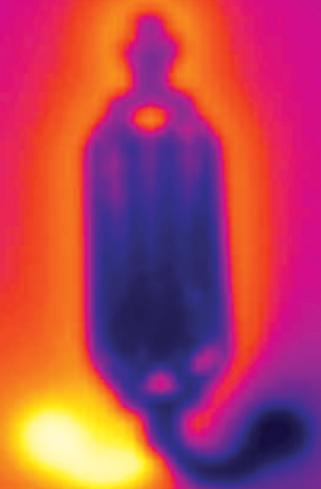


Imagerie thermique de la puce microfluidique de contrôle de température de la plateforme FASTGENE



# Fastgene : identifier rapidement les agressions bioterroristes

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. La technologie FASTGENE 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 à de nombreuses autres applications en dehors du domaine de la défense et de la sécurité.

© ELVESYS

## Les auteurs

Walter Minnella<sup>1,2</sup>, Pierre-Emmanuel Douarre<sup>1</sup>, Timothée Houssin<sup>1</sup>, Olivier Sandre<sup>2</sup>, Christophe Pannetier<sup>1</sup>, Maël Le Berre<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Elveys, Paris  
<sup>2</sup> Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques, UMR 5629 CNRS/ Université de Bordeaux, Pessac

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 de nombreuses 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 centrale. Une surveillance permanente et une reconnaissance rapide permettrait de limiter au maximum les conséquences d'une attaque.

À 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 : Biowatch (1). Ce système est composé d'un grand nombre de capteurs d'aérosols déployés dans les 30 plus grandes agglomérations du pays. 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 bio-

terroriste, son exploitation permet de tirer plusieurs enseignements capitaux sur les caractéristiques que doit réunir un tel système.

- Le capteur des agents biologiques pathogènes doit être extrêmement sélectif et engendrer le moins de fausses alarmes possible. Entre 2003 et 2008, Biowatch a ainsi déclenché plus de 50 alertes qui ont heureusement toutes été rapidement classées comme des faux positifs. L'étendue des mesures pouvant être prises à la suite d'une l'alerte dépend de sa fiabilité. Plus un capteur engendre de fausses alertes et plus l'impact des contremesures qu'il permet de déclencher doit être limité.

- La détection doit être la plus rapide possible car de ce délai de réponse dépend 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 permettait 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 de limiter les pertes même dans le cas d'infections difficilement curables.

- Le capteur doit être suffisamment sensible pour détecter des 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 multiplexé 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.

- La détection doit surtout être peu coûteuse en investissement et en fonctionnement. Le coût de Biowatch – de l'ordre de 80 millions de dollars par an – est, en effet, l'un de ses plus grands handicaps. 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 éventuellement 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.

## UNE DÉTECTION SELECTIVE ET SENSIBLE EN QUELQUES MINUTES

Actuellement, les procédés de détection biologiques les plus rapides (~15-25 minutes) reposent sur des analyses immunologiques, comme 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. Celles 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.

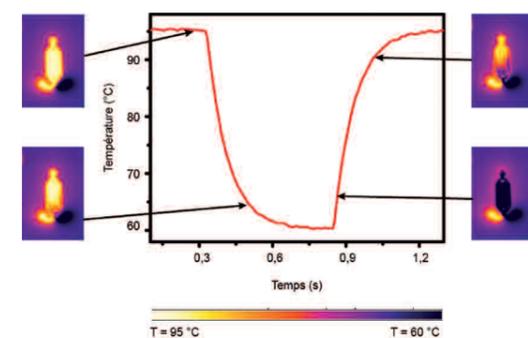
En tenant compte du cahier des charges présenté ci-dessus, la jeune société parisienne Elveys a entrepris de développer un système combinant la rapidité des tests ELISA avec la sensibilité et la spécificité des analyses génétiques. Ce projet, baptisé « Fastgene », a débuté en 2011 en collaboration avec l'École 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 (Accompagnement spécifique des travaux de recherches et d'innovation Défense). Pour atteindre cet objectif, l'entreprise a utilisé

son expertise en microfluidique et a ainsi conçu et réalisé un « laboratoire sur puce » dans lequel il est possible de combiner les étapes de cycle thermique caractéristiques de l'amplification en chaîne par polymérase avec une quantification optique des produits engendrés par cette amplification exponentielle et sélective de fragments d'ADN synchronisée par une succession de cycles de températures (qPCR). À 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 (~70 °C). Dans les appareils de PCR disponibles sur le marché, la réalisation d'une amplification de 40 cycles prend environ une heure. Les compétences micro-technologiques d'Elveys, en particulier concernant le contrôle précis de petites quantités de liquide, ont permis de développer une technique de thermalisation microfluidique ultrarapide (figure ci-dessous) qui ramène le temps nécessaire pour détecter des micro-organismes analogues à ceux responsables de la maladie du charbon ou des fièvres hémorragiques d'Ebola à une durée comprise entre 5 et 8 minutes (figure ci-dessous). La présence de

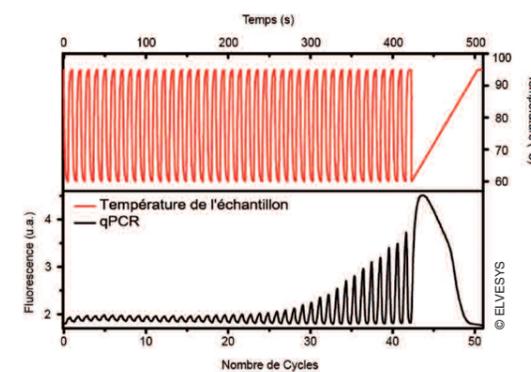
quelques copies d'ADN ou d'ARN dans l'échantillon est suffisante pour donner un signal phosphorescent positif (2). Cette innovation a été primée par le Concours mondial d'innovation en 2014 (3).

Après avoir établi la preuve de concept, la société a souhaité étendre sa technologie dans deux directions pour la rendre, d'une part, multiplexée, afin qu'elle permette la recherche de plusieurs dizaines de cibles génétiques en un seul test et, d'autre part, plus robuste et utilisable sur le terrain, en dehors du laboratoire. C'est l'objectif du projet Fastgene II, également soutenu 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. ■



En 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. En bas : température moyenne de l'échantillon pendant la réaction.



Profil d'amplification FASTGENE multiplexé. La mesure de fluorescence, proportionnelle à la quantité d'ADN amplifié, est effectuée à la fin de chaque cycle.

\* Acronyme anglais proposé par l'OMS en 2004, dont chaque lettre est l'initiale d'une exigence technique. Le test doit être en particulier bon marché, sensible, spécifique, facile d'emploi, rapide et fiable.

(1) [www.dhs.gov/biowatch-program](http://www.dhs.gov/biowatch-program)

(2) Houssin T et al. (2016)

Lab Chip 16, 1401-1411

(3) [www.entreprises.gouv.fr/innovation-2030/fastgene](http://www.entreprises.gouv.fr/innovation-2030/fastgene)

(4) [www.who.int/tdr/publications/tdr-research-publications/mapping-landscape-sti/en/](http://www.who.int/tdr/publications/tdr-research-publications/mapping-landscape-sti/en/)