

# La chimie dans les empreintes génétiques

Emmanuelle Briant

## Résumé

L'identification des personnes à des fins judiciaires a connu une grande avancée avec l'établissement des fiches anthropométriques par Alphonse Bertillon à la fin de XIX<sup>e</sup> siècle. À la même époque, la découverte des empreintes digitales comme marque individuelle permet de créer une ébauche de fichier d'empreintes digitales. Ce fichier sera automatisé en France en 1987 (Fichier automatisé des empreintes digitales, FAED). Avec la découverte de l'ADN en 1953 et le développement de techniques d'analyses de l'ADN à la même époque, les méthodes d'identification des personnes évoluent. Onze ans après le FAED, est créé le Fichier national automatisé des empreintes génétiques (FNAEG) dans le but de recenser les profils génétiques de personnes impliquées dans des crimes sexuels. La loi Perben de 2004, permettant l'extension des délits conduisant à l'établissement de profils ADN, induit une augmentation du nombre de profils enregistrés : en 2009, le fichier contient plus de 1 240 464 profils et 58 378 rapprochements ont pu être effectués. Cet article a pour but d'illustrer l'implication de la chimie dans la détermination d'une empreinte génétique, preuve scientifique qui a révolutionné l'identification des personnes un siècle après les empreintes digitales.

## Mots-clés

**ADN, profil génétique, PCR, électrophorèse capillaire, réaction colorée, fluorophore, identification.**

## Abstract

### Chemistry and DNA fingerprints

The identification of persons for judicial purposes has been a great step forward with the establishment of anthropometric files by Alphonse Bertillon in late XIX<sup>th</sup> century. The discovery of fingerprints as individual mark allows Bertillon to create a schematic fingerprints database. The automated database will be created in France in 1987 ("Fichier automatisé des empreintes digitales", FAED). With the discovery of DNA in 1953 and the development of techniques for DNA analysis, techniques for identification evolve. Eleven years after the FAED, the national automated database of DNA fingerprint (FNAEG) is created in order to record genetic profiles of persons involved in sexual crimes. The Perben law of 2004, allowing the extension of crimes leading to the establishment of DNA profiles, increases the number of genetic profiles registered in the FNAEG. Today more than 1 240 464 profiles are registered and 58 378 comparisons have been made. This article aims to illustrate the implication of chemistry in the determination of a revolutionary scientific proof one century after the fingerprints: the DNA profiling.

## Keywords

**DNA, DNA profile, PCR, capillary electrophoresis, color reaction, fluorophore, identification.**

En 1962, le prix Nobel de physiologie-médecine est décerné à Jim Watson et Francis Crick pour leurs travaux conduisant à la description de la structure de l'ADN [1], avancée majeure dans la compréhension des bases de la vie. C'est une trentaine d'années plus tard, en 1985, qu'Alec Jeffreys découvre que les séquences d'ADN et leur taille varient d'un individu à un autre : la notion d'empreinte génétique est née. La première application de l'identification génétique dans une enquête policière a lieu peu de temps après, en Angleterre en 1986. L'affaire concerne Richard Buckland, jeune apprenti cuisinier, qui s'est accusé du viol et du meurtre d'une jeune adolescente, Dawn Ashworth. Grâce aux analyses ADN, Richard Buckland a pu être disculpé et le véritable meurtrier, Colin Pitchfork, identifié.

À la même époque, Kary Mullis invente la technique la plus utilisée de nos jours pour établir les profils ADN : la PCR (« polymerase chain reaction ») [2], qui lui vaudra le prix Nobel de chimie huit ans plus tard.

L'établissement d'une empreinte génétique fait intervenir de nombreux mécanismes chimiques, non seulement au cœur même de la structure de l'ADN, mais également dans les processus de révélation de cet ADN. Ceci est mis en

exergue au niveau des recherches effectuées dans les laboratoires de police scientifique avec l'utilisation de divers réactifs facilitant la détection de matériels biologiques à partir desquels l'ADN est extrait. Dans cet article sont décrits dans les grandes lignes les réactions et réactifs chimiques utilisés communément dans les laboratoires de l'Institut National de Police Scientifique (INPS), pour identifier par la preuve génétique les auteurs de crimes et délits.

## L'ADN et l'empreinte génétique

Tout organisme vivant est constitué d'un assemblage de cellules, génétiquement identiques, dans lesquelles se trouve l'intégralité des informations relatives à son fonctionnement. Ces informations sont contenues dans un biopolymère : l'acide désoxyribonucléique (ADN). Cette macromolécule, qui supporte l'information génétique, est spécifique à chaque individu. Elle est composée d'une répétition de nucléotides ( $6 \times 10^9$  nucléotides), constitués d'un sucre (le désoxyribose), d'un groupement phosphate et d'une base azotée [1]. Le sucre et le groupement phosphate forment le squelette de la molécule d'ADN (figure 1). Les bases s'associent sur ce

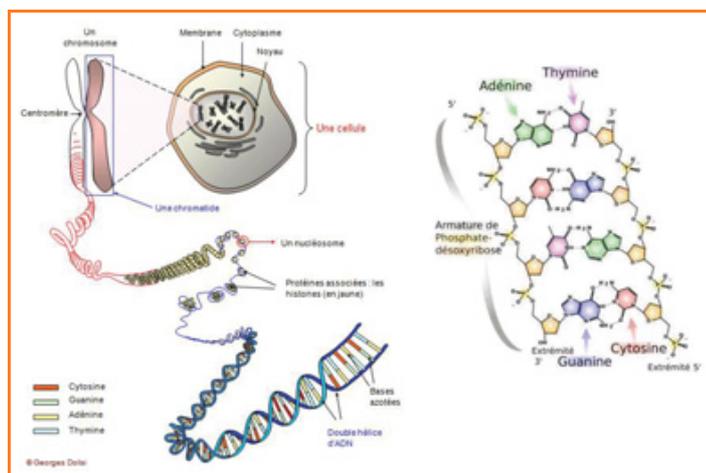


Figure 1 - Structure de l'ADN (source : © Georges Dolisi et Wikipédia).

L'ADN est compacté en chromosomes au sein des noyaux des cellules. Il est composé d'un squelette (sucre et phosphate) et de bases azotées. L'adénine (A) (6-amino-purine) et la guanine (G) (2-amino-6-oxy-purine) sont des bases puriques, c'est-à-dire composées d'un cycle pyrimidine fusionné à un cycle imidazole. La cytosine (C) (2-oxy-4-amino-pyrimidine) et la thymine (T) (2,4-dioxy-5-méthyl-pyrimidine) sont des bases pyrimidiques, c'est-à-dire composées d'un cycle aromatique comportant deux atomes d'azote. L'appariement des bases complémentaires entre elles se fait par l'établissement de liaisons hydrogène doubles (A-T) ou triples (C-G). Les brins d'ADN sont orientés dans le sens 5'-phosphate vers 3'-hydroxyle.

squelette, formant un enchaînement : le code génétique. Il existe deux types de base : les bases puriques (l'adénine = A et la guanine = G) et les bases pyrimidiques (la cytosine = C et la thymine = T).

L'ADN est formé de deux brins complémentaires anti-parallèles qui s'agencent en double hélice par hybridation moléculaire. Ceci est permis par l'établissement de liaisons hydrogène entre les bases azotées : une double liaison hydrogène permettant l'appariement entre l'adénine et la thymine et une triple liaison permettant celui entre la guanine et la cytosine (figure 1).

Dans le noyau des cellules, l'ADN est compacté sous forme de chromosomes. Ils sont au nombre de 46 dans les cellules nucléées chez l'homme (toutes les cellules de l'organisme sauf les hématies), à l'exception des cellules sexuelles qui n'en comptent que 23. En effet, l'information génétique est transmise de génération en génération, ce qui fait que nous héritons tous d'une copie de l'ADN de notre mère et d'une copie de l'ADN de notre père (23 + 23 = 46). Il y a 22 paires de chromosomes dits « autosomaux » et une paire de chromosomes dits « sexuels » (XX pour la femme, XY pour l'homme).

Seule une petite partie de notre ADN (environ 5 %) constitue un code qui permet la synthèse des protéines, éléments de base constitutifs des cellules, des tissus, des organes et donc de l'être vivant : ce sont les gènes ou l'ADN codant. Le reste de l'ADN est composé de séquences nucléotidiques qui ne portent *a priori* aucune information génétique : les séquences non codantes. C'est cet ADN non codant qui présente un intérêt particulier en criminalistique car il est le siège d'un polymorphisme\* considérable. En effet, il renferme des zones qui peuvent servir de marqueurs génétiques\*. Ce sont de courtes séquences nucléotidiques (de deux à six paires de bases) dont le nombre de répétitions est extrêmement variable d'un individu à l'autre. Ces marqueurs génétiques sont appelés microsatellites ou STR (« short tandem repeats ») et se situent à différents endroits (ou loci\*) sur le génome. Pour un marqueur génétique donné, plusieurs individus pourront avoir le même nombre de

## Glossaire

Les termes suivis d'un astérisque\* dans le texte sont définis ci-dessous.

**Allèle** : une des différentes formes que peut prendre un même gène.

**Cytoplasme** : substance constituant la cellule vivante à l'exception du noyau et délimitée par la membrane plasmique.

**Locus** (pl. loci) : emplacement précis d'un gène sur un chromosome.

**Marqueur génétique** : séquence d'ADN particulière facilement détectable.

**Mitochondrie** : organe de l'ordre du micromètre qui fournit l'énergie nécessaire au fonctionnement de la cellule.

**Organite** : structure spécialisée contenue dans le cytoplasme des cellules eucaryotes et délimitée par une membrane.

**Polymorphisme** : qui présente des variations entre individus ; dans le cas de l'ADN non codant, c'est une variation de l'enchaînement nucléotidique.

**Quencher** : entité moléculaire ou espèce chimique qui désactive un état excité d'une autre entité moléculaire par transfert d'énergie, transfert d'électron ou par mécanisme chimique.

**Région hypervariable** : région de l'ADN présentant une variabilité entre les individus.

répétitions (c'est-à-dire les mêmes allèles\*). Par conséquent, plus on étudie de marqueurs et plus on restreint la probabilité de rencontrer deux individus pris au hasard dans une population avec le même profil génétique. Excepté le cas des vrais jumeaux, le génome de chaque individu est unique.

La plupart des STR utilisés pour réaliser des empreintes génétiques sont situés sur les chromosomes autosomaux, notamment tous ceux utilisés pour les banques de données nationales. Mais il existe également des STR situés sur les chromosomes sexuels, notamment sur le chromosome Y, transmis à l'identique dans une même lignée paternelle. Ce type de données est utile dans les tests de paternité, dans les cas d'agressions sexuelles (analyse de mélanges entre ADN masculin et féminin), ainsi que pour analyser des mélanges impliquant plusieurs contributeurs masculins.

Au sein des cellules existe un autre type d'ADN : l'ADN mitochondrial (ADNmt). Ce dernier est contenu dans les mitochondries\*, organites\* qui génèrent l'énergie nécessaire au fonctionnement des cellules. L'ADNmt est présent en plusieurs exemplaires dans le cytoplasme\* des cellules, contrairement à l'ADN nucléaire, ce qui le rend très intéressant dans l'analyse d'échantillons anciens ou dégradés ou dans l'analyse de cheveux (dépourvus de cellules nucléées). Les mitochondries ne sont transmises que par l'ovule lors de la fécondation, le séquençage de l'ADNmt ne renseigne donc que sur la lignée maternelle. Les deux régions classiquement analysées sont les régions hypervariables\* HV1 et HV2 présentes dans une région contrôle non codante (D-loop). Cette dernière présente un degré de variation entre individus de différentes lignées maternelles et est donc utile dans le domaine de l'identification génétique.

## La PCR, technique d'amplification de l'ADN

Dans le domaine des sciences judiciaires, en dehors de prélèvements de salive sur cartes FTA® (« fast technology for analysis ») pour l'identification et le fichage d'individus, les profils ADN sont souvent établis à partir de traces

biologiques pauvres en ADN. Pour pouvoir établir un profil génétique, il faut donc augmenter la quantité de matériel. Pour cela, on amplifie l'ADN à l'aide d'une technique appelée PCR (« polymérase chain reaction ») [2], qui consiste à faire une succession de copies de l'ADN de départ à l'aide d'amorces. À chaque cycle, la quantité d'ADN est doublée et les nouvelles copies servent de matrice pour le cycle suivant. Ainsi la quantité d'ADN augmente de façon exponentielle. Deux types de méthode d'amplification sont classiquement utilisées : la PCR traditionnelle (amplification exponentielle non quantifiée) et la PCR quantitative.

Le principe de la PCR repose sur des répétitions de cycles de transition de température. Pour amplifier l'ADN, il faut mettre en présence dans le même milieu réactionnel l'ADN cible, des amorces, de l'ADN polymérase (Taq polymérase), des nucléotides, des ions  $Mg^{2+}$ , et assurer un pH optimal. Chaque cycle de PCR se déroule en plusieurs étapes :

- La première consiste à augmenter la température (95 °C) pour séparer les doubles brins d'ADN en cassant les liaisons hydrogène : c'est la *dénaturation*.

- La deuxième consiste à fixer les amorces sur les brins d'ADN : c'est l'*hybridation*. Pour ce faire, le mélange réactionnel est amené à une température permettant la reformation de liaisons hydrogène entre les bases complémentaires. Cette température dépend de la longueur et de la composition des amorces, mais est inférieure à la température de dénaturation.

- La troisième consiste à incorporer les nucléotides : c'est l'étape d'*élongation*. L'ADN polymérase catalyse la synthèse des brins d'ADN de manière complémentaire et anti-parallèle dans le sens 5'-phosphate → 3'-hydroxyle, en respectant les règles d'appariement (adénine-thymine ; cytosine-guanine). Cette réaction se déroule à 72 °C.

Dans les laboratoires de sciences judiciaires, pour établir les profils génétiques des individus on utilise la PCR « multiplexe » (figure 2). Son principe est le même que celui de la PCR classique décrite ci-dessus, excepté qu'elle permet d'amplifier en même temps plusieurs régions d'ADN, ou loci\* différents. Le nombre et le type de loci amplifiés par PCR « multiplexe » dans le cadre de l'identification humaine

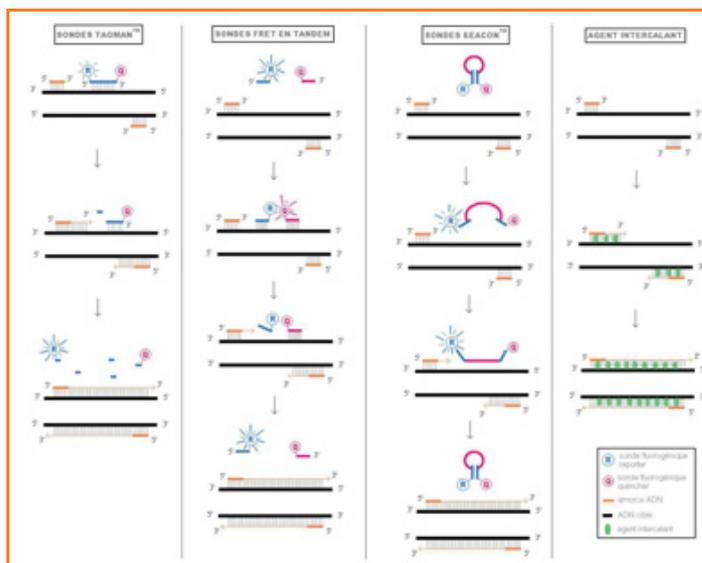


Figure 3 - Principe de fonctionnement des différents types de sonde pour la PCR quantitative.

Plusieurs techniques sont possibles pour suivre la quantité d'ADN à chaque fin de cycle d'amplification. L'agent intercalant a pour désavantage de se fixer de façon non spécifique à l'ADN double brin. Il génère donc un signal de fluorescence non spécifique. Les sondes fluorogéniques sont spécifiques de séquences ADN, limitant ainsi le signal de fluorescence non spécifique.

varient selon les pays. La législation française encadre l'identification génétique : l'article A38 du code de procédure pénale liste les 16 loci à analyser (15 sur les chromosomes autosomaux et 1 sur les chromosomes sexuels). La combinaison du nombre de répétitions pour chacun de ces 16 loci constitue le profil génétique d'un individu.

Un autre type de PCR est utilisée : la PCR quantitative. Elle permet de mesurer la quantité d'ADN, en temps réel, grâce à l'utilisation soit d'un agent intercalant qui se lie sur l'ADN double brin (technologie SYBR™ Green I), soit de sondes fluorogéniques qui s'hybrident de manière spécifique sur le fragment cible amplifié (sondes d'hydrolyse ou Taqman™, sondes FRET en tandem ou LightCycler™, sondes d'hybridation phare ou Beacon™) [3]. L'agent intercalant se place entre les bases nucléotidiques de l'ADN double brin (figure 3) et, une fois excité sous rayonnement ultraviolet, il émet un signal de fluorescence. Les sondes fluorogéniques sont des fragments oligonucléotidiques complémentaires d'une séquence ADN cible, marqués d'un côté par un fluorophore donneur dérivé de la fluorescéine (FAM, TET, VIC™), et de l'autre par un « quencher\* » qui est soit fluorescent (dérivé de la rhodamine = TAMRA, ou rouges LightCycler™), soit non fluorescent [3] (figure 4). Lorsque le « quencher » est à proximité du donneur, il absorbe l'énergie émise par le fluorophore donneur et empêche ainsi l'émission de sa fluorescence. Selon le type de sonde, le fonctionnement varie (« quenchage » de fluorescence,

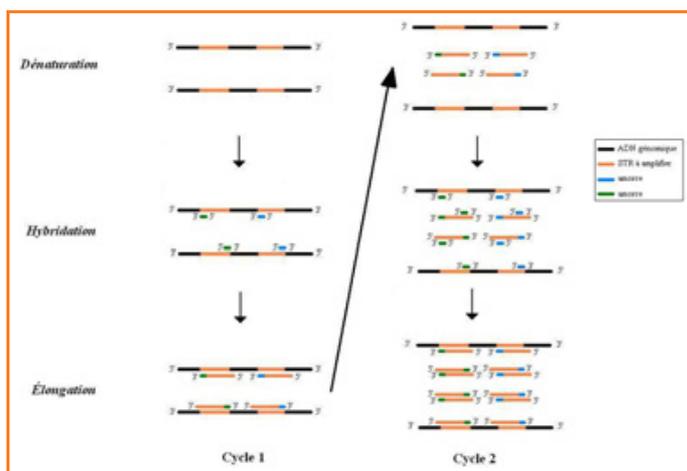


Figure 2 - Principe de la PCR multiplexe.

La PCR (« polymérase chain reaction ») multiplexe permet d'obtenir d'importantes quantités de différents fragments d'ADN ou STR. Plusieurs cycles de multiplication ont lieu. Chaque cycle est constitué de trois phases différentes : la dénaturation pendant laquelle les brins d'ADN complémentaires se séparent, l'hybridation pendant laquelle les amorces vont se fixer sur les brins d'ADN, et l'élongation (extension des amorces) pendant laquelle la copie des STR s'effectue.

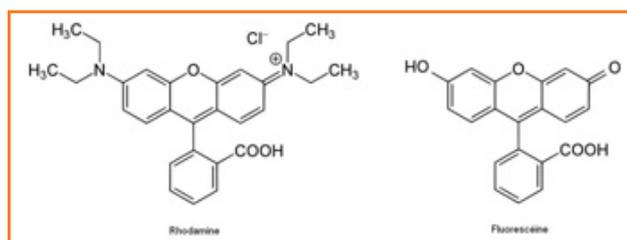


Figure 4 - Structure de la rhodamine et de la fluorescéine.

transfert d'énergie FRET engendrant la fluorescence du « quencher ») (figure 3).

Les différentes amorces utilisées pour la PCR multiplexe sont couplées à des sondes fluorescentes (des fluorophores). Les fluorophores sont attachés en position 5' de l'amorce par l'intermédiaire de liens N-hydroxysuccinimide-esters et amine (figure 5). Les amorces couplées aux fluorophores sont incorporées au cours de l'amplification lors de la PCR multiplexe, donnant une couleur spécifique à chaque produit de PCR [4].

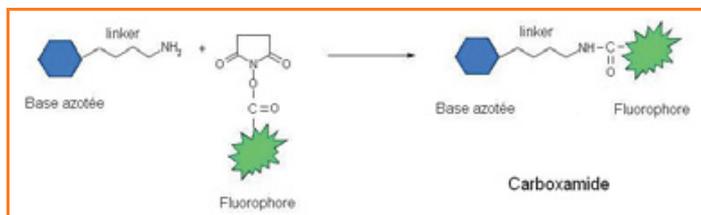


Figure 5 - Principe de préparation des nucléotides marqués par un fluorophore (d'après [4]).

Le fluorophore est lié à une amorce par un groupement N-hydroxysuccinimide (NHS). Ce dernier réagit avec la fonction amine des bases azotées de l'ADN pour former un groupement carboxamide.

Les fluorophores que l'on retrouve dans les kits commerciaux utilisés pour l'amplification génétique, sont souvent dérivés de la fluorescéine ou de la rhodamine (figure 6). On trouve par exemple :

- 6-FAM™ (6-carboxyfluorescéine) qui émet dans le bleu (~ 515 nm),
- VIC® (2'-chloro-7'-phényl-1,4-dichloro-6-carboxyfluorescéine) ou JOE (6-carboxy-4',5'-dichloro-2',7'-diméthoxyfluorescéine) qui émettent dans le vert (~ 555 nm),
- TMR (carboxy-tétraméthylrhodamine) qui émet dans le rouge (~ 575 nm).

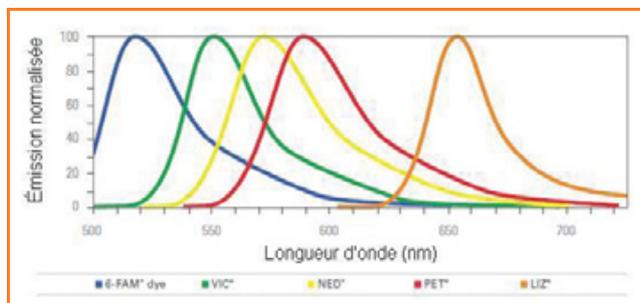


Figure 6 - Spectres d'émission de fluorescence des fluorophores du kit AmpFISTR® Identifiler® (Applied Biosystems) : 6-FAM™ (515 nm), VIC® (555 nm), NED™ (575 nm), PET® (590 nm), LIZ® (650 nm).

## L'électrophorèse capillaire

Lors de l'amplification, les copies des STR, ou amplicons, sont marquées par les fluorophores décrits ci-dessus. Il faut ensuite déterminer la taille des fragments d'ADN amplifiés pour établir un profil génétique. Pour cela, on sépare les amplicons par électrophorèse capillaire. Cela consiste à faire migrer l'ADN sous l'effet d'un courant électrique dans de fins capillaires. Ces derniers sont remplis d'un polymère et sont immergés dans une solution tampon à leurs deux extrémités. Les électrodes du système de haute tension sont également plongées dans ce tampon. L'application d'un courant électrique provoque l'injection

électrocinétique des amplicons [5]. Ces derniers, chargés négativement, vont migrer vers la cathode de platine fixée à l'extrémité des capillaires. Les plus petits fragments migreront plus vite que ceux de grande taille. Une cellule de détection est placée juste avant l'extrémité des capillaires. Un laser y excite les fluorophores couplés à l'ADN qui émettent en retour un signal proportionnel à la quantité d'ADN (figure 7). Des logiciels spécifiques permettent ensuite d'analyser les données brutes extraites des électrophorèses et de déterminer les tailles en paires de bases des fragments d'ADN étudiés. Par comparaison avec un marqueur de tailles connues, l'attribution des allèles est réalisée et le profil génétique est établi.

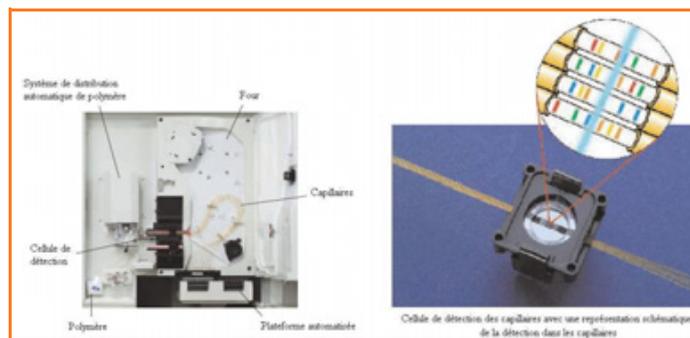


Figure 7 - Composition de l'électrophorèse capillaire ABI 3130xl commercialisée par Applied Biosystems et schéma du principe de détection des amplicons [5].

## Mise en évidence du matériel biologique

La recherche de traces contenant de l'ADN ou de traces biologiques suspectes nécessite un travail minutieux qui passe par l'utilisation de tests indicatifs permettant de révéler la présence de certains matériels biologiques (sang, sperme, salive, urine ou fèces) de manière spécifique. Ce sont souvent des réactions colorées qui indiquent quel type de matériel biologique est présent et qui permettent de localiser des taches ou traces afin de les prélever. Ces tests biochimiques ne sont néanmoins que des réactions d'orientation qui peuvent présenter des faux positifs et/ou des faux négatifs.

### Mise en évidence biochimique du sang

Le sang est composé en partie d'un liquide (le plasma) et de cellules (les globules rouges ou érythrocytes, les globules blancs ou leucocytes et les plaquettes). Les globules rouges contiennent une protéine appelée hémoglobine qui est responsable de la coloration rouge du sang ainsi que du transport de l'oxygène. Cette propriété chimique lui confère une activité enzymatique de type peroxydase permettant de catalyser des réactions d'oxydation. Pour détecter des taches de sang sur un élément de question, il convient d'effectuer au moins deux tests d'orientation colorés basés sur les propriétés chimiques de l'hémoglobine. Par exemple le test de Kastle-Meyer [6-7], également appelé test de la phénolphtaléine, repose sur l'oxydation de la phénolphtaléine catalysée par le fer contenu dans les noyaux hèmes de l'hémoglobine. La phénolphtaléine est un produit clair et incolore, mais en présence de sang et d'eau oxygénée, elle prend une teinte rose (figure 8a, [8]).

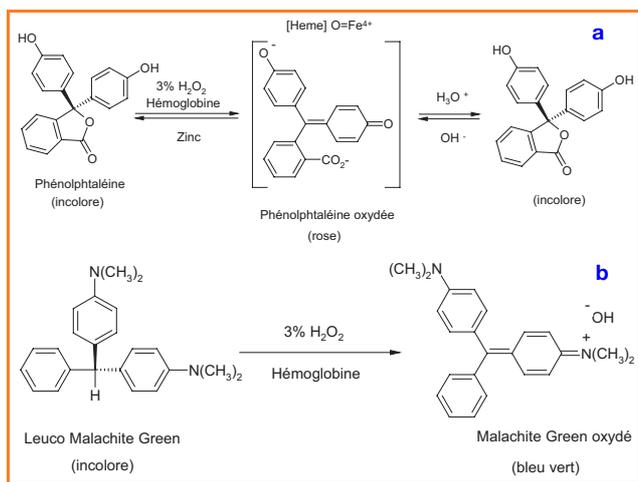


Figure 8 - Réaction d'oxydation de la phénolphtaléine (a) et du leucomalachite vert (b) par le sang [8].

On peut également utiliser le leucomalachite vert qui est également un produit clair, et prend une teinte bleu-vert une fois oxydé (figure 8b, [8]).

Une étude récente a montré des problèmes d'incompatibilité entre l'utilisation de produits de révélation des traces de sang et la révélation d'un profil ADN. En effet, selon le protocole utilisé et le type de support, le leucomalachite vert détruirait l'ADN, et la phénolphtaléine diminuerait la quantité d'ADN de haut poids moléculaire que l'on peut extraire [9]. Toutefois, les protocoles de test utilisés dans les laboratoires de l'INPS, impliquant ces deux réactifs, permettent d'éviter une application directe sur la trace de question. Les taches de sang révélées, selon un protocole non dénaturant, peuvent subir une exploitation ultérieure pour une extraction ADN.

D'autres types de produits sont habituellement utilisés comme le Bluestar® ou le luminol (3-aminophthalhydrazide). Ces produits ont la propriété, en présence d'un oxydant, de produire une réaction de chimiluminescence (luminescence spontanée) une fois en contact avec du sang. C'est encore une fois l'activité peroxydase de l'hémoglobine qui catalyse cette réaction (figure 9).

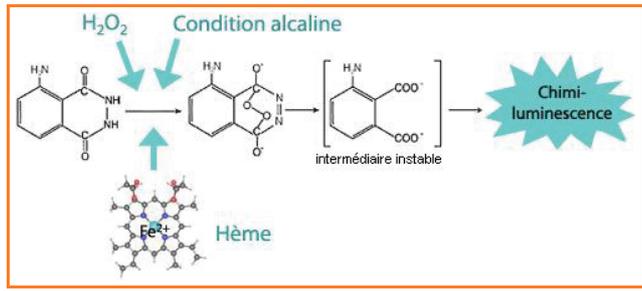


Figure 9 - Réaction du luminol avec le peroxyde d'hydrogène en présence de sang (chimiluminescence) (www.bluestar-forensic.com).

**Mise en évidence biochimique du sperme**

Pour détecter la présence de sperme, il convient de procéder en deux étapes comme pour le sang : dans un premier temps, un test d'orientation est effectué, suivi d'un test de confirmation dans un second temps. On utilise principalement deux tests d'orientation : le test de la phosphatase acide (réactif Fast Blue B Salt) et le test de la PSA (« prostate specific antigen »).

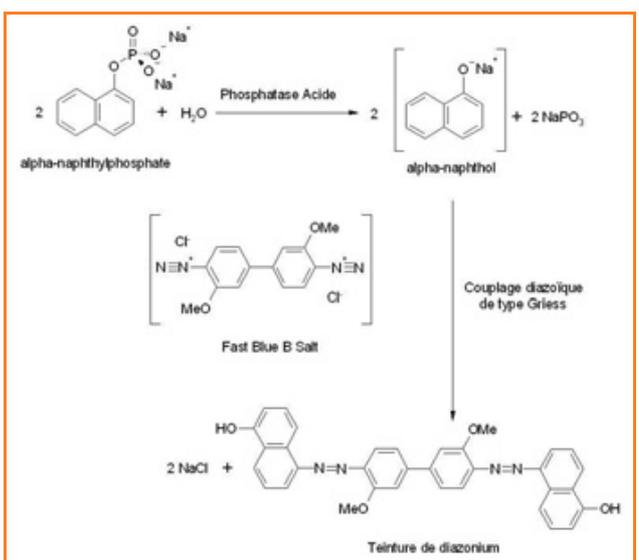


Figure 10 - Schéma réactionnel de diazotation (mécanisme proposé).

La phosphatase acide (PA) est une enzyme présente en concentration élevée dans le sperme. Elle catalyse les réactions de décomposition des composés du phosphate [10]. En présence d'alpha-naphthylphosphate, la PA va libérer l'alpha-naphthol et le phosphate. L'alpha-naphthol va réagir avec le sel de diazodinium (Fast Blue B Salt) pour former un colorant azoïque de couleur violette (figure 10). La PA peut également réagir avec le 4-méthylumbelliferylphosphate (MUP) pour donner une luminescence bleutée sous excitation UV [10-11]. Cette méthode peut générer des faux positifs, notamment avec certains jus de légumes ou de fruits [11-12].

Seule une recherche de spermatozoïdes peut confirmer la présence de sperme. Une fois encore des tests colorés sont utilisés dont celui de la coloration « christmas tree » (« nuclear fast red » et « picroindigocarmin »). Grâce à cette technique, le noyau des spermatozoïdes est marqué en rouge (nuclear fast red) et les queues en vert (picroindigocarmin), ce qui permet de bien les distinguer sous microscope [10, 13].

Malgré la présence de sperme, il se peut qu'aucun spermatozoïde ne soit détecté. C'est le cas de spermatozoïdes azoospermiques (absence totale de spermatozoïdes dans le sperme) et oligospermiques (faible quantité de spermatozoïdes dans le sperme). Pour confirmer malgré tout la présence de ce fluide, on recherche la présence de la PSA, qui est une glycoprotéine dimère fabriquée par la glande prostatique et sécrétée dans le plasma séminal. Elle est présente en concentration importante dans le sperme, mais elle est également retrouvée en faible concentration dans d'autres fluides corporels humains tels que l'urine et le sang chez la femme ainsi que dans le liquide amniotique et le lait maternel [10, 14-15]. Sa présence est détectée grâce à un test immunochromatographique [10], qui consiste à révéler la présence de PSA à l'aide d'anticorps couplés à une molécule colorée [11, 16] (figure 11).

**Mise en évidence biochimique de la salive**

Dans la salive se trouve une protéine, l'amylase, qui catalyse l'hydrolyse de l'amidon en maltose. Les tests colorés servant pour la détection de salive utilisent cette propriété enzymatique de l'amylase. Le Phadebas (produit de couleur bleue) permet de déterminer quantitativement la présence

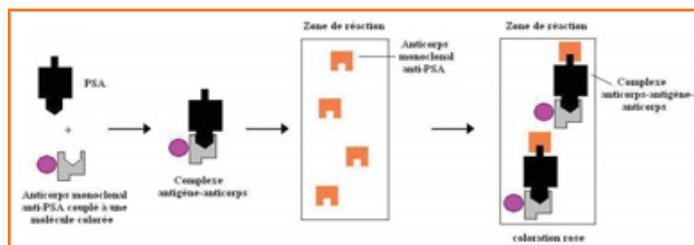


Figure 11 - Principe du test de la PSA commercialisé par Vedalab.

Le test PSA est un test de détection rapide sur membrane. Des anticorps monoclonaux dirigés contre la PSA et couplés à une molécule colorée rose vont reconnaître la protéine et former un complexe antigène-anticorps libre. Ce complexe va migrer et se fixer sur d'autres anticorps monoclonaux dirigés contre la PSA, ancrés dans une zone appelée zone de réaction. La concentration de ces complexes anticorps-antigène-anticorps dans cette zone conduit à la formation d'une bande rose. En l'absence de PSA, aucune réaction colorée n'apparaît dans la zone de réaction.

d'alpha-amylase dans les fluides. Cette méthode utilise comme substrat un polymère d'amidon réticulé insoluble dans l'eau, avec un colorant bleu. Le substrat est hydrolysé par l'alpha-amylase et crée des fragments bleus, solubles dans l'eau. La coloration bleue qui en découle est plus diffuse et plus intense en présence d'amidon que celle du produit d'origine.

Un autre réactif peut être utilisé pour la détection de la salive : le lugol. Il est composé d'iode et de iodure de potassium, de couleur jaune-orangé qui devient bleu-noir en présence d'amidon. En présence de salive et donc d'alpha-amylase, aucune réaction colorée n'est observée.

### Mise en évidence de l'urine et des fèces

Les urines et les fèces sont rarement analysées car il est difficile d'y trouver une quantité de cellules suffisante pour permettre l'établissement d'un profil ADN.

La détection d'urine repose sur l'identification de deux éléments organiques présents en concentrations importantes : l'urée et la créatinine. Ces deux éléments se retrouvent dans d'autres fluides corporels (transpiration, sang, salive, sperme) mais à des concentrations bien plus faibles [17]. Deux tests colorés sont principalement utilisés afin de les mettre en évidence. Pour détecter l'urée, on utilise le DMAC (para-diméthylaminocinnamaldéhyde) qui prend une coloration magenta en présence d'urée (figure 12a, [18]). La détection est basée sur la condensation de la fonction aldéhydique du DMAC sur l'urée, pour former une base de Schiff entièrement conjuguée.

Pour détecter la créatinine, on utilise l'acide picrique qui réagit en solution alcaline avec cette dernière afin de former un produit de couleur rouge, la créatinine picrate (test de Jaffé ; figure 12b, [18]).

Pour l'analyse des fèces, la méthode la plus classiquement utilisée est la détection de l'urobilinogène et de l'urobiline. Ces deux substances sont des produits du métabolisme de la bilirubine (pigment jaune) dans les intestins. Elles ne sont produites que chez les animaux carnivores et omnivores. En présence d'une solution alcoolique d'acétate de zinc, l'urobilinogène est oxydé en urobiline qui forme un complexe avec le zinc soluble dans l'alcool. Ce complexe fluoresce en vert sous lumière UV [17, 19-20].

### Les investigations parallèles

Une grande majorité des pièces de questions sont examinées pour la recherche des traces papillaires avant la recherche d'un profil génétique.

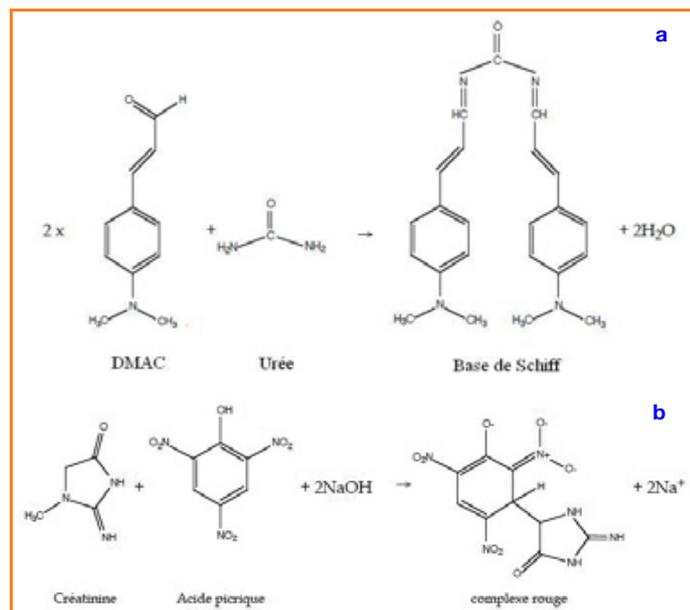


Figure 12 - Réaction entre le DMAC et l'urée (a) et entre la créatinine et l'acide picrique (b) [18].

L'impact de plusieurs techniques d'analyses permettant la révélation de ces traces, sur l'établissement d'un profil génétique a donné lieu à de nombreuses études. De manière générale, les techniques de révélation telles que les ultraviolets, le cyanoacrylate ou la ninhydrine n'empêchent pas l'analyse ADN ultérieure [21]. Toutefois, lorsqu'il y a une faible quantité de matériel biologique, certaines études indiquent que des précautions doivent être prises [22].

### Conclusion

La découverte de la structure de l'ADN, la mise au point de la technique de PCR (« polymerase chain reaction »), la mise en œuvre d'une technique séparative telle que l'électrophorèse capillaire, l'interaction de la lumière avec des molécules « réactives » ont permis de développer l'utilisation de l'empreinte génétique à des fins judiciaires. Véritable révolution dans l'enquête de police, le fil conducteur de cette avancée reste une interface intense et fructueuse entre deux disciplines : la biologie et la chimie.

Classiquement, à partir des éléments de question prélevés sur les scènes de crime, de nombreuses informations peuvent être extraites afin d'aider les enquêteurs à résoudre les affaires. Ceci signifie que les échantillons sont parfois analysés par différentes spécialités comme cela se pratique en routine au sein des laboratoires de police scientifique de l'INPS. Par exemple, un pain de cocaïne sera non seulement analysé par la section stupéfiants, mais également par les sections traces et biologie pour la recherche d'empreintes digitales et l'établissement de profils ADN, ou encore la section physico-chimie pour l'étude des emballages. C'est au niveau du séquençage des analyses et des interférences possibles qu'elles peuvent générer que la réflexion se porte actuellement.

Ainsi, les révélateurs chimiques potentiellement utilisés en amont d'une exploitation d'indice dans l'optique de l'établissement d'un profil génétique ont été étudiés. À ce jour, aucune interaction négative majeure n'a été décelée.

L’empreinte génétique s’est rapidement imposée comme la preuve scientifique de référence dans le domaine de la criminalistique, plaçant la discipline biologie au cœur de l’enquête de police scientifique. À côté de l’exploitation de nouveaux indices, tels les traces numériques, l’interpénétration des disciplines traditionnelles constitue un nouveau défi.

## Références

- [1] Watson J.D., Crick F.H.C., Molecular structure of nucleic acids, *Nature*, **1953**, 171, p. 737.
- [2] Saiki R.K., Scharf S., Faloona F., Mullis K.B., Horn G.T., Erlich H.A., Arnheim N., Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia, *Science*, **1985**, 230(4732), p. 1350.
- [3] Tsé C., Capeau J., Quantification des acides nucléiques par PCR quantitative en temps réel, *Ann. Biol. Clin.*, **2003**, 61, p. 279.
- [4] Butler J.M., NYC OCME Forensic biology continuing education Seminar, **2009**.
- [5] <http://products.appliedbiosystems.com>, consulté le 17 septembre **2009**.
- [6] Kastle J.H., Shedd O.M., Phenolphthalein as reagent for ferments, *Am. Chem. Jour.*, **1901**, 26, p. 526.
- [7] Meyer E., Beiträge zur Leukocytenfrage, *Münchener Medizinische Wochenschrift*, **1903**, 35, p. 1489.
- [8] Saferstein R., *Forensic Science Handbook*, vol. I, Prentice Hall, **1988**.
- [9] Tobe S.S., Watson N., Daéid N.N., Evaluation of six presumptive tests for blood, their specificity, sensitivity, and effect on high molecular-weight DNA, *J. Forensic Sci.*, **2007**, 52(1), p. 102.
- [10] Coquoz R., Taroni F., *Preuve par l’ADN*, 2<sup>e</sup> éd., Presses polytechniques et universitaires romandes, **2006**.
- [11] Saferstein R., *Criminalistics: An Introduction to Forensic Science*, Prentice Hall, International Edition, **2004**.
- [12] Virkler K., Lednev I.K., Analysis of body fluids for forensic purposes: from laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene, *Forensic Sci. Int.*, **2009**, 188(1-3), p. 1.
- [13] Butler J.M., *Forensic DNA Typing*, 2<sup>nd</sup> ed., Elsevier Academic Press, **2005**.
- [14] Yu H., Diamandis E.P., Prostate-specific antigen immunoreactivity in amniotic fluid, *Clinical Chemistry*, **1995**, 41, p. 54.
- [15] Yu H., Diamandis E.P., Prostate-specific antigen in milk of lactating women, *Clinical Chemistry*, **1995**, 41, p. 204.
- [16] Hochmeister M.N., Budowle B., Rudin O., Gehrig C., Borer U., Thali M., Dirnhofer R., Evaluation of prostate-specific antigen (PSA) membrane test assays for the forensic identification of seminal fluid, *J. Forensic Sci.*, **1999**, 44(5), p. 1057.
- [17] Stuart H.J., Nordby J.J., *Forensic Science: An Introduction to Scientific and Investigative Techniques*, 2<sup>nd</sup> ed., CRC Press, **2005**.
- [18] Stauffer E., Trouver des possibilités de test pour la détection d’urine lors de cas d’agression sexuelle, *Travail de séminaire de 2<sup>e</sup> année à l’Institut de Police Scientifique et de Criminologie de Lausanne*, **1996**.
- [19] Elman R., McMaster P., Studies on urobilin physiology and pathology, I- The quantitative determination of urobilin, *JEM*, **1925**, p. 503.
- [20] Naumann H.N., Studies on bile pigments: a study of Ehrlich’s test for urobilinogen and Schlesinger’s reaction for urobilin, *Biochem J.*, **1936**, 30(3), p. 347.
- [21] Raymond J.F., Roux C., Du Pasquier E., Sutton J., Lennard C., The effect of common fingerprint detection techniques on the DNA typing of fingerprints deposited on different surfaces, *J. Forensic Identification*, **2004**, 54, p. 22.
- [22] Grubwieser P., Thaler A., Köchl S., Teissl R., Rabl W., Parson W., Systematic study on STR profiling on blood and saliva traces after visualization of fingerprint marks, *J. Forensic Sci.*, **2003**, 48(4), p. 733.



### Emmanuelle Briant

est coordinatrice physique-chimie à l’INPS\*.

\* Institut National de Police Scientifique, Service Central des Laboratoires, BP 30169, F-69134 Écully Cedex.  
Courriel : emmanuelle.briant@interieur.gouv.fr



Révélation de traces biologiques dans un laboratoire de l’INPS. © SICoP/SerCom.