

Fastgene: une identification rapide des agressions bioterroristes

Walter Minnella, Pierre-Emmanuel Douarre, Timothée Houssin, Olivier Sandre, Christophe Pannetier, Maël Le Berre

► **To cite this version:**

Walter Minnella, Pierre-Emmanuel Douarre, Timothée Houssin, Olivier Sandre, Christophe Pannetier, et al.. Fastgene: une identification rapide des agressions bioterroristes. Biofutur, Elsevier - Cachan : Lavoisier, 2017, TERRORISME Connaître et maîtriser les risques radiologique, biologique et chimique, 36 (384), pp.32-33. hal-01646836

HAL Id: hal-01646836

<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01646836>

Submitted on 19 Jan 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Fastgene : une identification rapide des agressions bioterroristes

Walter Minnella^{1,2}, Pierre-Emmanuel Douarre¹, Timothée Houssin¹, Olivier Sandre², Christophe Pannetier¹, Maël Le Berre¹

¹Elvesys, Paris

²Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques, UMR 5629 CNRS / Université de Bordeaux, Pessac

Avec l'accroissement actuel des conflits asymétriques, une attaque bioterroriste à l'encontre des forces armées françaises ou sur le territoire national n'est malheureusement plus à exclure. Avec le soutien de la DGA, nous avons développé la technologie FASTGENE qui permet la détection sensible, spécifique et peu coûteuse, de la présence d'agents pathogènes dans un échantillon en moins de 8 minutes. Cette technologie duale peut s'appliquer de nombreuses autres applications en dehors du domaine de la défense et de la sécurité.

Détecter et identifier rapidement les microorganismes: un besoin essentiel pour contrer les bioterroristes

Le risque bioterroriste est particulièrement préoccupant puisqu'il se différencie des autres risques terroristes par des effets initialement masqués, puis amplifiés exponentiellement par le caractère contagieux d'un nombre croissant d'infections. La capacité de défense vis-à-vis de ce risque repose sur plusieurs piliers parmi lesquels la surveillance de l'environnement et la reconnaissance d'une agression jouent un rôle central. Une surveillance permanente et une reconnaissance rapide permettent en principe de limiter au maximum les conséquences d'une attaque.

A la suite de l'attaque par lettres contenant des bacilles du charbon en 2001, les autorités des États-Unis ont décidé de déployer au niveau fédéral un système de surveillance de la qualité biologique de l'air, appelé Biowatch (1). Ce système est composé d'un grand nombre de capteurs d'aérosols déployés dans les 30 plus grandes agglomérations. Les aérosols ainsi collectés sont analysés périodiquement par un réseau de laboratoires. Bien que ce système unique n'ait heureusement jamais été confronté à une attaque bioterroriste, son exploitation permet de tirer plusieurs enseignements capitaux sur les caractéristiques que doivent réunir un tel système :

- Le capteur des agents biologiques pathogènes doit être extrêmement **sélectif** et engendrer le moins possible de fausses alarmes. Entre 2003 et 2008, Biowatch a ainsi déclenché plus de 50 alertes qui ont heureusement tous été rapidement classées comme des faux positifs. L'étendue des mesures pouvant être prises à la suite d'une alerte dépend de sa fiabilité. Plus un capteur engendre de fausses alertes et plus limité doit être l'impact des contremesures qu'il permet de déclencher.
- La détection doit être **la plus rapide possible**, car de ce délai de réponse dépend de la gravité des conséquences de l'attaque. Dans sa version initiale, le système Biowatch ne pouvait donner l'alerte qu'environ 36 heures après la dispersion des agents biologiques dans l'air. Ce délai pouvait permettre aux pouvoirs publics de dispenser des traitements prophylactiques et thérapeutiques avant l'apparition des premiers symptômes chez les individus infectés (concept d'emploi « détecter pour traiter »). Ce système est préférable à la situation préexistante dans laquelle les premiers malades diagnostiqués servaient *de facto* de capteur, mais reste limité. *A contrario*, un détecteur capable de donner un résultat en quelques minutes, permettrait en principe aux autorités de prendre des mesures de protection, de confinement et de décontamination (concept d'emploi « détecter pour protéger ») et ainsi limiter les pertes même dans le cas d'infections difficilement curables.

- Le capteur doit être **suffisamment sensible** pour permettre la détection d'attaques de faible ampleur qui peuvent néanmoins engendrer des conséquences aussi néfastes que des attaques plus larges si elles restent non détectées pendant les premiers jours.
- Le capteur doit être **multiplexe** et permettre la détection de tous les agents pathogènes susceptibles d'être employés par les agresseurs. Il est préférable qu'il puisse également identifier la nature de l'agent détecté, puisque certaines contremesures dépendent de cette identité.
- Surtout, la détection doit être **peu coûteuse** en investissement et en fonctionnement. En effet, le coût de possession de Biowatch, de l'ordre de 80 M\$ par an, est l'un de ses plus grands handicaps. Eventuellement, si cette détection avait une valeur ajoutée en dehors de la défense contre le bioterrorisme (par exemple pour la maîtrise d'épizooties ayant des conséquences économiques comme la grippe aviaire) les coûts pourraient s'en trouver partagés.

En utilisant des outils de simulation technico-opérationnelle, il est possible de déterminer le niveau de performance attendu pour chacune de ces exigences.

FASTGENE : une détection sélective et sensible en quelques minutes.

Actuellement, les procédés de détection biologiques les plus rapides (~15-25 minutes) reposent sur des analyses immunologiques, telles que la méthode immuno-enzymatique (ELISA). Néanmoins, ces méthodes présentent des inconvénients tels que des performances de sensibilité et de spécificité inférieures de plusieurs ordres de grandeur au besoin. Ces méthodes ne sont donc pas complètement satisfaisantes pour des missions de surveillance ou de reconnaissance. Les méthodes reposant sur la détection de signatures génomiques des agents pathogènes sont, quant à elles, suffisamment sensibles et sélectives, mais leur temps de réponse, de l'ordre d'une heure, n'est pas satisfaisant.

En tenant compte du cahier des charges présenté ci-dessus, Elvysys a entrepris de développer un système combinant la rapidité des tests ELISA avec la sensibilité et la spécificité des analyses génétiques. Ce projet, baptisé « Fastgene » a débuté en 2011 en collaboration avec l'Ecole Normale Supérieure et avec le soutien de la Direction Générale de l'Armement (DGA) et de l'Agence Nationale de la Recherche sous la forme de leur appel à projets conjoint ASTRID. Pour atteindre cet objectif, nous avons utilisé notre expertise en microfluidique, la science et la technologie de manipulation de fluides à l'échelle micrométrique. Nous avons ainsi conçu et réalisé un « laboratoire sur puce » dans lequel nous pouvons combiner les étapes de cycle thermique caractéristiques de l'amplification en chaîne par polymérase avec une détection ou quantification ? optique des produits engendrés par cette amplification (qPCR en anglais). La qPCR est un procédé d'amplification exponentiel et sélectif de fragments d'ADN synchronisé par une succession de cycles de températures. A la température supérieure (95°C), les deux brins complémentaires de chaque fragment d'ADN ciblé sont séparés, puis chaque brin est recopié à l'identique à la température inférieure (voisine de 70°C). La quantité d'ADN amplifié est mesurée à cette étape, souvent par lecture d'un signal de fluorescence. Dans les appareils de PCR disponibles sur le marché, la réalisation d'une amplification de 40 cycles prend de l'ordre d'une heure. Nos compétences en microtechnologies, par exemple le contrôle précis de petites quantités de liquide, nous ont permis de développer une technique de thermalisation microfluidique ultrarapide (figure 1) qui permet de réduire le temps entre 5 et 8 minutes nécessaire pour détecter des microorganismes analogues à ceux responsables de la maladie du charbon ou des fièvres hémorragiques d'Ebola (figure 2). La présence de quelques copies d'ADN ou d'ARN dans l'échantillon est suffisante pour donner un signal positif (2). Cette innovation a été primée par le Concours Mondial d'Innovation en 2014 (3).

Après avoir établi cette preuve de concept, nous avons souhaité étendre notre technologie dans deux directions pour la rendre : a) multiplexée afin qu'elle permette la recherche de plusieurs dizaines de cibles génétiques en un seul test ; b) plus robuste et utilisable sur le terrain, en dehors du laboratoire. C'est ce

que nous avons entrepris avec le projet Fastgene II soutenu également par la DGA à travers le dispositif RAPID (Régime d'appui pour l'innovation duale). Désormais, le procédé multiplexé permet de rechercher simultanément la présence d'une cible génétique parmi une dizaine.

Le cahier des charges exprimé par les maîtres d'ouvrage de la Défense est particulièrement exigeant, mais ressemble aux critères « ASSURED » que l'Organisation Mondiale de la Santé a édictés pour les tests diagnostiques des maladies infectieuses (4). La technologie FASTGENE devrait ainsi permettre de progresser dans la mise sur le marché de tests rapides d'orientation diagnostique utilisables en santé humaine.

Légendes :

Figure 1 :

Haut : thermalisation rapide de la puce de PCR par le circuit microfluidique FASTGENE : 1,6 s pour basculer la température de la puce de x à y °C. Bas : température moyenne de l'échantillon pendant la réaction.

Figure 2 : Profil d'amplification FASTGENE multiplexe : la mesure de fluorescence, proportionnelle à la quantité d'ADN amplifié, est effectuée à la fin de chaque cycle.

Références :

1. <https://www.dhs.gov/biowatch-program>
2. Houssin T *et al.* (2016) Lab Chip 16, 1401-1411.
3. <http://www.entreprises.gouv.fr/innovation-2030/fastgene>
4. <http://www.who.int/tdr/publications/tdr-research-publications/mapping-landscape-sti/en/>

Figure 1

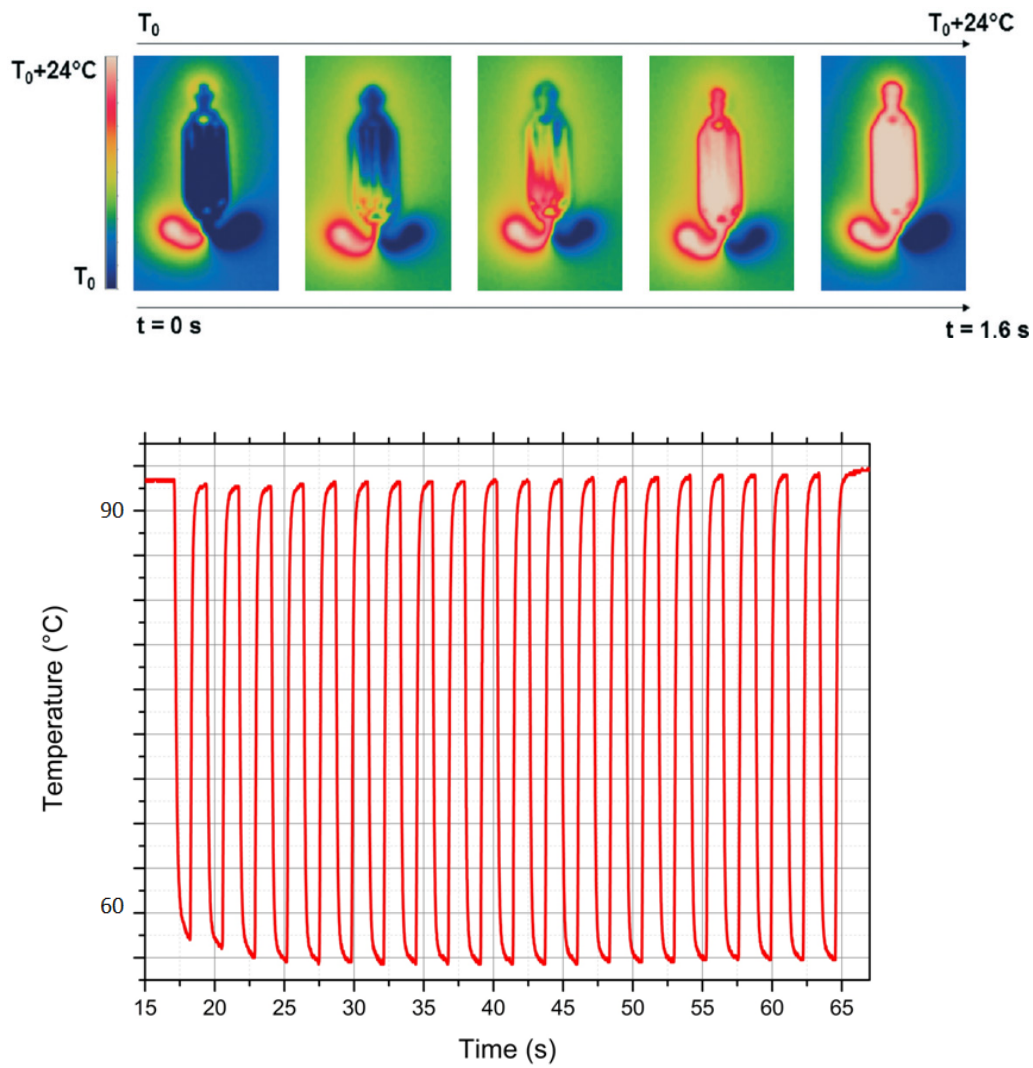


Figure 2

