

Les polymères de synthèse, supports du diagnostic médical

Thierry Delair, Abdelhamid Elaissari, Agnès Perrin et Bernard Mandrand

Abstract

Polymers as medical diagnostic supports

Medical diagnostic tests are designed to detect the presence or to quantify the concentration of biological molecules in various samples. Polymers are mainly used as supports to help the extraction of the analyte for further quantification or as tools to amplify the detection signal. The need for more sensitive, robust, reliable, quicker and cheaper tests has led diagnostics to evolve towards integrated systems allowing multiparametric analyses. In these structures, polymers may not only serve as supports as they may have other specific functions such as information provider, gates... Finally these polymers, often obtained via polymerization processes, will be in presence of biomolecules and thus, their interactions need to be understood and controlled.

Mots-clés

Diagnostic, polymères, biomolécules, biopuces, multiparamétrage.

Key-words

Diagnostics, polymers, biomolecules, biochips, multidetection.

Le diagnostic : objectifs, enjeux et évolutions

Si les tests d'analyse biologique existent depuis des temps très anciens, depuis Louis Pasteur pour la microbiologie par exemple, les outils diagnostiques intégrés à une instrumentation spécialisée sont, par contre, très récents.

L'industrie des réactifs et instruments à usage diagnostique *in vitro* pour les tests standardisés sur des prélèvements biologiques est une activité répertoriée depuis 1960. Les premiers tests industrialisés ont concerné la chimie clinique, puis les immuno-essais, suivis par les tests fonctionnels d'hémostase, les milieux de culture bactériens et viraux. Les premières trousse de biologie moléculaire utilisables en routine clinique sont apparues vers 1990 pour les virus et la génétique.

Aujourd'hui, le diagnostic *in vitro* s'étend, avec les mêmes méthodes et souvent des cibles identiques, au suivi pronostic des traitements (théragnostic), au contrôle des fabrications agroalimentaires... L'analyse biologique au service de la santé humaine est devenue incontournable, sa pratique a pris des formes nouvelles. En effet, dans la période initiale de création et de diffusion des protocoles standardisés, les analyses étaient réalisées dans des laboratoires privés ou hospitaliers de quelques dizaines d'employés biologistes ou laborantins. Les laboratoires de taille moyenne, s'ils existent encore, font de plus en plus place, soit à de très grandes chaînes de laboratoires centralisés, très automatisées, soit, à l'inverse, à des pratiques de tests proches du patient utilisant des outils intégrés, d'emploi très simple, généralement qualifiés de « tests rapides ». Ces deux extrêmes de l'analyse biologique se développent à une cadence élevée. Le seul domaine des tests rapides connaît une progression mondiale de l'ordre de 15 % par an.

Les tests diagnostiques utilisent des molécules de très grande spécificité : substrats d'enzymes, anticorps, antigènes, oligonucléotides, qui leur confèrent une extrême sélectivité. Dans le domaine de la recherche des germes

infectieux, par exemple, on sait aujourd'hui détecter quelques molécules d'ADN appartenant à un agent pathogène parmi plusieurs milliards de molécules de même taille et de même composition chimique, mais possédant une séquence différente. Un anticorps reconnaît la conformation spécifique d'un antigène avec une très forte sélectivité, la limite de sensibilité étant de l'ordre de 10^5 molécules dans un échantillon qui peut en contenir 10^{16} , dont certaines sont de structures proches. Cette limite de sensibilité tient actuellement presque exclusivement au compromis à trouver entre le volume de prélèvement et celui de l'analyse.

L'usage des polymères s'est répandu depuis le début de cette industrie. Les véhicules de tests (tubes, objets consommables) sont réalisés en polystyrène pur ou en mélange. Seuls les tubes de prélèvement restent encore pour certains en verre, mais beaucoup de travaux sont

Glossaire

Analyte

Molécule ou macromolécule dont on souhaite effectuer le dosage. Dans le diagnostic médical, ce peut être des hormones, des antigènes, des anticorps, des ADN ou ARN...

Hémostase

Ensemble des processus qui permet l'arrêt du saignement après une blessure ou une hémorragie.

Liquide céphalorachidien

Liquide physiologique qui baigne les cellules nerveuses de la moelle épinière et du cerveau. Il est filtré à partir du sang par la barrière hémato-méningée.

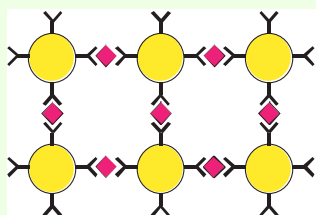
PCR

« Polymerase chain reaction », méthode biochimique permettant la réplication à l'identique d'acide désoxyribonucléique. Cette méthode d'amplification se déroule par alternance de phases de chauffage (pour dissocier les doubles brins), d'hybridation d'amorces (pour délimiter la région à amplifier) et de polymérisation enzymatique (pour copier la séquence sélectionnée). Chaque cycle permet une amplification d'un facteur 2, soit pour n cycles, 2^n .

Encadré 1**Les tests d'agglutination**

Les premiers test latex reposaient sur la formation de réseaux de particules décelables à l'œil nu par formation de complexes immunologiques entre les anticorps portés par des particules de latex et l'antigène présent dans l'échantillon. Ces tests sont très simples à effectuer, il suffit de mélanger une goutte d'échantillon à analyser à une goutte de dispersion de latex et d'agiter doucement deux ou trois minutes. La formation d'agrégats traduit un échantillon positif.

Dans le schéma, les anticorps sont représentés par des Y, les antigènes par des losanges et les particules comme des sphères pleines.



réalisés pour leur substituer des matériaux plastiques, plus sûrs. La prévention des risques pour le personnel effectuant les prélèvements est plus facilement assurée de ce fait.

Les bactéries sont cultivées en boîtes plastiques et les tests biochimiques conduits dans des cuvettes transparentes également en polymères injectés.

Les polymères de synthèse, qui sont ainsi le contenant universel des tests diagnostiques, sont aussi dans une large part des éléments actifs qui concourent non seulement à la praticabilité de l'analyse, mais aussi à sa qualité. Les tests d'agglutination (voir encadré 1) permettent la quantification d'antigènes jusqu'à des limites de concentration de l'ordre de 1 µg/mL, le réactif étant commercialisé sous forme liquide. Pour des concentrations plus faibles, les méthodes d'immuno-essais de type ELISA (« enzyme linked immunosorbent assay ») (voir encadré 2) utilisent soit des particules, soit la surface d'un tube ou d'un cône de polystyrène, les biomolécules étant adsorbées puis séchées en surface du support. Un développement récent de ce format est la possibilité de réaliser des multitests en fonctionnalisant par secteur (via le dépôt de gouttes de quelques nL) la surface du fond d'une plaque de microtitration. Le test se réalise selon les méthodes décrites dans l'encadré 2, la quantification étant obtenue par l'usage d'un substrat précipitant de l'enzyme qui se dépose sur la zone de réaction (tests OLISA, Apibio).

Les procédés en cours de développement doivent intégrer plusieurs types de polymères différents dans le même objet. Les réactifs sont contenus dans des réservoirs qui sont mis en contact avec la zone réactionnelle par des canaux de quelques centaines de µm. La libération de ces produits s'opère grâce à des microvannes en polymère souple obéissant à des activateurs externes ou intégrés. Une simple couche de polymère en brosse passant alternativement d'un état hydrophile à un état hydrophobe peut constituer une barrière très efficace pour gérer des ajouts successifs de réactifs.

Des polymères linéaires peuvent être utilisés pour orienter des molécules et accroître leur réactivité à la surface d'un polymère support.

Par ailleurs, les méthodes d'analyses directes, sans marqueur, utilisent le changement d'état des polymères pour effectuer des mesures d'interactions moléculaires

(polypyrrole et voltampérométrie par exemple). Ainsi, l'usage des polymères reste omniprésent dans le développement des outils du diagnostic moderne.

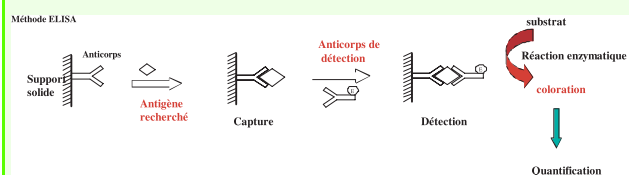
Dans la suite de cet article, nous passerons en revue les principales mises en œuvre de polymères utilisés en diagnostic *in vitro*.

Interactions biomolécules-polymères

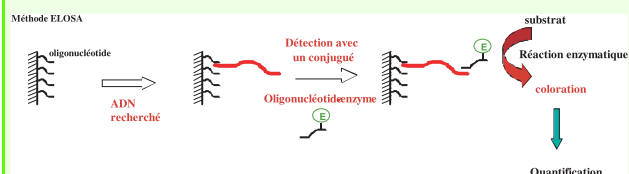
Les milieux dans lesquels s'effectuent la détection et la quantification des molécules à doser sont souvent complexes, chargés en sels, en protéines, en lipides, en polysaccharides, qu'il s'agisse du sérum (sang total moins ses composants cellulaires), des urines, du liquide céphalo-rachidien, etc. La stratégie suivie pour réaliser une quantification sensible et rapide consiste à extraire de façon spécifique l'analyte de l'échantillon et à procéder, dans une seconde étape, à la quantification proprement dite. Cette approche constitue la base de la technique ELISA couramment utilisée en diagnostic et dans laquelle la

Encadré 2**La méthode ELISA-ELOSA**

Les tests ELISA (« enzyme linked immunosorbent assay ») se déroulent en deux étapes, la capture et la détection. Dans la première, un anticorps spécifique de la substance à doser a été immobilisé à la surface d'un support solide (tube à essais, particules de latex...). Si l'analyte est présent dans l'échantillon à doser, ce dernier va se fixer spécifiquement sur l'anticorps à l'exclusion de tout autre contaminant. Ainsi, en fin d'étape de capture, la substance à doser a été extraite de l'échantillon et immobilisée sur le support solide, par l'intermédiaire de l'anticorps. La seconde étape consiste en la détection et la quantification de l'analyte contenu dans l'échantillon. Pour ce faire, un second anticorps portant une enzyme ira reconnaître un autre site de l'analyte immobilisé sur la phase solide pour constituer un sandwich anticorps de capture/analyte/anticorps de détection. Comme l'anticorps de détection est couplé à une enzyme, en ajoutant son substrat, on amorce la réaction enzymatique qui va provoquer une coloration du milieu par exemple. Ainsi, l'intensité de la couleur sera proportionnelle à la quantité d'enzyme fixée en fin d'étape de détection, donc à la quantité d'analyte immobilisé pendant l'étape de capture, et par conséquent sera indicateur de la concentration de cet analyte dans l'échantillon issu du patient.



Pour le diagnostic moléculaire, le principe reste identique sauf que ce sont des acides nucléiques qui sont utilisés. Des oligonucléotides de synthèse (souvent de petite taille) sont adsorbés sur la phase solide ou utilisés comme conjugués de détection après couplage avec une enzyme. La molécule cible est un ARN ou un ADN génomique monobrin. Les réactions impliquées sont les réactions d'hybridation entre brins complémentaires.

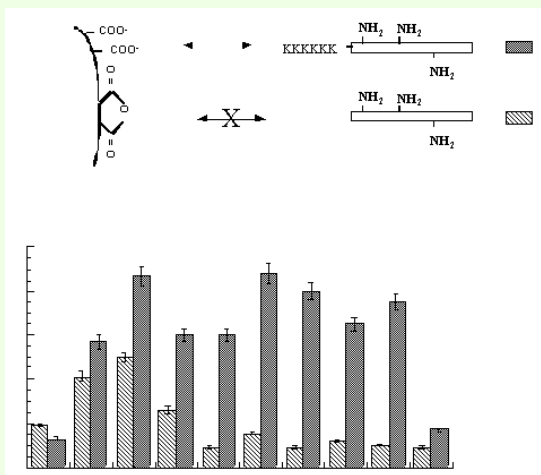


Encadré 3**Contrôle de la régio-sélectivité du couplage covalent**

Le greffage covalent d'une entité biologique permet d'obtenir des conjugués biomolécules/polymères stables utilisables en diagnostic. Toute modification chimique d'une molécule issue du vivant, et c'est tout particulièrement vrai pour les protéines, peut être considérée comme une altération de l'intégrité de cette dernière, ce qui peut se traduire par des pertes d'activité biologique. Pour éviter ce problème, il faut que les réactions chimiques impliquées dans le greffage aient lieu à des positions prédéfinies sur la protéine, c'est-à-dire dans des sites de la biomolécule qui ne soient pas impliqués dans les processus de reconnaissance macromoléculaire constitutifs de la spécificité des enzymes, des antigènes ou des anticorps. C'est le contrôle de la régio-sélectivité de la réaction qui peut se faire de deux façons :

- en utilisant des réactions chemiosélectives entre le support et une fonction particulière portée par la biomolécule (soit naturellement comme les thiols des régions charnières des anticorps, soit par mutation ponctuelle en apportant par des techniques de génie génétique un acide aminé fonctionnel à une position prédéfinie). Une telle réaction se trouve par exemple dans la spécificité de la chimie des thiols [22] ;

- en utilisant des interactions physico-chimiques qui vont préférentiellement mettre en contact un site sur la protéine et le polymère. Les techniques de génie biologique permettent d'ajouter en une position, C ou N terminale, d'une protéine une succession de six lysines, ou tag, dont les fonctions amine pendantes sont protonées. Si le polymère réactif est chargé négativement, l'étiquette polycationique interagira préférentiellement avec le polymère, favorisant donc la réaction de greffage avec l'étiquette et non sur le site actif [5, 23].



spécificité est apportée par un anticorps dirigé contre la substance à doser, fixé sur la phase solide.

Les modes de fixation des molécules biologiques sur les supports sont d'une part l'adsorption, faisant intervenir des interactions physiques, et d'autre part la fixation covalente qui repose sur la formation de liaisons chimiques entre les deux partenaires. Les propriétés interfaciales des supports utilisés seront donc déterminantes à la fois pour l'établissement des interactions, mais aussi pour les conséquences de ces interactions sur l'activité des molécules biologiques fixées sur les phases solides. Par exemple, la fixation de protéines sur des supports plastiques tels que microplaques, cônes, cuvettes... à base de polymères rigides préformés (polystyrène ou polypropylène essentiellement) aura lieu *via* des interactions hydrophobes. Ces dernières peuvent aussi induire des modifications conformationnelles des biomolécules, se traduisant par une

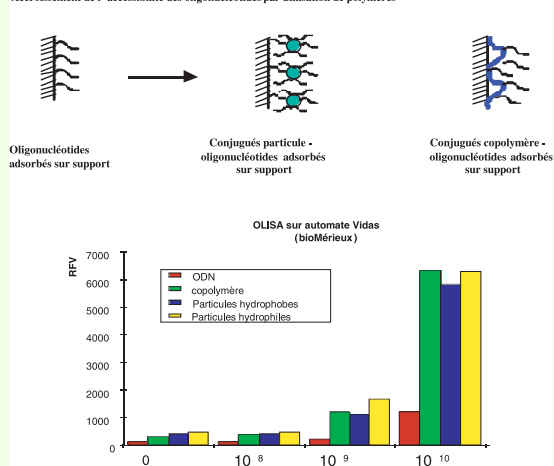
perte (partielle) de l'activité biologique [1]. De façon similaire, le greffage covalent sur un support d'une molécule à activité biologique peut être considéré comme une altération chimique et, afin de minimiser les pertes d'activité, il faut pouvoir contrôler la régio- ou la chemo-sélectivité des réactions (voir *encadré 3*). Les protéines sont plus sensibles à la dénaturation que les petites molécules (peptides, oligonucléotides). Inversement, l'accessibilité des petites molécules greffées sur une surface est un point critique à cause de l'encombrement stérique généré par la phase solide. Les polymères jouent un rôle important dans la levée de cette gêne stérique (voir *encadré 4*). A titre d'exemple, les acides nucléiques peuvent être orientés à l'aide d'une fonction amine terminale qui se greffe de façon covalente sur des fonctions anhydride maléique [2] ou saccharidique présentes sur des polymères linéaires [3-4]. Les protéines recombinantes modifiées par ajout d'une séquence de plusieurs lysines à leur extrémité C ou N terminale bénéficient également d'une orientation privilégiée [5]. Par ailleurs, un bon contrôle de la densité de greffage est nécessaire afin d'éviter un encombrement stérique lié à un excès de ligands défavorable à l'approche des analytes. Ces polymères sont souvent des gels à base d'acrylamide, d'agarose, de nitrocellulose ou des (co)polymères linéaires dont l'architecture peut être optimisée jusqu'à l'obtention de structures complexes.

Il est également possible de fonctionnaliser les surfaces inorganiques par dépôt d'un film métallique lui-même recouvert d'une couche de polymère biocompatible (polysaccharide ou autre). Cette technologie est adoptée avec succès par la société Biacore (Uppsala, Suède) pour son biocapteur optique basé sur le phénomène des ondes évanescentes [6].

Encadré 4**Polymères et sensibilité des tests**

Les tests ELOSA (« enzyme linked oligosorbent assay ») utilisent des oligonucléotides synthétiques de faible taille. Avec ces « petites » molécules, le problème de l'accessibilité est important et la gêne stérique engendrée par la phase solide limite la capacité de capture de la cible ADN, souvent de très grande taille. Pour résoudre ce problème, des conjugués copolymères/oligonucléotides ou particules/nucléotides sont adsorbés sur la phase solide originelle. En éloignant les oligonucléotides du support solide, les copolymères ou les particules permettent d'accroître la sensibilité du test, comme on peut le voir sur le graphe qui montre le signal de fluorescence obtenu en fonction du nombre de molécules d'ADN à détecter dans l'échantillon [24].

Accroissement de l'accessibilité des oligonucléotides par utilisation de polymères



Les supports colloïdaux dispersés

Outre les polymères rigides utilisés comme phase solide sous forme de cônes, cuvettes, plaques de microtitrations, les supports colloïdaux constituent une famille importante de matériaux pour le diagnostic. Cela est dû au fait que, pour un volume donné, les supports colloïdaux étant dispersés, il est possible de disposer d'une grande surface d'interaction. Celle-ci permet d'accroître la cinétique ou la sensibilité des tests. De plus, avec les divers procédés de polymérisation, émulsion, dispersion, précipitation, une grande variété de matériaux peut être obtenue : hydrophiles, hydrophobes, de diamètre et de fonctionnalité interfaciale contrôlés, ainsi que des matériaux composites par encapsulation de substances inorganiques [7].

Dans le diagnostic, comme nous l'avons déjà vu précédemment, les latex ont tout d'abord été utilisés en tant que support dans des tests immunologiques d'agglutination (voir encadré 1). Mais leur utilisation s'est élargie au diagnostic moléculaire, à la concentration et purification de molécules biologiques. C'est aussi un outil de détection des réactions de reconnaissance biologique.

Utilisation des latex comme support

Pour cet aspect, nous nous focaliserons sur les particules magnétiques dont le potentiel d'utilisation dans le domaine biomédical *in vitro* est considérable en raison de la possibilité de séparation rapide de ces matériaux lorsqu'ils sont soumis à un champ magnétique. La simplicité de mise en œuvre de la séparation magnétique permet d'envisager l'automatisation des systèmes d'analyse assurant à la fois un gain en sensibilité, en rapidité des tests et aussi la réduction des coûts.

La concentration de biomolécules revêt un intérêt particulier dans le domaine biomédical notamment dans le cas où une sensibilité élevée est requise. Cette étape de concentration est généralement réalisée après (ou pendant) une étape d'extraction spécifique ou non spécifique des biomolécules. La capture spécifique requiert que soient immobilisées en surface des particules des molécules capables d'interagir avec l'analyte à doser. En revanche, la capture non spécifique repose sur l'adsorption physique, généralement *via* des interactions électrostatiques, des molécules d'intérêt comme l'ADN ou des virus.

La concentration des acides nucléiques permet de répondre au besoin sans cesse accru de sensibilité des tests de biologie moléculaire. Considérant le caractère polyanionique des acides nucléiques, les latex cationiques, éventuellement magnétiques, sont particulièrement adaptés à l'extraction et à la purification des acides nucléiques [8]. Afin d'accroître la sensibilité de détection des acides nucléiques, ces derniers peuvent être amplifiés par voie enzymatique (PCR par exemple) après élution des particules, ou même en leur présence si le matériau n'inhibe pas les enzymes impliquées. La concentration de virus contenus dans un échantillon est une technologie qui permet de faciliter l'identification de ces derniers ou la remise en culture. Cette concentration, ou purification, est réalisée par une étape préalable de capture non spécifique des virus *via* des interactions électrostatiques ou des liaisons hydrogènes entre ces derniers et la surface des particules magnétiques. Les virus ainsi isolés peuvent être soit lysés, pour le relargage de leur matériel nucléaire, soit utilisés tels quels dans des procédés de culture. Cette

méthode d'extraction générique, basée sur l'utilisation des latex magnétiques hydrophiles et fonctionnalisés, permet principalement de s'affranchir des étapes lourdes des techniques conventionnelles de purification de virus.

Utilisation des latex en détection

Le format des tests rapides de type bandelettes est basé sur la migration par capillarité des réactifs à partir de l'échantillon dans une membrane sur laquelle sont greffés en un lieu bien défini des anticorps spécifiques d'une substance à doser. Parmi ces réactifs, des particules de latex colorées (en rouge, bleu...) porteuses d'anticorps vont permettre de visualiser la réponse par l'apparition d'une bande colorée au site où les anticorps de capture ont été greffés sur la membrane.

Les latex peuvent être rendus fluorescents par diffusion à l'intérieur des particules, ou par greffage covalent en surface, de fluorophores [9]. Une nouvelle approche repose sur l'encapsulation de quantum dots (QD) qui sont des nanocristaux fluorescents d'atomes des groupes II-VI ou III-V des éléments du tableau périodique, par exemple CdSe, ZnSe, InAs. Il est possible de constituer des mélanges de familles de particules, chacune pouvant être identifiée par leur fréquence d'émission, ce qui permet d'envisager des possibilités de multiplexage pour la détection multiple [10]. Les particules magnétiques peuvent être utilisées pour mettre en évidence les réactions de reconnaissance macromoléculaire en mesurant des paramètres comme la perméabilité magnétique [11] ou la magnéto-résistance [12].

Évolutions du diagnostic : multidétection et systèmes intégrés multiparamétriques

Le diagnostic moléculaire, et de plus en plus le diagnostic immunologique, sont bouleversés depuis quelques années par l'avènement de systèmes d'analyses multiplexées connus sous le nom de puces à ADN et puces à protéine [13], ou micro-réseaux. De tels systèmes nécessitent l'immobilisation sur une phase solide plane de quelques dizaines à plusieurs milliers de ligands différents, susceptibles de réagir avec une ou plusieurs substances biologiques recherchées dans des échantillons d'origines diverses (produit d'amplification génomique, sérum,

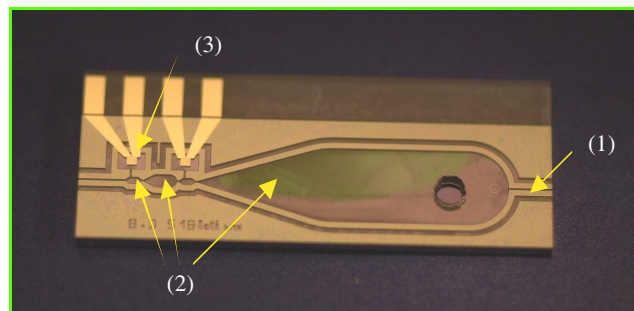


Photo d'un microcomposant gravé sur silicium comprenant un réseau capillaire (1) pour l'acheminement des fluides et différentes chambres réactionnelles (2) thermostatées (3).
Photo LETI-bioMérieux.

biomasse résultant de la culture cellulaire, produit alimentaire...). Les réponses qu'apportent ces puces sont extrêmement diversifiées, de l'analyse de la susceptibilité génétique d'un patient pour une maladie donnée, à la recherche de bactéries pathogènes dans l'eau de consommation, en passant par les tests d'allergie...

Les polymères représentent une alternative intéressante dans ce domaine en temps que phase de capture. Tous les types de supports plan décrits précédemment sont applicables aux systèmes multiplexés : surfaces plastiques, de verre ou de silice, gels ou polymères linéaires greffés. La totalité de la surface active de la puce peut être fonctionnalisée par un film continu de polymère avant d'y greffer localement les ligands. Les complexes présynthétisés biomolécules/polymères peuvent également être déposés sous forme de spot sur le support. L'énorme potentiel que représentent les polymères pour l'immobilisation des biomolécules sur puces se révèle alors largement car il est possible d'adopter pour chaque ligand la solution de greffage optimale. Cette liberté est particulièrement intéressante pour toutes les applications en protéomique, car les protéines sont naturellement beaucoup plus variables structurellement et chimiquement que les acides nucléiques, ce qui induit de fortes variations quant à leur affinité pour un support donné. Par exemple, les anticorps supportent très bien une adsorption directe sur un support de type plaque de microtitration, alors que des antigènes de masse molaire inférieure seront avantageusement immobilisés par l'intermédiaire d'un polymère linéaire [14]. Les propriétés « intelligentes » de certains polymères, c'est-à-dire leur faculté à répondre à des stimuli externes comme le pH, la température, une insolation UV, sont également exploitables pour améliorer la spécificité et la sélectivité des puces multiplexées [15].

Les propriétés des polymères conducteurs sont remarquablement exploitées dans le domaine des puces à ADN [16]. Ces polymères peuvent être obtenus par électro-polymérisation amorcée localement par application d'un potentiel sur une électrode de surface de l'ordre de quelques centaines de μm^2 , à partir d'un mélange de monomères dont un faible pourcentage est modifié par un acide nucléique de séquence d'intérêt. Il est ainsi possible de réaliser de façon automatisée un réseau dont la complexité égale celle du nombre d'électrodes [17]. Ces mêmes polymères conducteurs peuvent également générer le signal réponse de la puce, la formation d'une double hélice modifiant les propriétés conductrices du polymère [18]. Alternativement, des polymères porteurs de groupement réactifs sont tout d'abord générés sur des électrodes avant d'être mis en réaction avec la molécule à immobiliser pour former des conjugués covalents polymères électroconducteurs/molécules d'intérêt biologique [19].

Conclusions et perspectives : des polymères intelligents dans des microlaboratoires sur puces jetables

Les propriétés des polymères se diversifient puisqu'ils sont capables de répondre à des stimuli physiques externes ou de véhiculer de l'information. De plus, on assiste à une intégration de plus en plus importante des divers procédés de la biologie, représentée par l'émergence de microréseaux au sein de dispositifs miniaturisés autonomes appelés

laboratoires sur puce [20]. Ces microlaboratoires seront capables de prendre en charge l'échantillon biologique issu du prélèvement, de le traiter afin de libérer les molécules recherchées, de multiplier si nécessaire la quantité de matériel biologique par amplification génomique, puis de capturer, reconnaître et quantifier les analytes sur une puce. De tels dispositifs nécessitent des efforts considérables pour le développement de canaux et chambres réactionnelles aux dimensions submillimétriques compatibles avec le matériel biologique (inertie chimique, contrôle de l'adsorption, absence de contamination...), avec les procédés et les réactions mis en jeu (résistance thermique, mécanique et chimique...), avec les contraintes liées à la fluidique dans ces dimensions où l'écoulement des fluides est généralement laminaire (absence d'angle vif, contrôle de la rugosité, bonne mouillabilité...), et enfin avec la lecture de la puce aujourd'hui généralement basée sur une mesure optique (transparence, absence de fluorescence parasite...). Historiquement, la plupart de ces dispositifs sont issus des technologies de la microélectronique et sont réalisés par photolithographie sur silicium. Leur handicap essentiel est un coût souvent incompatible avec une utilisation en routine par les laboratoires d'analyse. Ainsi émergent des microsystèmes conçus entièrement dans des matériaux polymères (polyméthylméthacrylate, polycarbonate, polydiméthylsiloxane) qui sont moulés, produits en grande quantité, et dont le prix de revient est largement moindre. De tels matériaux peuvent être modifiés localement de manière à créer à volonté des zones aux propriétés physico-chimiques variables, par exemple des régions fonctionnelles permettant l'adhésion des biomolécules, une alternance de zones hydrophiles/hydrophobes pour gérer l'acheminement des liquides, des vannes sous contrôle thermique par l'utilisation de polymères thermosensibles [21].

L'avenir des polymères dans le diagnostic biologique apparaît très riche, les applications se diversifient largement au fur et à mesure que les propriétés des polymères évoluent.

Remerciements

Nous remercions tout particulièrement les collaborateurs de l'UMR CNRS-bioMérieux dont les résultats ont été cités dans cet article, ainsi que le Dr F. Ginot de l'Unité Mixte LETI-bioMérieux pour la photographie du microcomposant.

Références

- [1] Andrade J.D., Principles of protein adsorption, *Surface and Interfacial Aspects of Biomedical Polymers*, vol. 2 Protein Adsorption, J.D. Andrade, Plenum Press, Londres, 1985, pp. 1-80.
- [2] Ladavière C., Véron L., Domard A., Delair T., Pichot C., Mandrand B., *J. Appl. Polym. Sci.*, 1997, 65, p. 2567.
- [3] Delair T., Badey B., Domard A., Pichot C., Mandrand B., *Polym. Adv. Technol.*, 1997, 8, p. 545.
- [4] D'Agosto F., Charreyre M.T., Pichot C., Mandrand B., *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2002, 203, p. 146.
- [5] Allard L., Cheynet V., Oriol G., Veron L., Merlier F., Scremin G., Mandrand B., Delair T., Mallet F., *Bioconj. Chem.*, 2001, 12, p. 972.
- [6] Cooper M.A., *Nature Reviews Drug Discovery*, 2002, 1, p. 515.
- [7] Pichot C., Delair T., Elaissari A., Polymer colloids for biomedical and pharmaceutical applications, *Polymeric Dispersions: Principles and Applications*, J.M. Asua, Kluwer Press, Londres, 1997, p. 515.
- [8] Elaissari A., Holt L., Voisset C., Pichot C., Mandrand B., Mabilat C., *Journal of Biomaterials Science*, Polymer Edition, 1999, 10, p. 403.
- [9] Charreyre M.T., Yekta A., Winnik M.A., Delair T., Pichot C., *Langmuir*, 1995, 11, p. 2423.
- [10] Han M., Gao X., Su J.Z., Nie S., *Nature Biotechnology*, 2001, 18, p. 631.
- [11] Kriz K., Gerhke J., Kriz D., *Biosens. Bioelectron.*, 1998, 13, p. 817.
- [12] Baselt D.R., Lee G.U., Natesan M., Mtezger S.W., Sheehan P.E., Colton R.J., *Biosens. Bioelectron.*, 1998, 13, p. 731.

- [13] Stears R.L., Martinsky T., Schena M., *Nature Medicine*, **2003**, *9*, p. 140.
 [14] Perrin A., Duracher D., Allard L., Cleuziat P., Theretz A., Mandrand B., *Polymer International*, **2003**, sous presse.
 [15] Ding Z.L., Fong R.B., Long C.J., Stayton P.S., Hoffman A.S., *Nature*, **2001**, *411*, p. 59.
 [16] Jager E.W.H., Smela E., Inganas O., *Science*, **2000**, *290*, p. 1540.
 [17] Caillat P., David D., Belleville M., Clerc F., Massit C., Revol-Cavalier F., Peltié P., Livache T., Bidan G., Roget A., Crapez E., *Sensors and Actuators B: Chemical*, **1999**, *61*, p. 154.
 [18] Lee T.Y., Shim Y.B., *Analytical Chemistry*, **2001**, *72*, p. 5629.
 [19] Garnier F., Korri-Youssoufi H., Srivastava P., Mandrand B., Delair T., *Synthetic Metals*, **1999**, *100*, p. 89.
 [20] Krishnan M., Namasivayam V., Lin R.S., Pal R., Burns M.A., *Current Opinion in Biotechnology*, **2001**, *12*, p. 92.
 [21] Yu C., Mutlu S., Selvaganapathy P., Mastrangelo C.H., Svec F., Frechet J.M.J., *Analytical Chemistry*, **2003**, *75*, p. 1958.
 [22] Rao S.V., Anderson K.W., Bchas L.G., *Mikrochim Acta*, **1998**, *128*, p. 127.
 [23] Ladavière C., Delair T., Domard A., Novelli-Rousseau A., Mandrand B., Mallet F., *Bioconj. Chem.*, **1998**, *9*, p. 655.
 [24] Charles M.H., Charreyre M.T., Delair T., Elaissari A., Pichot C., *S.T.P. Pharma Sciences*, **2001**, *4*, p. 251.



T. Delair



A. Perrin

Thierry Delair¹ est responsable du groupe chimie, Abdelhamid Elaissari² est directeur de recherche CNRS et Agnès Perrin³ est chargée de recherche bioMérieux au sein de l'Unité Mixte CNRS-bioMérieux de Lyon* dirigée par Bernard Mandrand⁴.



A. Elaissari



B. Mandrand

* Unité Mixte CNRS-bioMérieux (UMR 2142), ENS-Lyon, 46 allée d'Italie, 69364 Lyon Cedex 07.

¹ Tél. : 04 72 72 83 63.
Fax : 04 72 72 85 33.

Courriel : Thierry.delair@ens-lyon.fr

² Tél. : 04 72 72 81 34. Fax : 04 72 72 85 33.

Courriel : Hamid.Elaisari@ens-lyon.fr

³ Tél. : 04 72 72 85 92.

⁴ Tél. : 04 72 72 83 59. Fax : 04 72 72 85 33.

Courriel : Bernard.Mandrand@ens-lyon.fr

F FOURNIER PHARMA



L'expansion internationale,

à travers notamment une politique active de partenariats, associée à une stratégie d'innovation constante, sont pour Fournier Pharma les principaux piliers de la croissance.

Avec un investissement en Recherche & Développement

atteignant aujourd'hui 13% de son chiffre d'affaires, Fournier Pharma s'appuie sur ses 30 années d'expérience en lipidologie afin de mettre au point des molécules à forte valeur ajoutée dans les pathologies du métabolisme et les pathologies associées (dyslipidémies, diabète, syndrome métabolique).

Directement établi dans 30 pays,

Fournier Pharma complète sa logique d'ouverture grâce à un solide réseau de partenaires comptant parmi les leaders mondiaux de l'industrie pharmaceutique.

Laboratoires Fournier S.A. - 42, rue de Longvic - 21300 Chenôve
 Tél.: 33 (0)3 80 44 70 00 - Fax: 33 (0)3 80 44 73 10
 www.fournierpharma.com

LABORATOIRES
FOURNIER