

PROTOTYPE POUR LA BIODÉTECTION DE TOXIQUES DANS L'ENVIRONNEMENT

¹Descamps E., ¹Preveral S., ¹Brutesco C., ¹Ginet N., ¹Escofier C., ¹Garcia D.,
²Ansaldi M., ³Rodrigue A., ⁴Bazin I., ⁵Cholat P. & ¹Pignol D.

¹ Laboratoire de Bioénergétique Cellulaire, IBEB, CEA Cadarache, St Paul lez Durance ;

² Laboratoire de Biochimie Bactérienne, CNRS, Marseille ;

³ INSA/CNRS, Laboratoire de Microbiologie, Adaptation et pathogénie, Lyon ;

⁴ Ecole des mines de Ales ;

⁵ Société AP2E, Aix en Provence

david.pignol@cea.fr

La caractérisation de la qualité des masses d'eau est un sujet qui préoccupe les différents acteurs publics et privés depuis des décennies. L'eau destinée à la consommation humaine doit répondre aux critères de préservation de la santé des usagers mais également préserver les écosystèmes aquatiques ainsi que les ressources halieutiques et conchylicoles. Dans ce contexte, les systèmes et techniques actuellement disponibles doivent répondre à des critères de sensibilité et des critères de fiabilité en adéquation avec les concentrations des polluants (substances dangereuses prioritaires et émergentes) généralement faibles dans les eaux. Dans ce domaine, les méthodes classiques de laboratoire répondent aux exigences de sensibilité et de précision mais ne permettent pas de réaliser des diagnostics rapides, ni de facilement appréhender la variabilité spatiale et temporelle de la contamination.

Les systèmes de mesure sur site (incluant les systèmes de mesure en ligne) répondent aux attentes des gestionnaires et exploitants (prévention des risques, stratégie de surveillance, actions correctives en cas d'urgence) qui ont besoin d'une réactivité suffisante en situation de crise. La surveillance des réseaux d'eau multi-paramétrée et en continu relève donc d'une demande de plus en plus importante de la part des gestionnaires de l'eau. Un certain nombre de systèmes sont proposés sur le marché dont les systèmes physico-chimiques (en ligne ou sur site) représentent une proportion importante. Dans une majorité de cas, ces dispositifs ne prennent pas en compte la biodisponibilité des polluants dosés, reflétant directement la toxicité d'une eau et à l'origine des phénomènes de bioaccumulation de toxiques dans les organismes végétaux ou animaux contribuant ainsi au transfert vers les chaînes trophiques. Les biocapteurs représentent de nouvelles méthodes/technologies prometteuses grâce à leur sélectivité (polluant cible), leur sensibilité (détection de faibles concentrations) et leur possible transposition sur site pour un screening rapide du niveau de pollution (détection d'incidents, seuils d'alerte,...). L'objectif de notre projet est d'utiliser des microorganismes ou des éléments biologiques isolés (anticorps, enzymes, aptamer peptidique) pour détecter et/ou doser les éléments toxiques présents dans l'eau de manière à estimer la fraction bio-disponible des composés toxiques.

Nos travaux ont pour objectif la conception d'un instrument de mesure multi-paramètres en ligne sur des réseaux d'eau (potable et usée) pour la détection de toxiques et de pathogènes. Il vise à développer et à optimiser des modules de biodétection à partir de technologies maîtrisées dans nos laboratoires de recherche académique pour les intégrer dans un prototype d'automate de mesure en ligne sur des réseaux d'eau en collaboration avec la société AP2E. Un prototype sera prochainement installé sur le terrain, au niveau de la station de pompage du réseau d'eau du Sud Luberon. Cet outil propose la détection par des senseurs biologiques de composés toxiques biodisponibles ainsi que de microorganismes pouvant impacter la santé humaine via les réseaux d'eau potable, affecter les

eaux des élevages d'animaux (aquaculture...), l'environnement ou encore l'écologie des étages biologiques des stations d'épuration. L'automate fonctionne comme une station d'alerte sur le réseau lorsqu'un seuil de pollution est franchi ; la surveillance des réseaux d'eau (potable et usée) est au centre de ce projet. Nous envisageons également le déploiement de ce système dans le cadre de la surveillance liée aux menaces émergentes telles que le bio-terrorisme.

Nous avons retenu 3 familles «d'objets» à détecter: les métaux (cadmium, mercure, arsenic, nickel etc..), les toxines environnementales et/ou alimentaires et les micro-organismes pathogènes. La sélectivité et la sensibilité des systèmes biologiques sont mises à profit pour la conception de ces bio-capteurs. La détection est basée i) sur la technique du gène rapporteur où l'expression par une bactérie d'une protéine « remarquable » (e.g. fluorescente ou luminescente) est placée sous le contrôle d'un promoteur inductible (pour les métaux ou les toxines par exemple), ii) de l'interaction antigène-anticorps pour les toxines et les micro-organismes, et iii) de l'infection spécifique par un bactériophage pour les bactéries pathogènes. Dans tous les cas, la transduction du signal biologique détecté est photochimique (bio-luminescence issue de la luciférase ou chimio-luminescence) ; la mesure d'une émission de photons est d'une part un gage de sensibilité de la mesure (donc la possibilité d'atteindre les seuils réglementaires de détection) et d'autre part permet une plus grande uniformité du dispositif technologique de mesure avec la conception d'une tête de lecture unique intégrant les différents signaux optiques.

Nous disposons à ce jour d'un catalogue de biosenseurs bactériens basés sur la technique du gène rapporteur permettant une détection spécifique d'As, Hg, Zn, Cd, Co et Ni à faible concentration (en dessous du seuil réglementaire d'alerte). Nous avons également réalisé la preuve de concept en laboratoire de l'utilisation d'un détecteur générique de coliformes basé sur l'infection de phage modifié. Le développement d'immunodétecteurs immobilisés sur membrane de chitosane permettant la détection de toxine par variation de chimiluminescence a également été validé. L'ensemble des cibles à détectée sera étendu en fonction de la demande des utilisateurs finaux.

Un effort particulier a été réalisé ces derniers mois pour adapter ces systèmes aux contraintes de terrain. Ainsi, des essais de conservation par lyophilisation des biosenseurs bactériens et phagiques ont permis de d'obtenir des méthodes de conservation permettant une réponse acceptable après conservation sur une période de 3 mois. Les différents modules de détection ont été optimisés pour leur implémentation dans le prototype, ainsi que pour leur conditionnement sous forme de consommables adaptés. Le prototype est en cours d'assemblage par le partenaire industriel après une période d'audit des laboratoires académiques permettant de dégager les meilleures solutions techniques pour l'intégration des différents biodétecteurs (hôtels de stockage des réactifs, système optique de mesure, prélèvement de l'échantillon, gestion des déchets). Il sera implanté dans les prochaines semaines chez un hébergeur (SIVOM Sud Luberon) avant une période de suivi de 6 mois permettant de palier aux différents qui ne manqueront pas de survenir sur le terrain. Notre projet devrait ainsi courant 2015 nous permettre de valider la preuve de concept de l'utilisation de détecteurs biologiques comme systèmes d'alerte in situ.