

NOTE D'APPLICATION

MOTS CLÉS

- Virus
- Fluorophores
- Test rapide
- Dépistage
- COVID-19

TECHNIQUES

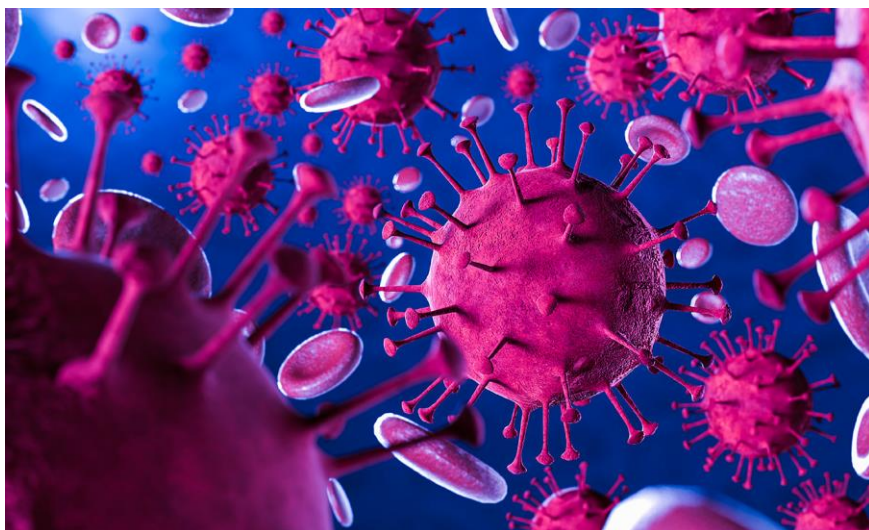
- Fluorescence
- Raman / SERS
- PCR

APPLICATIONS

- Détection trace de virus
- Détection d'anticorps

Détection rapide de la COVID-19 par la spectroscopie

Dans cette note, nous explorons le potentiel de rapidité de la spectroscopie pour améliorer les tests rapides et le dépistage de la COVID-19. En effet, il existe des alternatives à la PCR. Découvrez la force des outils de détection spectroscopique et des techniques optiques.



Par Derek Guenther, Senior Application Scientist, Ocean Insight

La COVID-19 nous a tous placés dans un combat commun, contre un nouveau virus qui attaque la population mondiale, en particulier nos citoyens les plus vulnérables.

Mais nous avons plusieurs moyens de riposter, notamment :

- **Distanciation.** En minimisant les interactions de personne à personne, on minimise également les transmissions possibles.
- **Vaccins.** Avec un vaccin efficace, quelqu'un vacciné qui a été exposé au virus, réduira considérablement les risques d'être infecté.
- **Traitements.** Si quelqu'un est exposé au virus et qu'il est contaminé, un traitement efficace aidera à minimiser le taux de mortalité et la gravité des symptômes.
- **Détection et traçage.** Ils restent nos yeux dans la bataille contre cet ennemi invisible, et ce sont ces outils optiques que nous allons examiner ici.

LE POTENTIEL DE RAPIDITE DE LA SPECTROSCOPIE POUR DETECTER LES VIRUS

La détection et le traçage sont essentiels pour comprendre le virus et sa propagation. Ceci nous permet : de considérer quelles activités et scénarios comportent le plus grand risque, de déterminer qui est le plus vulnérable et de calibrer nos politiques pour limiter la transmission.

Tandis que les méthodes de détection lentes peuvent servir dans une mesure raisonnable, les techniques de détection plus rapide et plus sensible nous rapprochent un peu plus d'un retour à la vie normale. Un système de test rapide déployé à l'entrée d'un stade, d'une école, d'un aéroport ou d'une infirmerie pourrait empêcher un scénario de super contamination.

DETECTER LES VIRUS PAR SPECTROSCOPIE DE FLOUORESCENCE

La méthode de référence actuelle pour détecter le COVID-19 dans un organisme est la *PCR* (ou Réaction en Chaîne par Polymérase). Cette approche utilise la polymérase, une enzyme pour répliquer ou amplifier une région spécifique du matériel génétique, si elle est présente. Les modèles peuvent être conçus de manière à cibler spécifiquement des parties du code génétique de la COVID-19. Si ces segments de code sont présents, ils seront amplifiés. Cette amplification nécessite 30 à 40 cycles thermiques, ce qui est généralement l'étape la plus longue de la *PCR*.

Une fois les cycles thermiques terminés, plusieurs méthodes permettent d'observer si le matériel génétique ciblé est bien présent. C'est là que la nouvelle méthode à reconnaissance spectrale apparaît comme une méthode de détection puissante de la COVID-19. Les fluorophores courants, tels que la fluorescéine et ses dérivés, peuvent être recombinaisonnés pour devenir fluorescent uniquement lorsqu'ils sont liés à la cible du segment génétique de la COVID-19. Cette méthode rapide permet de réduire le temps de test. Cependant, elle ne sera optimale qu'avec l'utilisation d'un outil suffisamment sensible pour détecter cette fluorescence.

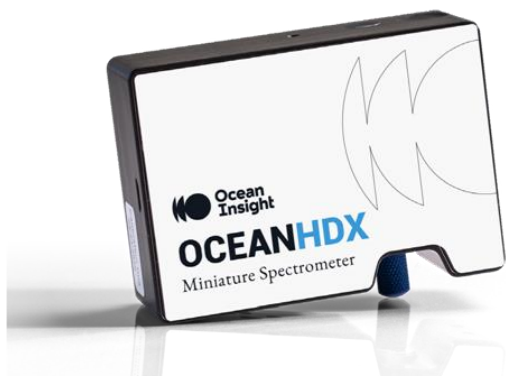


Figure 1 : Ocean HDX est un spectromètre compact à haute sensibilité, adapté aux mesures de fluorescence

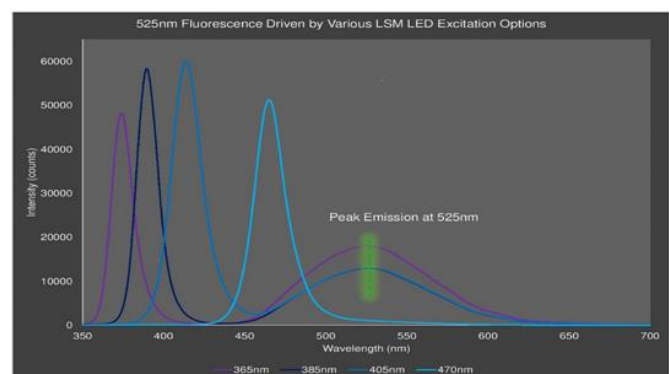


Figure 2 : En ajustant l'excitation de la longueur d'onde LED, des réponses de fluorescence différentes peuvent être mesurées.

L'approche la plus courante pour ce type de détection de trace de fluorescence est l'utilisation d'un spectro-photo-fluorimètre à large bande spectrale. Celui qui répond à nos besoins est le spectromètre miniature *Ocean HDX* (**Figure 1**). Nous l'avons associé à une source *LEDs LSM* à longueurs d'ondes ciblées. Ce spectro-photo-fluorimètre repousse les limites de la détection de faible luminosité et son petit format le rend très peu encombrant. Il permet des bas niveaux de détections, qui étaient, jusqu'à présent, uniquement atteignables avec des instruments plus imposants et coûteux. La source *LEDs LSM* produit une excitation puissante et stable pour l'obtention de signaux d'émission clairs et cohérents (**figure 2**).

L'approche traditionnelle de la spectroscopie large bande apporte de nombreux avantages, notamment, la capacité d'observer plusieurs espèces fluorescentes en même temps avec un seul appareil. De plus, elle permet de développer des méthodes d'analyses complexes pour déconvoluer les signaux souhaités.



Figure 3 : Bien que conçu pour la détection de la fluorescence sensible à l'oxygène, le fluorimètre de phase NeoFox peut mesurer les propriétés de désintégration rapide de colorants fluorescents utilisés dans le diagnostic médical.

Cependant, il existe une autre approche pour observer ce signal de fluorescence : en utilisant un système qui exploite les propriétés de désintégration rapide de la fluorescence des colorants fluorescents d'une manière résolue dans le temps.

Le système de fluorimétrie de phase NeoFox, peut être utilisé comme plateforme de capteur optique d'oxygène (**figure 3**). Pour compléter cette plateforme, le réactif chimique à l'oxygène pourra être placé sur une sonde ou un patch.

Le NeoFox est populaire car c'est une plateforme de détection personnalisable. Il peut s'intégrer dans d'autres appareils. Sa LED, ses filtres et ses paramètres internes peuvent être modifiés. Par exemple, en déclenchant la LED en mode stroboscopique sous forme d'onde carrée à des vitesses du kHz, le détecteur ultrasensible à photodiode d'avalanche NeoFox voit le signal de fluorescence croître pendant le temps de marche de la LED mais aussi décroître pendant le temps d'arrêt de la LED. Ce temps de décroissance est observé sur une échelle de la nanoseconde et peut être étroitement corrélée à la concentration du fluorophore dans l'échantillon testé, comme c'est le cas pour un petit échantillon PCR. Les avantages de cette approche sont l'obtention d'un matériel très compact et simple à l'emploi. En effet, le boîtier NeoFox contient tous les composants optiques et électroniques de traitement. De plus, sa réponse n'est pas parasitée par la couleur de l'échantillon ou la lumière ambiante.

DETECTER LES VIRUS PAR SPECTROSCOPIE RAMAN

La PCR a fait des merveilles pour faire avancer le monde de la génétique, mais il ne faut pas oublier ses contraintes de temps du cycle thermique. Pour y remédier, nous avons une autre méthode : la spectroscopie Raman. Elle est très intéressante car elle permet d'obtenir des réponses de détection virale immédiate (quelques secondes), sans aucun prétraitement long et complexe des échantillons.

La spectroscopie Raman utilise un laser pour rendre observable le phénomène de diffusion Raman. Le Raman est une technique d'identification rapide et puissante basée sur les rares interactions des photons avec la structure moléculaire de l'échantillon. En particulier, en regardant l'augmentation ou la diminution du niveau d'énergie quantitatif des photons. Ces signaux d'émission sont des « empreintes digitales » inhérentes d'un composant chimique et peuvent vous dire rapidement quand une certaine espèce est présente. Ocean Insight propose des systèmes Raman fibrés hautes performances depuis plus d'une décennie avec plusieurs options de longueurs d'ondes d'excitation. Le spectromètre Raman QE-Pro+ est un modèle très populaire et se décline en différentes longueurs d'onde : 785nm, 638nm et 532nm. En combinant ce spectromètre avec le laser et la sonde à fibre optique Raman appropriée d'IDIL Fibres Optiques, vous obtiendrez un système complet, prêt à l'emploi pour vos analyses Raman.

Pour augmenter davantage la détection du niveau de trace d'un virus, les émissions Raman peuvent être amplifiées en utilisant certains métaux qui sont « en phase » avec la fréquence laser utilisée. Cette méthode s'appuie sur l'effet appelé *SPR*, ou Surface à Résonance Plasmonique. En utilisant des nanoparticules ou des nanostructures d'un métal tel que l'or ou l'argent, les analytes peuvent venir à proximité de cet effet *SPR* et conduire à une amplification importante de photons d'émission Raman.

Cette technique d'amplification Raman est connue sous le nom de SERS, ou Surface Enhanced Raman Spectroscopie. Ocean Insight est un leader dans ce domaine et fourni depuis 2014 des SERS consommables à faible coût présentés en format lame en verre de microscope (**figure 4**).



Figure 4: Les substrats SERS amplifient les émissions Raman et le niveau de trace de détection des analytes.

Un pack contient 5 lames sur lesquelles ont été déposées une formulation exclusive de nanoparticules incorporées dans une matrice de quartz. L'utilisateur peut simplement ajouter quelques microlitres d'échantillon sur la région dopée aux nanoparticules et placer l'échantillon sous la sonde Raman pour une détection rapide des traces d'analytes recherchés

Ocean Insight travaille avec plusieurs développeurs y compris Botanisol Analytics (<https://bsol.io/>) qui utilisent la technique Raman pour la détection rapide du COVID-19. Même les analyses préliminaires avec des échantillons contaminés ont montré des activités Raman répétables pour les fragments viraux directs et les anticorps respectifs (**figure 5**).

Bien que ces mesures aient été effectuées sur des échantillons de fluides plutôt « propres » par rapport à des échantillons cliniques obtenus sur de « vrais » patients, la recherche établit que les régions d'activité Raman à rechercher restent inchangées. Lorsqu'elles sont analysées à l'aide du logiciel *Ocean Intelligence* (OI est une plateforme d'apprentissage spectral automatique), les analyses de bio-fluides complexes peuvent être complètement et rapidement déconvoluées pour fournir un résultat positif/négatif avec une confiance statistique élevée.

IDIL Fibres Optiques et Ocean Insight apportent ensemble un niveau d'expertise unique dans le choix du matériel spectral, les techniques de mesure appropriées à utiliser et la perspicacité nécessaire pour réaliser ce qui n'a pas été fait auparavant. Si vous vous battez pour faire progresser la détection du COVID-19, contactez-nous. Nous sommes impatients d'en savoir plus sur votre vision et comment nos connaissances spectrales appliquées peuvent vous aider.



Figure 5. Techniques Raman à haute sensibilité pour détecter de petites quantités de virus et d'anticorps