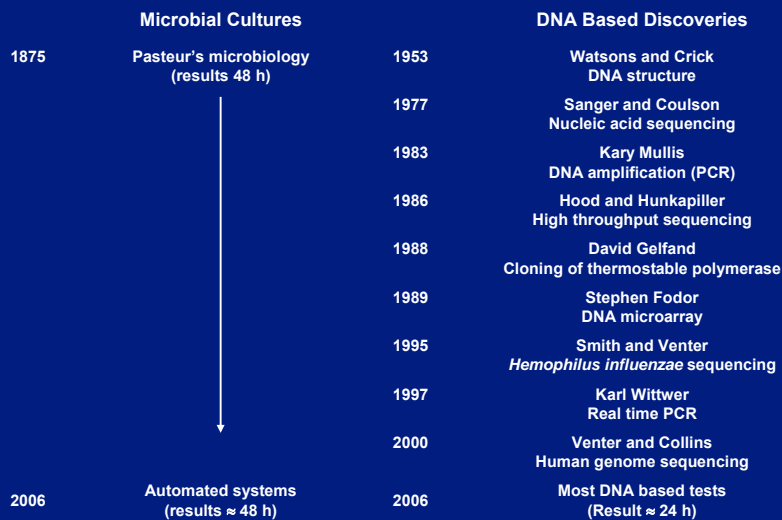
2 jours à 2 semaines pour identifier les microbes



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MCB – Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 5

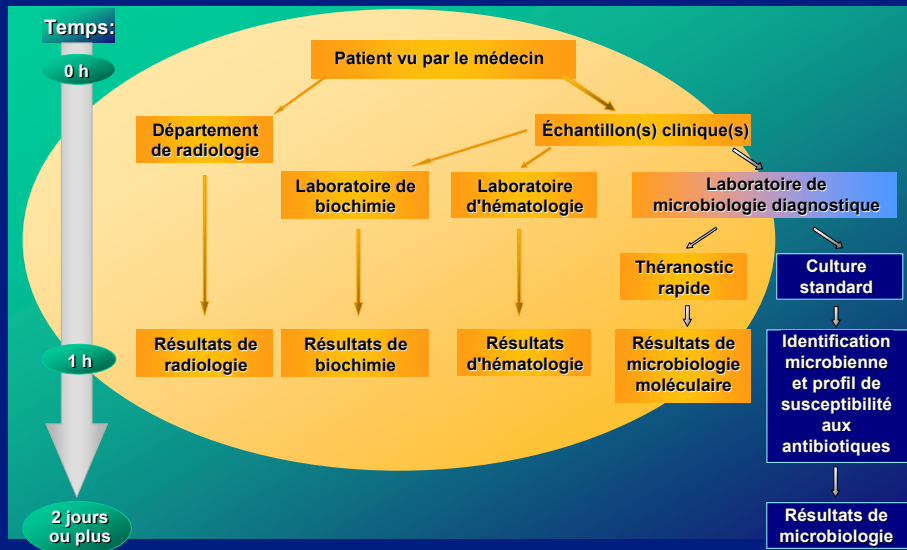
## Technologies Will Revolutionize Diagnostics



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MCB – Québec City, September 28, 2006 - 6

## Diagnostic rapide des infections : une révolution nécessaire!



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 7

## Objectif

Développer de nouveaux outils de diagnostic à base d'ADN, flexibles et rapides, pour révolutionner la pratique médicale et la santé publique en permettant la détection et l'identification rapide (<1h) des microorganismes pathogènes causant des infections et des gènes de résistance aux antimicrobiens qu'ils portent.

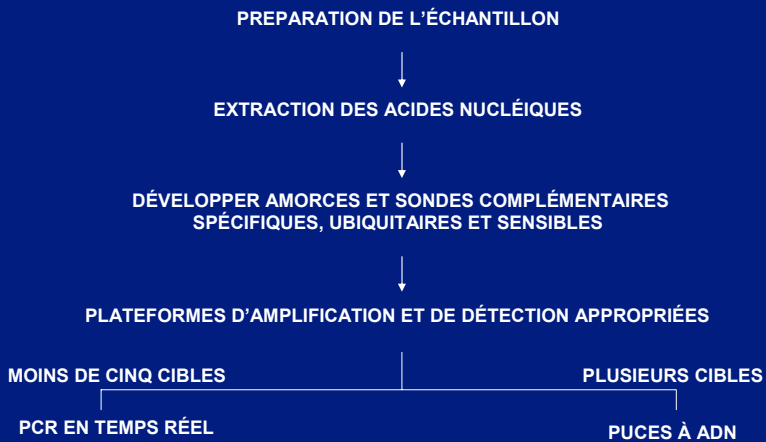
Bergeron MG et Ouellette M. *Infection* 23: 69-72, 1995.  
 Bergeron MG et Ouellette M. *J Clin Microbiol* 36: 2169-2172, 1998.  
 Bergeron MG et al. *N Engl J Med* 343: 175-179, 2000.  
 Bergeron MG et Bruns DE. 2002. Molecular testing in laboratory medicine.  
 Boissinat M et Bergeron MG. *Current Opin Microbiol* 5: 478-482, 2002.  
 Picard FJ et Bergeron MG. *Drug Discov Today* 7: 1092-1101, 2002.  
 Davis D et al. 2004. *Clin Infect* : 39: 1139-35  
 Huletsky A et al. 2005. *Clin Infect* : 39: 89-96  
 Peytavi R et al. 2005. *Clin Chemistry* : 51: 1136-1844  
 Bissonnette L et Bergeron MG. *Expert Rev. Mol. Diag.* 6 (3) 2006 in press



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 8

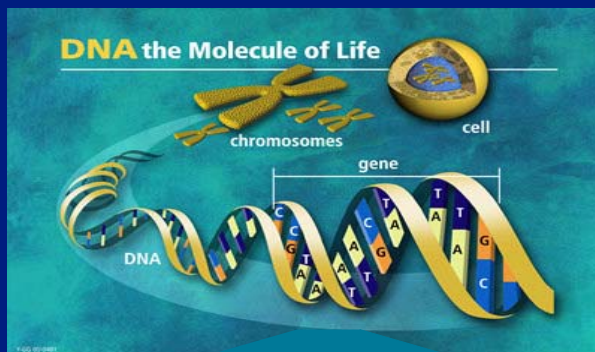
## Conditions essentielles d'un test rapide à base d'ADN



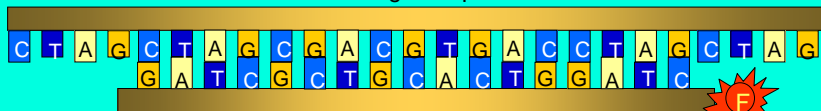
Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 9

## Détecter les empreintes génétiques (acides nucléiques) des êtres vivants



Cible génétique



Sonde de capture



MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 10

## Tests rapide (<1h) à base d'ADN



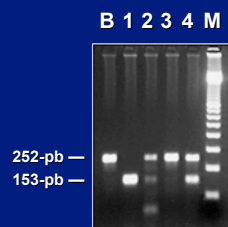
Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 11

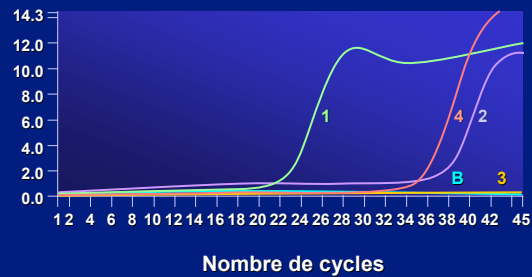
## Nouvel essai de PCR en temps réel pour détecter le Streptocoque du Groupe B chez la femme enceinte durant le travail

PCR conventionnel

PCR en temps réel



Ratio de fluorescence



Source: Bergeron *et al.* 2000, *NEJM* 343: 175-179



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 12

November 18, 2002

**FDA CLEARS NEW LAB TEST FOR GROUP B STREP IN PREGNANT WOMEN**

The Food and Drug Administration today cleared for marketing a new laboratory test for Group B Streptococcus in pregnant women.

The new test, the IDI-Strep B test, made by Infectio Diagnostic, Inc., of Quebec, can provide results in one hour, if facilities can provide round-the-clock testing. In contrast, the standard method of culture testing takes 18 to 48 hours for results. The new test is performed using a Cepheid Smart Cycler instrument on a swab sample taken from the vagina and rectum.

Group B strep is a leading cause of illness and death among newborns in the United States. It can be acquired during birth from mothers who unknowingly have the organism. An estimated 10 percent to 30 percent of pregnant women have Group B strep. However, antibiotic treatment of the mother during labor can prevent transmission to the newborn.

Pregnant women are typically screened for Group B strep two to four weeks before labor begins using the standard culture method, as recommended by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). If the test is positive for Group B strep, the woman is given four hours of antibiotic treatment during labor.

Use of this standard screening method has led to a 70 percent decline in the incidence of Group B strep during the past decade. However, because of the time needed to culture samples and the four hours needed for antibiotic treatment, it is only useful for women who are tested at least several days before labor begins—not those who start labor early, or who do not have the advantage of pre-natal care. The new IDI-Strep B test, with timely results, could be particularly beneficial for these women when they first go into labor.

FDA cleared the IDI Strep B test based on clinical studies conducted by the manufacturer of 802 women at five medical centers in the United States and Canada. The studies showed that the test detected approximately 94 percent of Group B strep in pregnant women.

The IDI-Strep B test is the first non-culture test that meets the performance criteria recommended by CDC guidelines—at least 85% sensitive compared to culture methods. Because of this, it can be used instead of standard culture methods.



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MEB — Québec City, September 29, 2006 - 13

**Menaces existantes et potentielles**

Dans nos hôpitaux : personne à personne

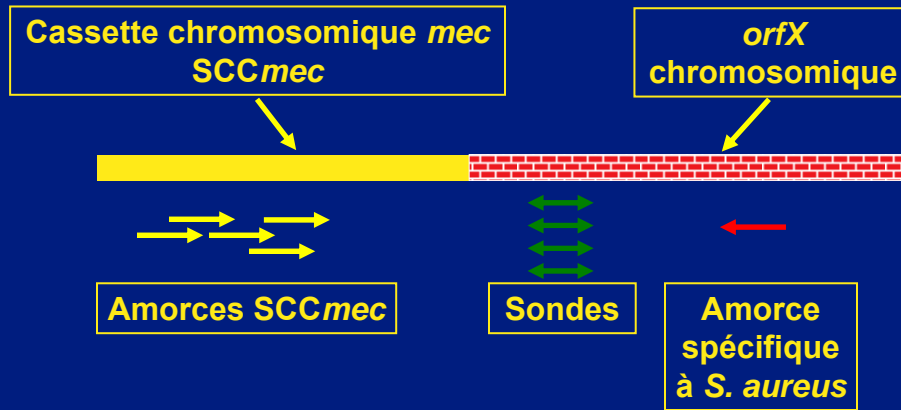
|            |                                |   |
|------------|--------------------------------|---|
| Épidémies: | SARM                           | ( <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline)   |
|            | SARV                           | ( <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la vancomycine)  |
|            | ERV                            | (Entérocoque résistant à la vancomycine)  |
|            | Grippe                         | Influenza A (Annuel: H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> , H <sub>1</sub> N <sub>1</sub> , etc.)<br>Influenza A (Grippe aviaire: H <sub>5</sub> N <sub>1</sub> )<br>Influenza B |
|            | VRS (RSV)                      | VRS   |
|            | Syndromes<br>d'allure grippale | Para influenza<br>SRAS (Syndrome respiratoire aigu sévère)<br>Coronavirus, Adénovirus   |
|            | Diarrhée                       | <i>Clostridium difficile</i>  |



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MEB — Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 14

## Cible moléculaire de l'essai IDI-MRSA



Huletsky et al. 2005 Clin Infect 39 : 89-96



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MCB – Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2009 - 15

## Genomics at the service of Infectious Diseases : A New Reality

Researchers from Université Laval have developed the:

- First rapid DNA-based FDA approved real-time (< 60 min) PCR assays now commercialized by BD Diagnostics - GeneOhm

- IDI-StrepB™
- IDI-MRSA™
- IDI-VRE™



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MCB – Québec City, September 28, 2009 - 16



## Simplicité des tests que nous avons développés

| EXEMPLES   | ÉTAPES TECHNIQUES | TEMPS (heures) |
|--|-------------------|----------------|
| <b>Identification phénotypique</b>                           |                   |                |
| Manuel (API galleries et autres)                             | 15 - 25           | 48 - 72        |
| Automatisé (Vitek, Microscan)                                | 10 - 20           | 30 - 54        |
| <b>Identification génotypique (sur échantillon clinique)</b> |                   |                |
| Roche Cobas Amplicator pour <i>Chlamydia</i>                 | 59                | 22             |
| Bayer HIV/βDNA analyser                                      | 71                | 30             |
| IDI* Strep B™ (Streptocoque Group B)                         | 6                 | <1             |
| IDI* MRSA (SARM)   | 6                 | <1             |

\* BD Diagnostics – GeneOhm



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MEB – Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 17

## Optimal Point-Of-Care Tests (POCTs)

### Definition

Simple (single step), rapid (<15 minutes) and affordable tests at point of care that give a clear answer and which are supported by a handheld device

Examples: Pregnancy tests  
Glucose Tests



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MEB – Québec City, September 28, 2006 - 18

## Real-Time PCR GeneXpert® from Cepheid



Results in 75 minutes

Source: [www.cepheid.com/gbs/cepheid\\_gbs\\_microsite\\_9.html](http://www.cepheid.com/gbs/cepheid_gbs_microsite_9.html)



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MCB - Québec City, September 25, 2006 - JP

## From Real-Time PCR to Rapid (<15min) Nucleic Acid-Based Microfluidic-Microarray Point-Of-Care Tests (POCT) on Compact Disc (CD)

- Most infectious diseases are caused by several pathogens
- Real-time PCR can only detect few microbes ( $\leq 5$ )
- Combining:
  - Genomics
  - DNA microarrays
  - Innovative biosensors
  - Microfluidic technologies

We are developing Dx devices that will be merged into a lab-on-a-chip ( $\mu$ TAS) that will identify multiple pathogens

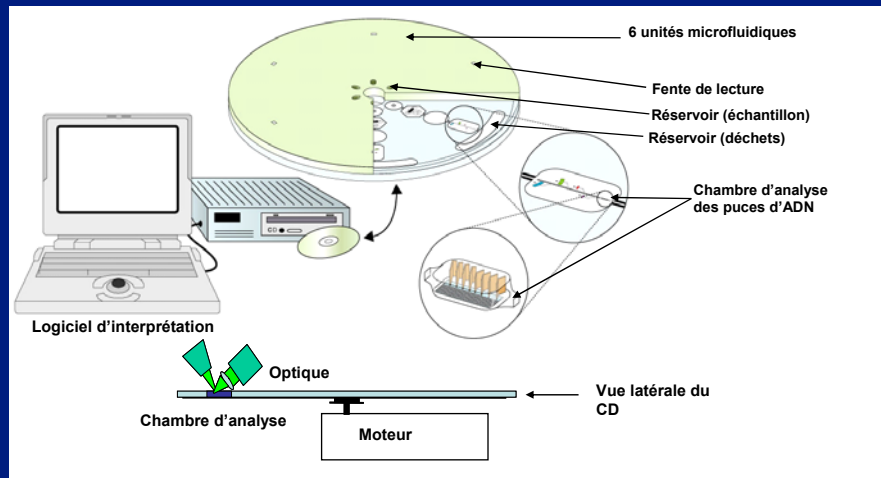


Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MCB - Québec City, September 28, 2006 - 20

## « SMART CD »

Laboratoire microfluidique (miniaturisé :  $\mu$ TAS) sur  
puce d'ADN intégré à un disque compact (CD)



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MEB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2009 - 21

## Sample Preparation and Nucleic Acid Extraction and Purification CD

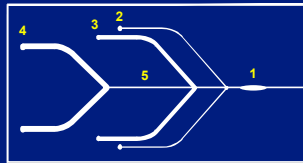


Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MEB - Québec City, September 28, 2006 - 22

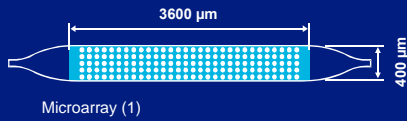
## CD d'hybridation

A



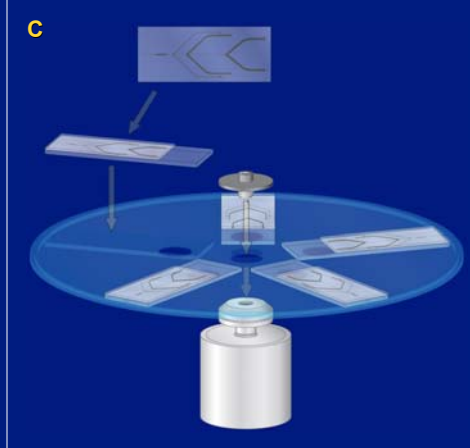
Microfluidic unit (2, 3, 4, 5)

B



Microarray (1)

C



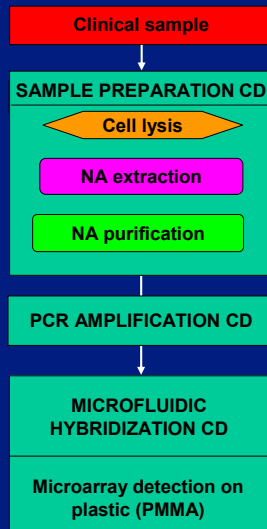
Source: Peytavi, R. *et al Clin. Chem.* 2005, 51(10):1836-1844 Bioarrays news microarray Innovators 2006



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB — Québec City, September 28, 2006 - 23

## Rapid (<1h) Point-of-Care Diagnostics on Compact Disc



Testing 7th generation



Testing 2nd generation



Delivered prototype



Testing plastic



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB — Québec City, September 28, 2006 - 24

## Disadvantages of PCR

Time consuming

Difficult to multiplex

Sensitive to enzyme inhibitors

Expensive

Increase the complexity of the lab-on-chip

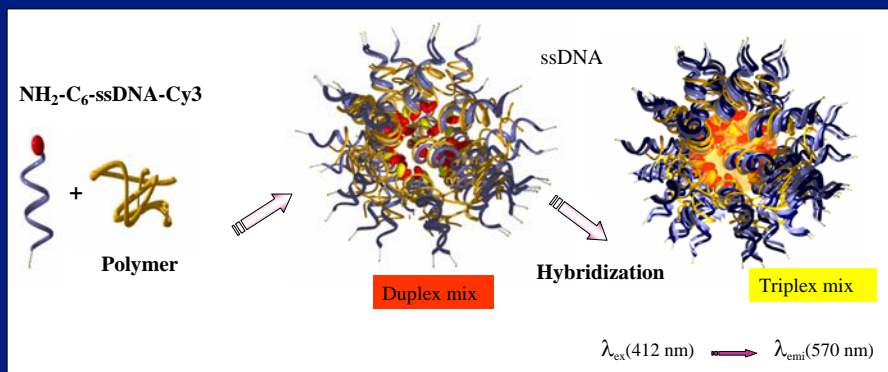


Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Québec City, September 29, 2006 - 25

## Towards Ultra Sensitive Polymeric Detection without PCR Amplification

Fluorescence Chain Reaction (FCR) in Liquid  
Limit of detection: 5 DNA molecules



Ho et al. 2005, J Am Chem Soc 127:12673-12676

Top ten discovery of the year of Quebec science 2000



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Québec City, September 28, 2006 - 26

## Essais rapides (< 1 h) basés sur l'ADN comme mesures d'urgences Confronté à la grippe aviaire, au SRAS, aux bioterrorismes ou autres menaces :

- Les microbes seront identifiés en 1 heure au lieu de > 48 h
- Les médecins, le personnel médical, les gouvernements, les organismes de santé publique, les policiers, les militaires, les environnementalistes et même les citoyens pourront prendre des décisions éclairées:
  - i) • Isoler les patients
    - Thérapie
    - Observation
    - Mesures d'urgence
  - ii) • Informer la population pour éviter les paniques inutiles
  - iii) • Suivre les épidémies
  - iv) • Éviter des désastres environnementaux (assurer une eau potable)



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 27

## Décentraliser la médecine et accélérer la prise en charge des patients(es)

|              | Diagnostic classique (16 étapes)<br>(3 jours – 3 semaines)  | Diagnostic rapide (4 étapes)<br>(<1 heure)  |
|--------------|---|---|
| Médecin      | 1. Questionnaire du patient<br>2. Examen physique<br>3. Demande de tests diagnostiques<br>4. Traitement empirique ou attente  | 1. Questionnaire du patient<br>2. Examen physique<br>3. Test rapide - résultat<br>4. Prise en charge éclairée |
| Infirmier(e) | 5. Prélèvement  |   |
| Transport    | 6. Transport au laboratoire   |   |
| Laboratoire  | 7. Enregistrer la demande<br>8. Préparer l'échantillon<br>9. Analyser l'échantillon<br>10. Contrôle qualité<br>11. Validation du résultat<br>12. Rapporter le résultat<br>13. Transmettre le résultat |   |
| Médecin      | 14. Interpréter le résultat<br>15. Communiquer avec patient(e)<br>16. Prise en charge éclairée  |   |



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 28



## Rapid (<1h) POCT Diagnostics Impact

- |   |  |
|---|--|
| • HIV / AIDS:                                       | Diagnostic takes several weeks<br>5 million new cases a year |
| • Respiratory Tract Infections<br>(TB, FLU, SARS) : | 70% of antibiotic use<br>(>100 million cases a year)         |
| • Malaria :   | 400 million cases a year                                     |
| • Diarrheal Diseases :                              | 100 million cases a year                                     |
| • Sexually Transmitted Diseases :                   | 340 million cases a year                                     |
| • Septis:   | 18 million cases a year                                      |
| • Meningitis :                                      | 1.2 million cases a year                                     |
| • Antimicrobial Resistance :                        | Need rational use of antibiotics                             |



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MCB – Québec City, September 29, 2006 - 31

## Priorités des gouvernements

4 avril 2006 – Discours du trône – Stephen Harper

5 priorités dont

« RÉDUIRE LE TEMPS D'ATTENTE DES PATIENTS »

2005 – 2006 – Politique du gouvernement du Québec

« GARANTIR L'ACCÈS AUX SOINS :  
UN DÉFI D'ÉQUITÉ ET D'EFFICACITÉ »



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MCB – Journées ammalées de santé publique, 24 octobre 2006 - 32



## Rapid Diagnostic of SARS could have saved millions of dollars in Canada



Source: <http://www.time.com>



Source: [http://www.actualiteenclasse.com/img2/img\\_fiches/vache.jpg](http://www.actualiteenclasse.com/img2/img_fiches/vache.jpg)



Source: <http://www.ledevoir.com/2003/04/23/>



Source: <http://www.lematin-dz.net>



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 33

## Les microbes sont là pour rester

Origine : 3,8 milliards d'années (possiblement 4,3 milliards)

Écologie : 2-3 milliards d'espèces microbiennes  
0,5 % identifiées  
60 % de la biomasse terrestre



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 34

## Comment contrôler les infections

### Prévention

---

- Diagnostic rapide à base d'ADN
- Nouveaux vaccins
- Éducation :
  - Lavage des mains
  - Masques
  - Civisme

### Thérapie

---

- Médicaments



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 35

## Conclusion

**La microbiologie STAT  
basée sur l'ADN est arrivée !**

**Elle va révolutionner la pratique médicale !**



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 36

## Les essais de diagnostic rapide basés sur l'ADN

UN CHANGEMENT DE CULTURE...  
SANS CULTURE!!!

Michel G. Bergeron



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 37

## Remerciements pour support financier

Instituts de recherche en santé du Canada (Octroi PA-15586)

Génome Canada

Génome Québec

Fond de recherche en santé du Québec (FRSQ)

Ministère de la Défense nationale (Canada)

Infectio Diagnostic (IDI) Inc.

Initiative de recherche et de technologie CBRN  
(chimique, biologique, radiologique et nucléaire; IRTC)

Fondation canadienne d'innovation (FCI)

National Institutes of Health (NIH)



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval

MGB - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 38



MGR - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2009 - 39



UNIVERSITÉ  
**LAVAL**



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval



MGR - Journées annuelles de santé publique, 24 octobre 2006 - 40



UNIVERSITÉ  
**LAVAL**



Centre de recherche en infectiologie  
Université Laval