

Deux exemples d'innovations applicables aux filières horticole et PPAM

Claude VAUCHIER - MINATEC \ CEA-LETI



leti



Introduction



- 2 exemples d'innovation dans le domaine de l'analyse biologique et chimique pour une utilisation décentralisée:

- **Un système d'analyse des spores dans l'air**

- **Un microcapteur électrochimique et multiparamétrique pour l'analyse des ions dans l'eau**

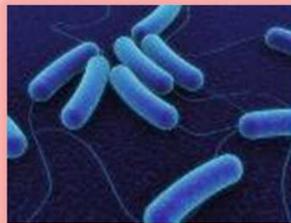


I. L'analyse biologique de l'air

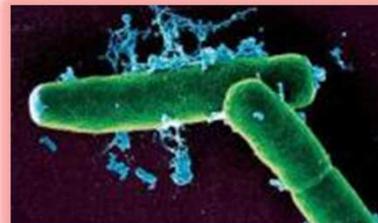
- **Objectif:** intégrer et automatiser un véritable laboratoire d'analyse pour une utilisation décentralisée
- **Évaluation de la menace** que sont les pathogènes présents dans notre environnement



Virus



Bactéries



Spores

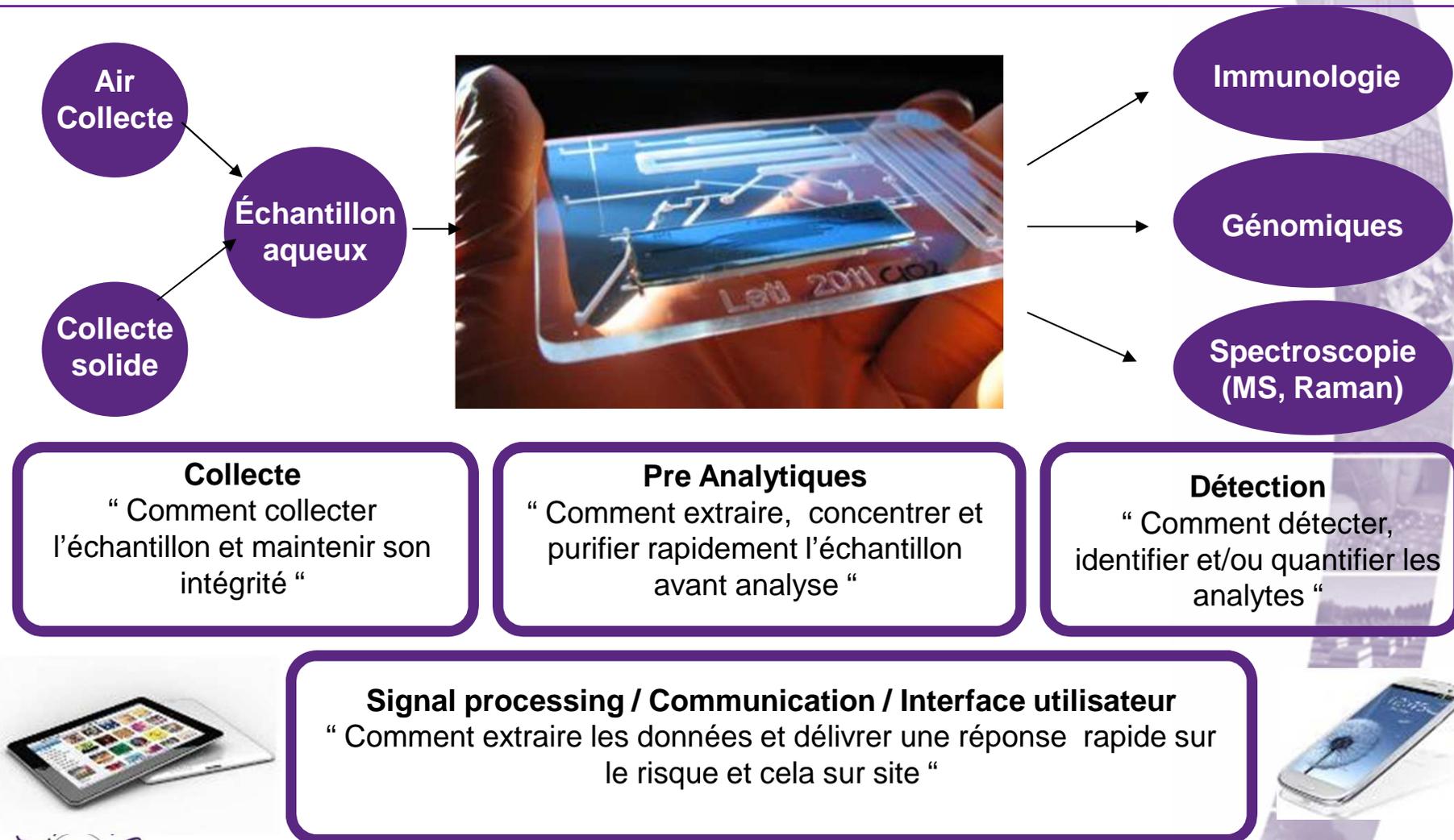


Toxines

- Echantillons environnementaux:
 - **Air:** contamination par bio aérosols
 - **Liquide:** eaux industrielles, eau du robinet...
 - **Poudres** (anthrax)



Systemes analytiques: architecture generale



Offre commerciale et besoins

Où?
Utilisateur?

Équipement personnel



CIP10 Tecora
Performances à améliorer



NBC-Sys
KDTB



Razor



Kim Bertin

Intégration de la
préparation
d'échantillon

Système de terrain



Coriolis Bertin



Precellys Bertin



Qiacube QIAGEN

Système de laboratoire



GeneDisc

GenXpert
Cepheid



FilmArray
BioFire

Fonction

Collecte

Pré analytiques

Détection



iteipmai

Journées techniques • Rendez-vous d'herbalia

Aéro collecteur: limitations de l'offre commerciale



Coriolis



SASS 2300



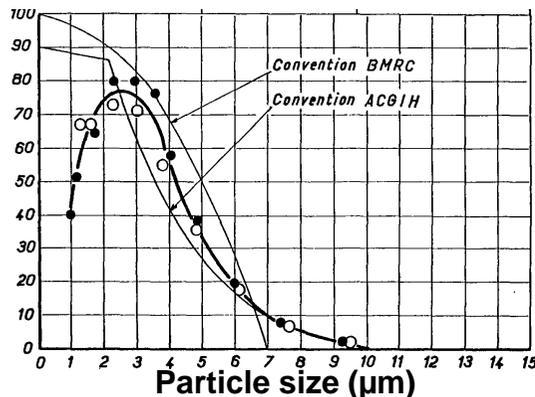
ACD-200



bioBadge



CIP10

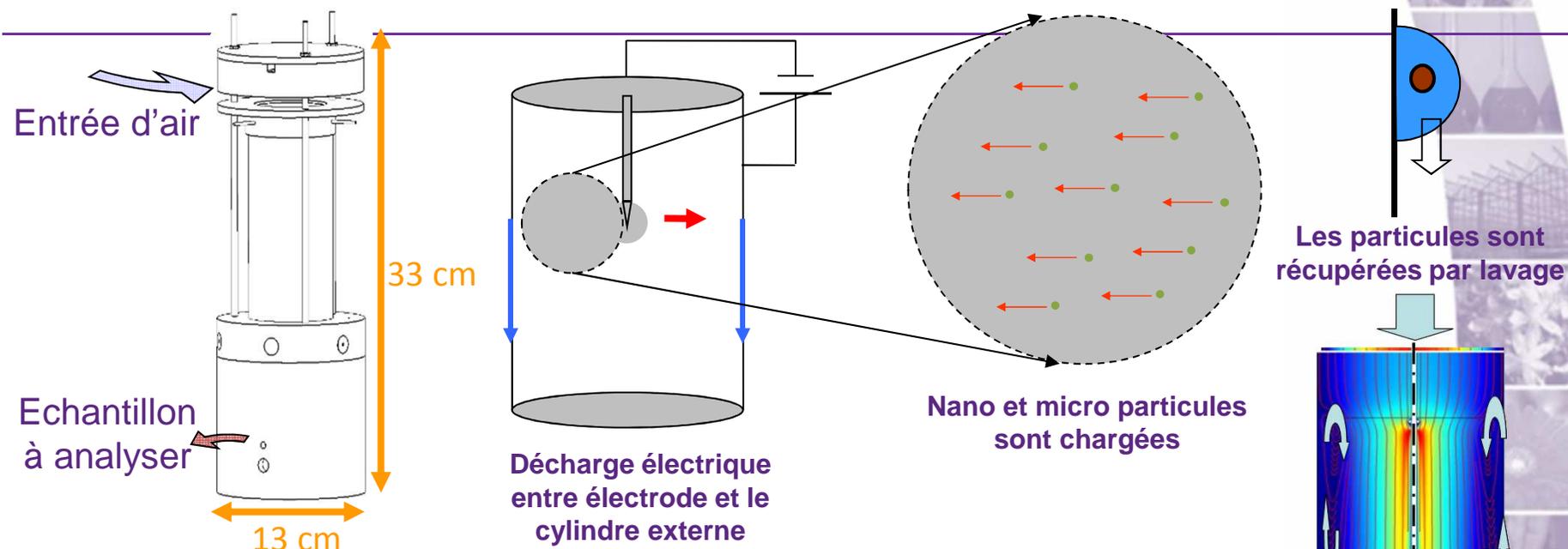


Rendement standard des échantillonneurs cycloniques

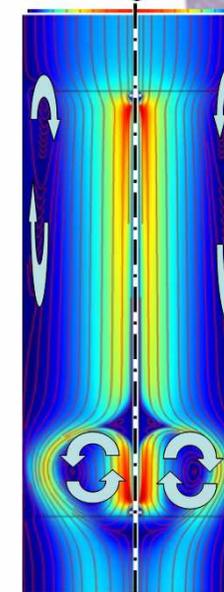
Limitations	
...collecteurs cycloniques	...collecteurs à filtre
Rendement moyen, diminuant rapidement avec la taille	Difficulté à récupérer l'échantillon
Inefficace en dessous de $1\mu\text{m}$	
Nécessite de l'eau durant la collecte (évaporation)	L'échantillon biologique est séché et soumis à un fort flux d'air: problème de viabilité
Bruyant et forte consommation électrique (grosse pompe)	



Collecte électrostatique: principe physique



- Une décharge électrique est créée entre une électrode centrale et le cylindre externe
- Nano et micro particules sont chargées et éjectées sur les parois du cylindre
- Les particules sont récupérées par rinçage à l'eau pour analyse



Aéro collecteur: AIR CORONA

Technologie de collecte électrostatique

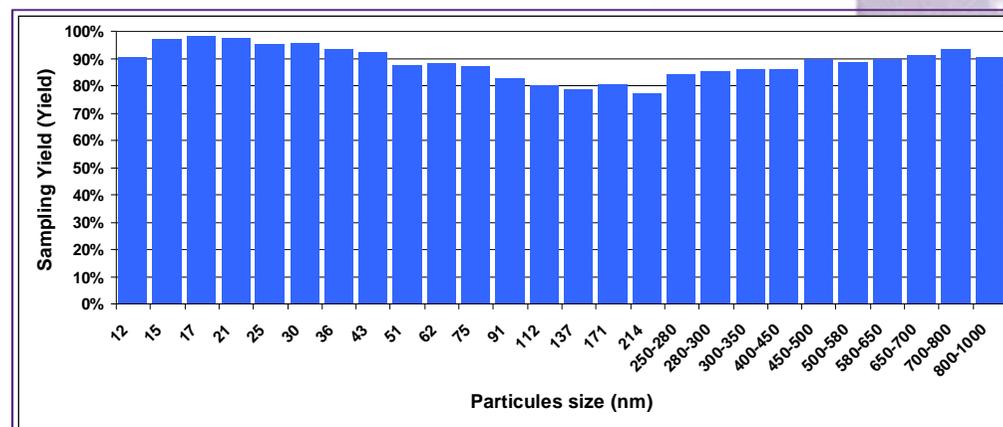
- Très bonne efficacité de collecte pour une large gamme de particules (10 nm à qq μm)
- la collecte n'est pas limitée en temps (possibilité de collecte en **continu** ou **multi collecte**)
- Les micro-organismes restent en vie: **compatible avec la culture des pathogène**



Système de terrain

- Portable (5 kg)
- Débit: 50 - 100 LPM
- Monitoring de l'environnement

Validation physique



75% d'efficacité de collecte pour des particules de 10 nm à 1 μm



AIR CORONA: bio validation externalisée

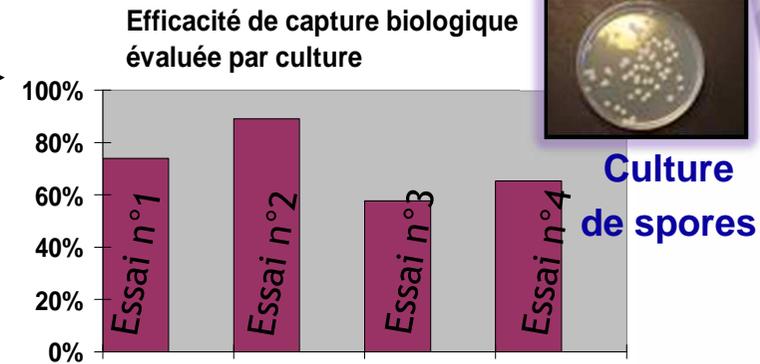


Collecte de spores (évaluation RKI)

ROBERT KOCH INSTITUT



JM. Roux *et al*, *Aerosol Science and Technology*,
2013, 463-471



Viabilité de pathogènes contrôlés après collecte

Collecte de bactéries au champ (Evaluation INRA)



iteipmai

Journées techniques • Rendez-vous d'herbalia

Préparation d'échantillon: pas de système totalement intégré



Precellys (BERTIN)

Échantillon dans la gamme ml
Lyse mécanique
Pas de concentration



Qiacube (QIAGEN)

Echantillon dans la gamme μ l
Bioprotocole automatisé
Pas de lyse mécanique
Principalement utilisé pour échantillon humain

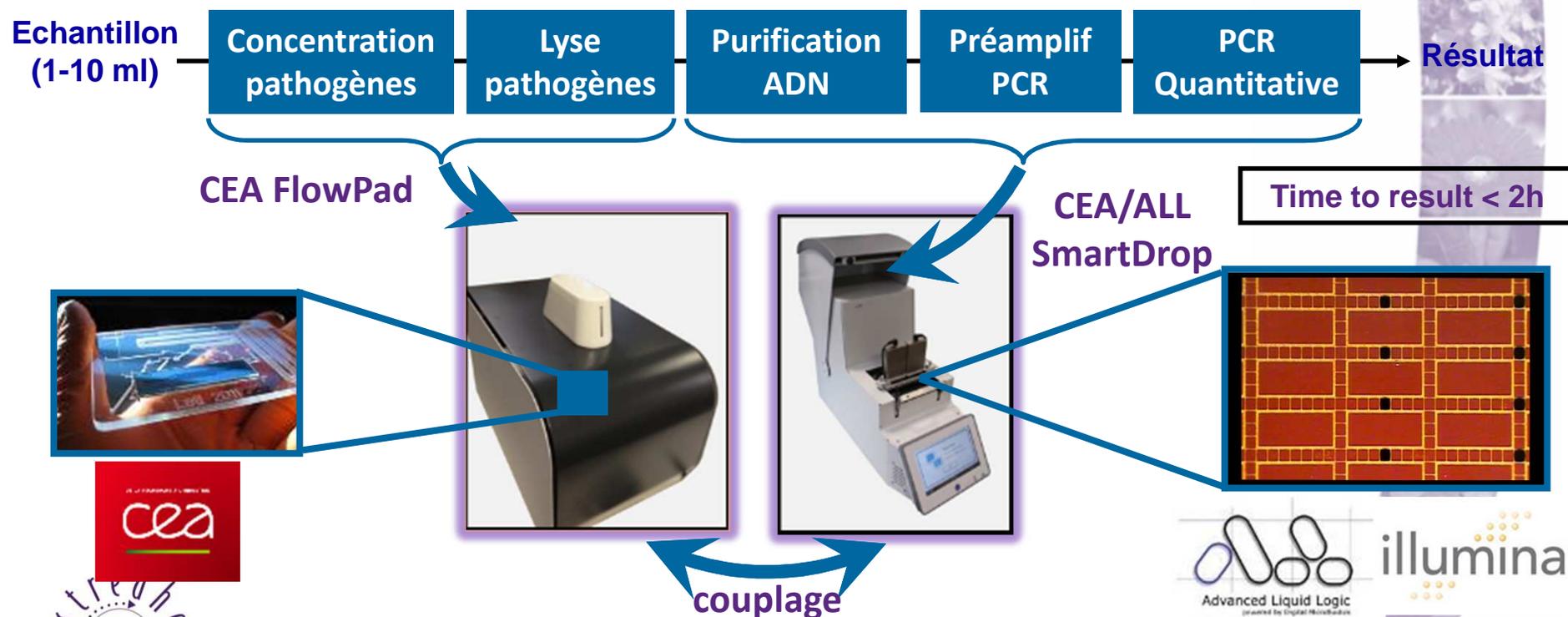
Situation typique	Fonction à miniaturiser / intégrer
Les échantillons environnementaux peuvent être important, du mL au L	<u>concentration</u> rapide et compatible avec des microdispositifs
Espèces résistantes, spécialement les spores (Anthrax)	<u>La lyse mécanique</u> est nécessaire pour l'analyse ADN / ARN
Large variété d'échantillons, contenant des interférents potentiels	Etapes de <u>purification</u>
L'opérateur n'est pas un spécialiste	<u>Intégration totale</u> du système de préparation d'échantillon pour minimiser les étapes manuelles



Systeme de detection de pathogenes

Objectif: Developper un systeme « All in One » en couplant la technologie FlowPad de preparation d'echantillon du CEA et le systeme de PCR en temps reel en cartouche CEA / ALL compatible avec:

- de gros volumes et des echantillons environnementaux (1-10 mL)
- des pathogenes resistant (spores, levure (C. Albicans), bacteries (S. epidermis...))



Technologie CEA FlowPad™

- **Connexion facile** des cartouches microfluidiques au support

Pas de colle, pas de vis, juste clipser et démarrer le protocole



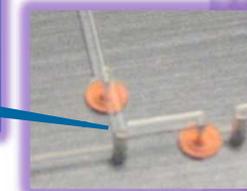
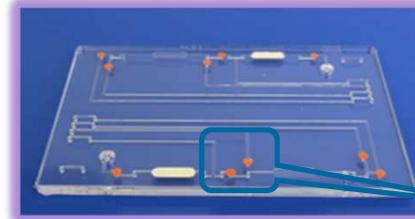
- **Valves microfluidiques intégrées**

(5 mm Ø)

Étanchéité liquide / air

Résistant à au moins 1 bar de surpression

Compatible avec des réactifs biologiques / tampons



- **Système totalement intégré**

Avec fonctions: mélange, agitation, lyse mécanique



Technologie CEA FlowPad™: bio validation



Concentration non-spécifique pathogènes avec billes magnétiques

	B. globigii	B. subtilis	S. epidermidis	S. marscencens	E. coli
commercial le1	>20 - <40%	< 20%	>20 - <40%	>20 - <40%	>40%
commerciale 2	>40%	>40%	< 20%	< 20%	>40%
fonctionnalisée 1	>40%	>40%	>40%	>20 - <40%	>40%
fonctionnalisée 2	>40%	>40%	>40%	>40%	>40%
fonctionnalisée 3	>40%	>40%	>40%	>20 - <40%	>40%
fonctionnalisée 4	>20 - <40%	>40%	>40%	>40%	>40%
fonctionnalisée 5	>20 - <40%	>40%	>40%	>40%	>40%

• Méthode de concentration non spécifique

• > 40% de rendement sur un large panel de pathogènes

Lyse mécanique

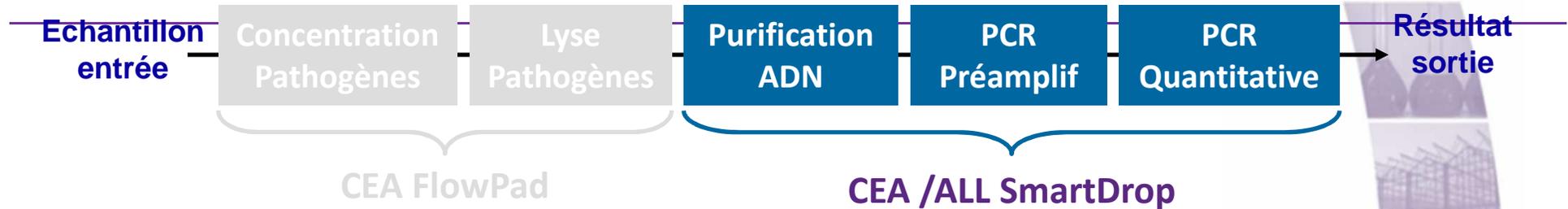
- 25% de rendement sur pathogènes résistants contrôlés (pas de signal avec lyse chimique)
- rendement de moitié par rapport à système de référence (Precellys, Bertin)



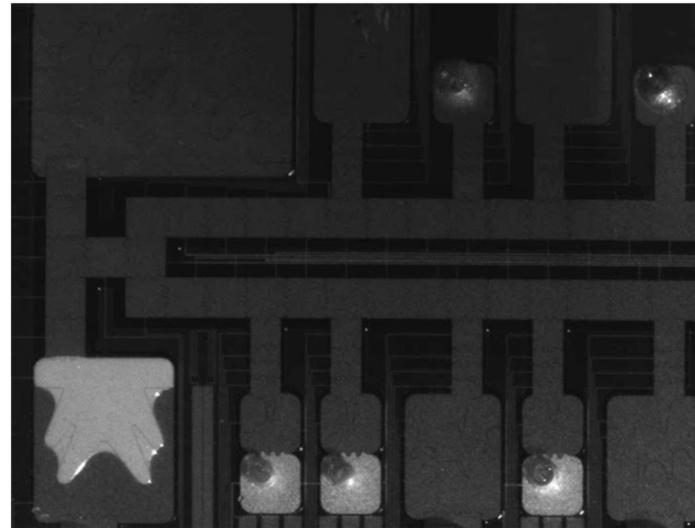
Chambre de lyse remplie de billes



Technologie SmartDrop CEA / ALL



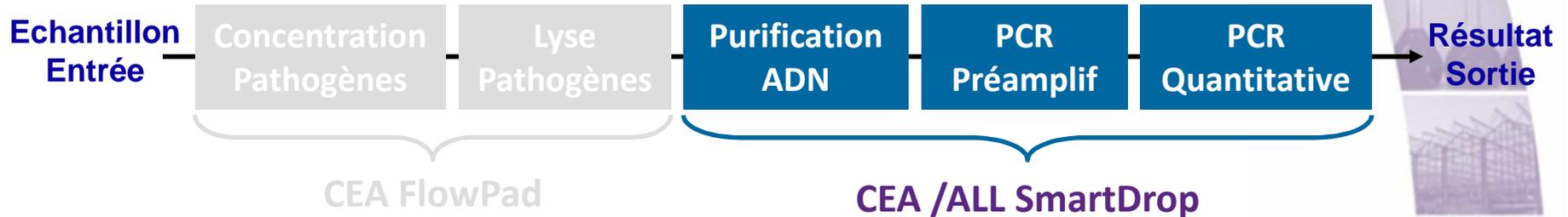
SmartDrop: Microfluidique en goutte (nl)



Advanced Liquid Logic (ALL) et le CEA-LETI ont développé la technologie EWOD
Depuis 2011, accord sur les brevets & co-développement avec une filiale française d'ALL



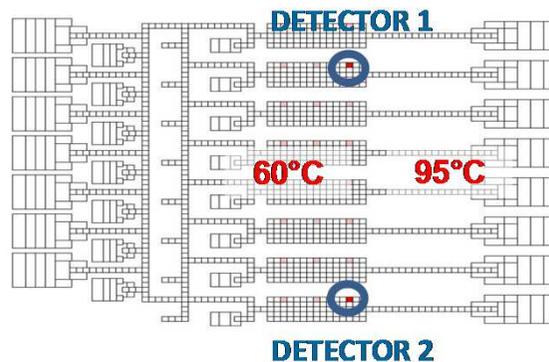
Technologie SmartDrop CEA / ALL



ALL SmartDrop: Instrumentation et cartouche



Cartouche ALL



2 zones thermiques pour le cyclage PCR

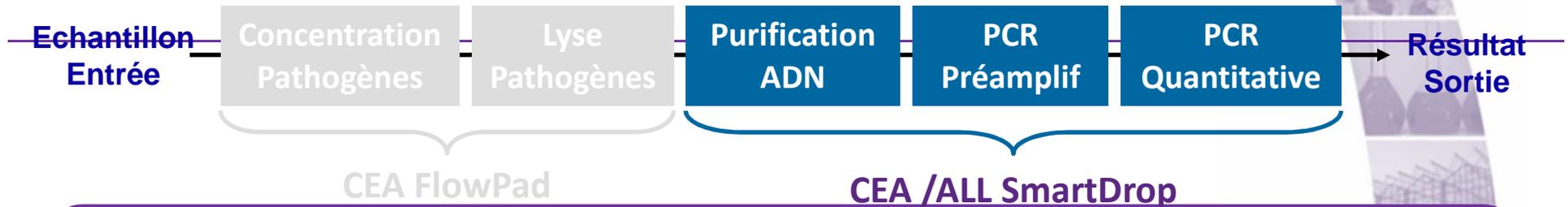


Instrumentation avec 2 détecteurs / 2 couleurs

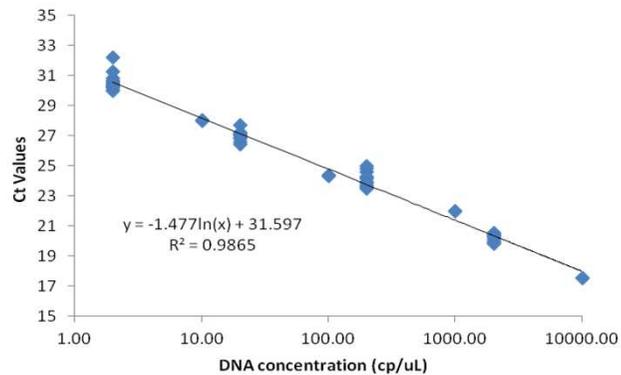
- Design de la cartouche SmartDrop pour purification ADN, préamplification et qPCR
 - 2 détecteurs avec 2 couleurs & 20 PCR en gouttes (20 tests à la fois)
 - 2 zones thermiques pour le cyclage PCR
- 1 min / PCR cycle**



Technologie SmartDrop CEA / ALL

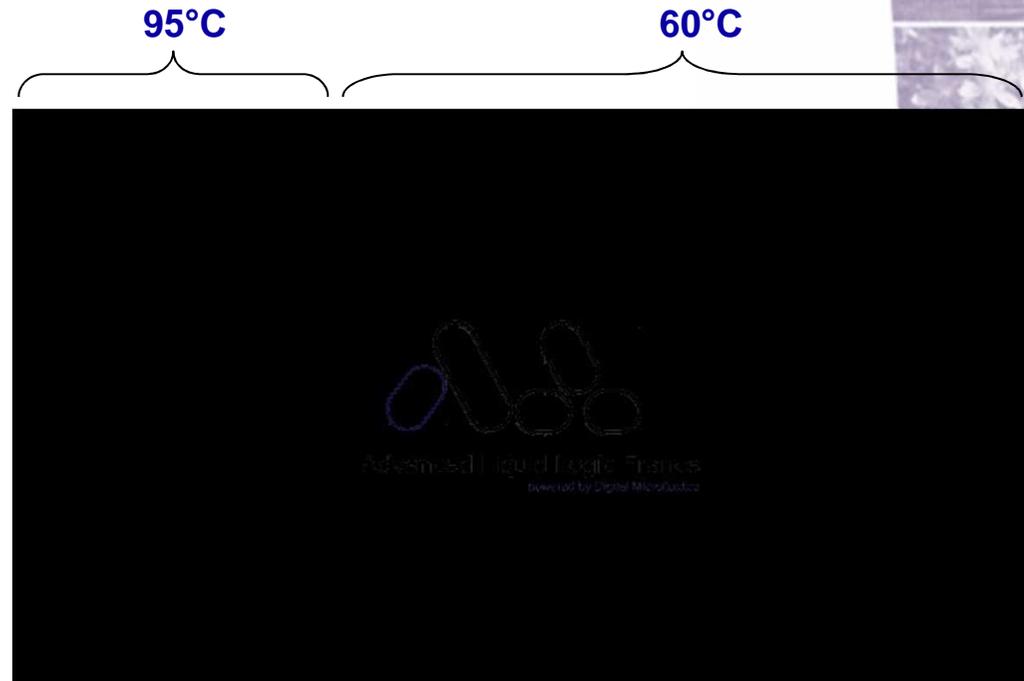


Performances



Concentrations (cp/uL)	CV on Ct's values
2	<3.5%
20	<1.3%
200	<2.2%
2 000	<0.6%

LOD ~ 1.4 copie ADN / goutte



qPCR en 5 gouttes

Pas de contamination entre gouttes



Plateforme d'analyse modulaire BIOCAPTAIR

Aéro-collecte
de pathogènes



Préparation
d'échantillons

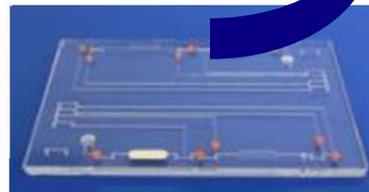
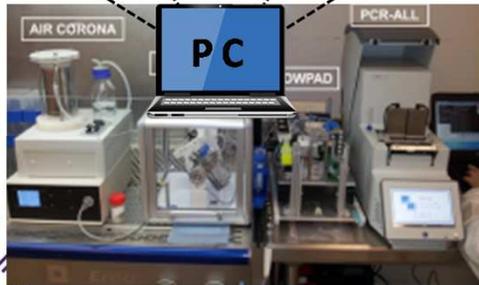
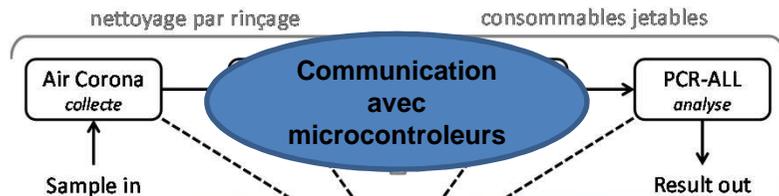


Analyse par
qPCR



Modules
couplés

Modules
couplés



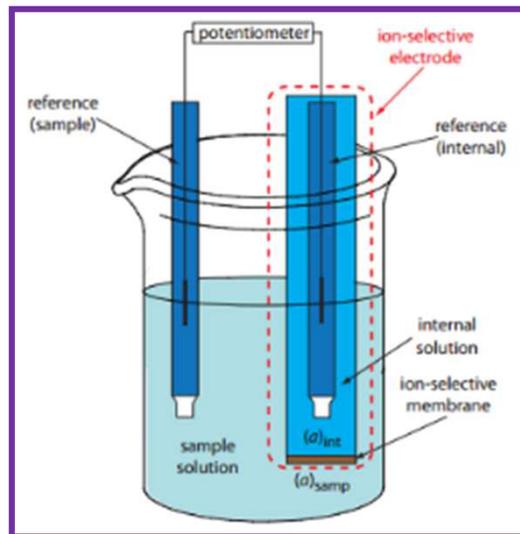
Cartouches
jetables



II. Microcapteurs électrochimiques pour l'analyse de l'eau

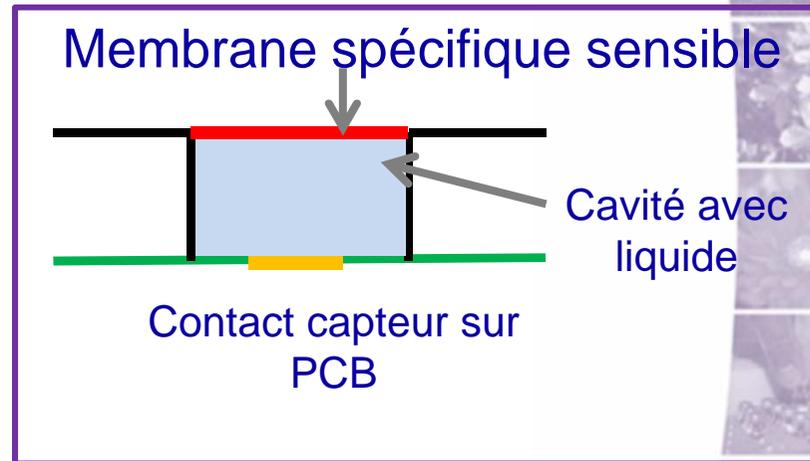
- **Principe:** ISE Ionic Selective Electrodes → capteur potentiométrique

Macro système



Cellule potentiométrique standard avec ISE. La membrane de l'ISE sépare l'échantillon, qui contient l'analyte avec une activité $(a_A)_{\text{échan}}$, d'une solution interne contenant l'analyte à une concentration connue avec une activité $(a_A)_{\text{int}}$

Microsystème intégré



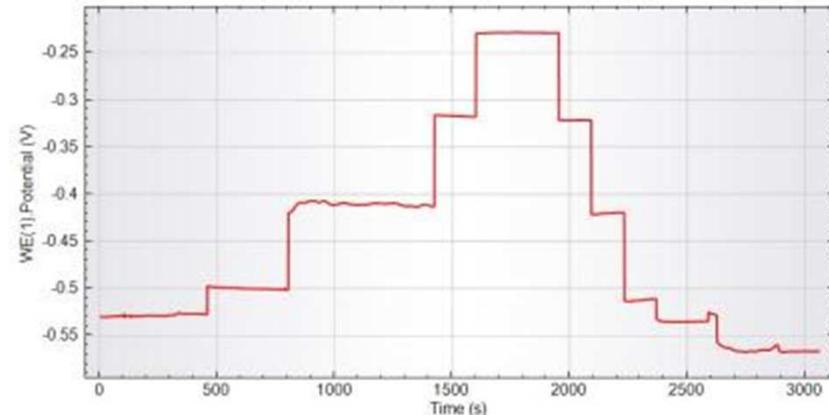
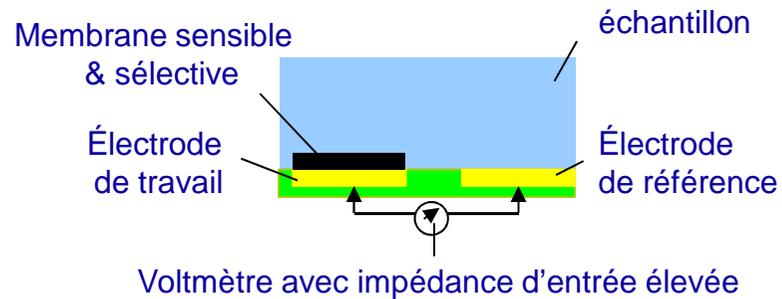
Le potentiel de la membrane est donné par la loi de Nernst:

$$E_{\text{mem}} = E_{\text{asym}} - \frac{RT}{zF} \ln \frac{(a_A)_{\text{int}}}{(a_A)_{\text{samp}}}$$



Plateforme d'analyse multiparamétriques

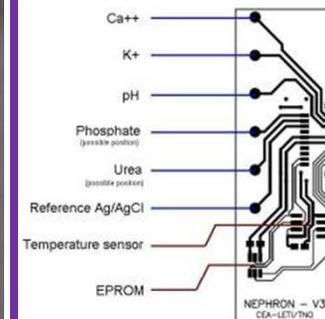
ISE Ionic Selective Electrodes



- Capteur ISE pour analyse ionique: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , pH, NH_4^+
- Mesures complémentaires: conductimétrie, $T^\circ\text{C}$...
- Plateforme multiparamétrique
- Evolution vers l'analyse d'autres espèces: Cl^- , F^- , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-}



Plateforme multicapteur



Caractéristiques principales

Mesure multiparamétrique en temps réel et en continu

- ▶ **Multiparamétrique:** jusqu'à 6 mesures à la fois
- ▶ **Mesure en temps réel et en continu**
- ▶ **Résultat rapide:** 10 - 30 sec
- ▶ **Précision de la mesure:** 1-3%
- ▶ Lecture à longue distance: **connexion sans fil ou directe au PC ou au smartphone**
- ▶ **Système anti-interférence**
- ▶ **Possibilité d'utiliser l'électrode dans toutes les directions**
- ▶ **Mesure sans gêner le flux**

portable et robuste

- ▶ **Petite taille:** électronique intégrée et petite taille du capteur (25 fois plus petit que les capteurs existants)
- ▶ **Robustesse:** mécanique et chimique

Utilisation à faible coût

- ▶ **Durée de vie longue de la membrane en utilisation:** 2 fois plus longue que la moyenne des membranes existantes
- ▶ **Temps de stockage augmenté**
- ▶ **Calibration réduite** par un facteur 2 ou 10 selon l'application
- ▶ **Faible consommation**

Biocompatibilité

- ▶ **Biocompatibilité:** ISO 10993-13
- ▶ **Non cytotoxique:** pas de relargage de molécule
- ▶ **Stérilisable**



Exemples d'applications des microcapteurs électrochimiques

Electrode

- In line
- At line
- Off line
- Portable



Contrôle
qualité de l'eau



Système portable



Wireless
électrode

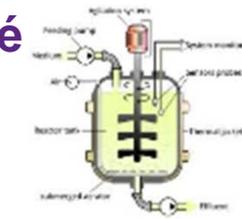


monitoring de
la ressource
en eau



Contrôle de bioprocédé

Monitoring
organe artificiel



Electrode

- In line
- Portable

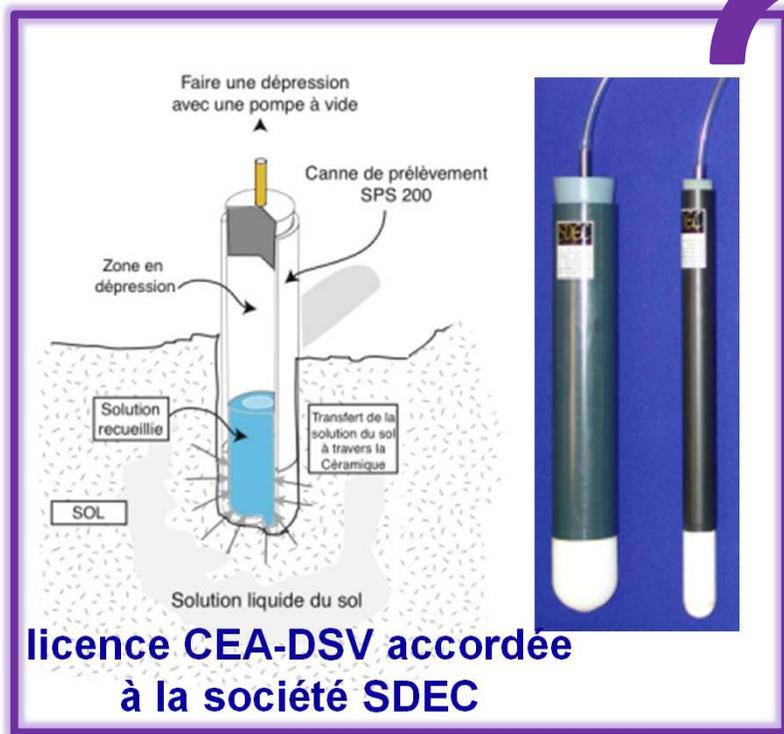


monitoring de
culture
hydroponique

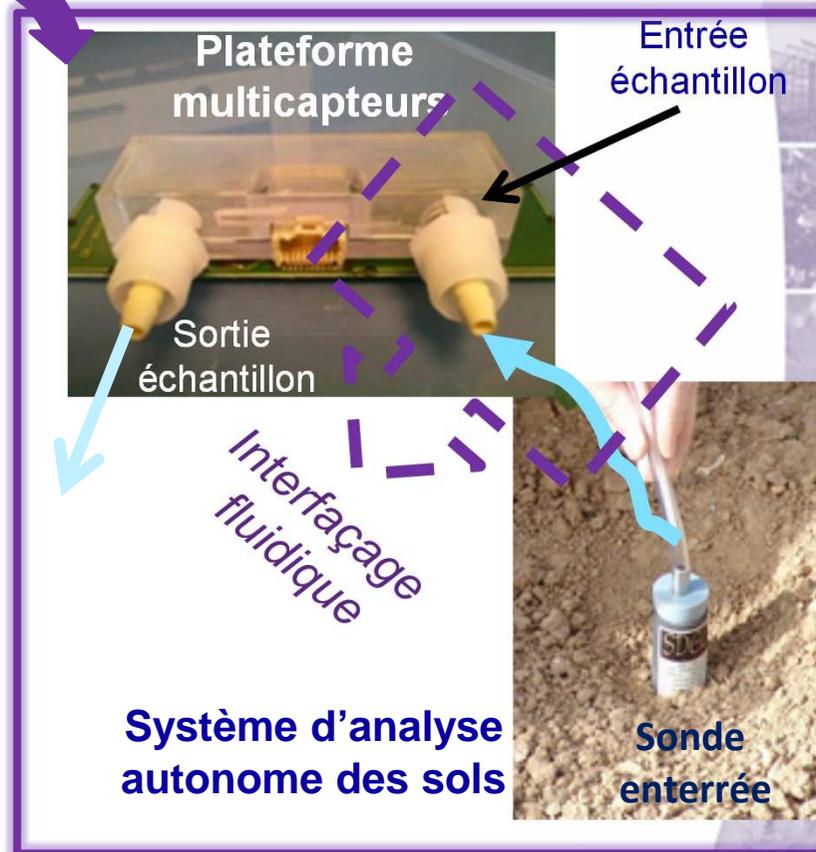


Analyse des sols: Interfacer les microcapteurs chimiques avec un extracteur d'eau

Sonde commerciale pour l'extraction d'échantillon liquide dans le sol



Interfaçage sonde / multicateurs à réaliser par le CEA-LETI



iteipmai

Journées techniques • Rendez-vous d'herbalia

Merci de votre attention

Travaux réalisés dans les laboratoires
de Guillaume DELAPIERRE (LBAM)
et Gilles MARCHANDS (LCMI)

