

La normalisation des techniques d'ingénierie en recherche biomédicale : l'exemple des centres de ressources biologiques

Par Bruno CLÉMENT

Directeur de l'unité Inserm Nutrition, métabolismes et cancer à Rennes et directeur scientifique de l'Infrastructure nationale BIOBANQUES

Paul HOFMAN

Professeur de pathologie au CHU de Nice

Mireille DESILLE

Ingénieure de Recherche au CRB-Santé du CHU de Rennes

et Georges DAGHER

Directeur de recherche à l'Inserm et coordinateur de l'Infrastructure nationale BIOBANQUES

Les technologies à haut débit ont profondément modifié la recherche dans les sciences de la vie et de la santé. Les retombées sur la compréhension des maladies et, progressivement, dans la prise en charge des patients sont considérables. Ces progrès reposent plus particulièrement sur l'accès à des échantillons biologiques dont l'assurance-qualité et la traçabilité doivent être garanties dans le respect de l'éthique et de la loi. Les centres de ressources biologiques collectent, stockent, sécurisent et distribuent des échantillons annotés par des données cliniques et biologiques. Ces infrastructures évoluent désormais vers des biobanques de nouvelle génération qui sont des partenaires à part entière du processus de soins et de recherche, et non plus de simples entrepôts d'échantillons biologiques. La puissance des techniques à haut débit capables de générer des milliers de données à partir d'un unique échantillon et l'avènement de la médecine de précision, qui s'appuie sur l'analyse de données massives, nécessitent la mise en œuvre rapide de normes pré-analytiques et la réunion d'expertises multidisciplinaires.

La recherche biomédicale connaît depuis le début du siècle un bouleversement de grande ampleur avec l'avènement de technologies à grand débit appliquées à la biologie. C'est l'apparition, vers la fin du XX^e siècle, puis le développement exponentiel de la génomique, de la transcriptomique, de l'imagerie, de la bioinformatique, des métabases de données..., qui ont considérablement élargi les champs d'investigation des chercheurs. En moins de dix ans les retombées scientifiques de ces nouvelles approches technologiques ont été considérables. Les conséquences médicales en sont d'ores et déjà visibles avec l'avènement de la « médecine de précision », qui vise à prévenir et à traiter les maladies en fonction des variabilités du génotype/phénotype, du mode de vie et de l'environnement de chaque individu ⁽¹⁾. Cette approche s'appuie sur des méthodes et des

techniques capables d'intégrer des milliers de paramètres génomiques, biologiques, cliniques, épidémiologiques, environnementaux...

Pour soutenir cette révolution méthodologique, les organismes publics de recherche ont fait appel à des techniques managériales et à des *process* déjà mis en œuvre dans d'autres domaines. En effet, de tels bouleversements technologiques ne sont pas nouveaux dans l'histoire des sciences. On peut citer la physique nucléaire, la physique des particules ou les sciences de l'univers, dont l'extraor-

(1) COLLINS (F. S.) & VARMUS (H.), "A new initiative on precision medicine", *New England Journal of Medicine* 372, 2015, pp. 793-795. Doi: 10.1056/NEJMp1500523.

dinaire succès dans le progrès de la connaissance de l'infiniment petit et de l'infiniment grand repose sur des technologies de très haute précision, un management industriel de grands équipements et la normalisation des plans expérimentaux de recherche aux niveaux européen et international.

Outre le développement des techniques à haut débit en biologie et santé, d'autres contraintes (notamment la place centrale et incontournable de l'éthique, l'évolution de la réglementation, les échanges internationaux, la bio-sécurité et la biosûreté, etc.) ont également conduit les organismes de recherche à faire évoluer leur stratégie.

De plus, les fortes contraintes budgétaires pesant sur l'État se traduisent par un faible taux de renouvellement des personnels ingénieurs et techniques et par un accroissement considérable du nombre de contrats de travail de courte durée dans les laboratoires. La transmission du savoir, des méthodes et des techniques doit donc s'adapter au mieux, en s'appuyant sur des procédures qualifiées et standardisées. Les chercheurs en biologie et santé ont répondu à ces défis par un effort conséquent de mutualisation et de normalisation de leurs moyens de recherche, notamment *via* la mise en place d'infrastructures distribuées : animaleries, imagerie, génomique, bioinformatique, criblage à haut débit, méta-bases de données et centres de ressources biologiques.

La normalisation des centres de ressources biologiques, un paradigme pour la recherche biomédicale

Les maladies qui ont un impact majeur en santé humaine sont phénotypiquement complexes. Hormis les maladies monogéniques, la plupart des pathologies humaines sont la résultante d'une combinaison de facteurs génétiques et de facteurs environnementaux, que les maladies en cause soient transmissibles (infectieuses) ou non-transmissibles (maladies chroniques, maladies dégénératives, cancers...).

Les recherches en génétique des populations, les études des dysfonctionnements du génome et l'identification des facteurs de risque sont utilisées pour enrichir la sémiologie et mieux caractériser les différents stades des maladies. La recherche dite « translationnelle », qui fait le continuum entre les recherches cognitive et clinique, favorise le transfert des connaissances au bénéfice direct des malades, dans le cadre de l'offre de soins. Dans ce processus, l'accès à des « spécimens » biologiques annotés (ADN, ARN, protéines, anticorps, fragments de tissus, sang...) et à des bases de données (épidémiologiques, cliniques, environnementales...) est indispensable pour mieux comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu, rechercher des gènes ou des réseaux de gènes de susceptibilité, de diagnostic et de pronostic de

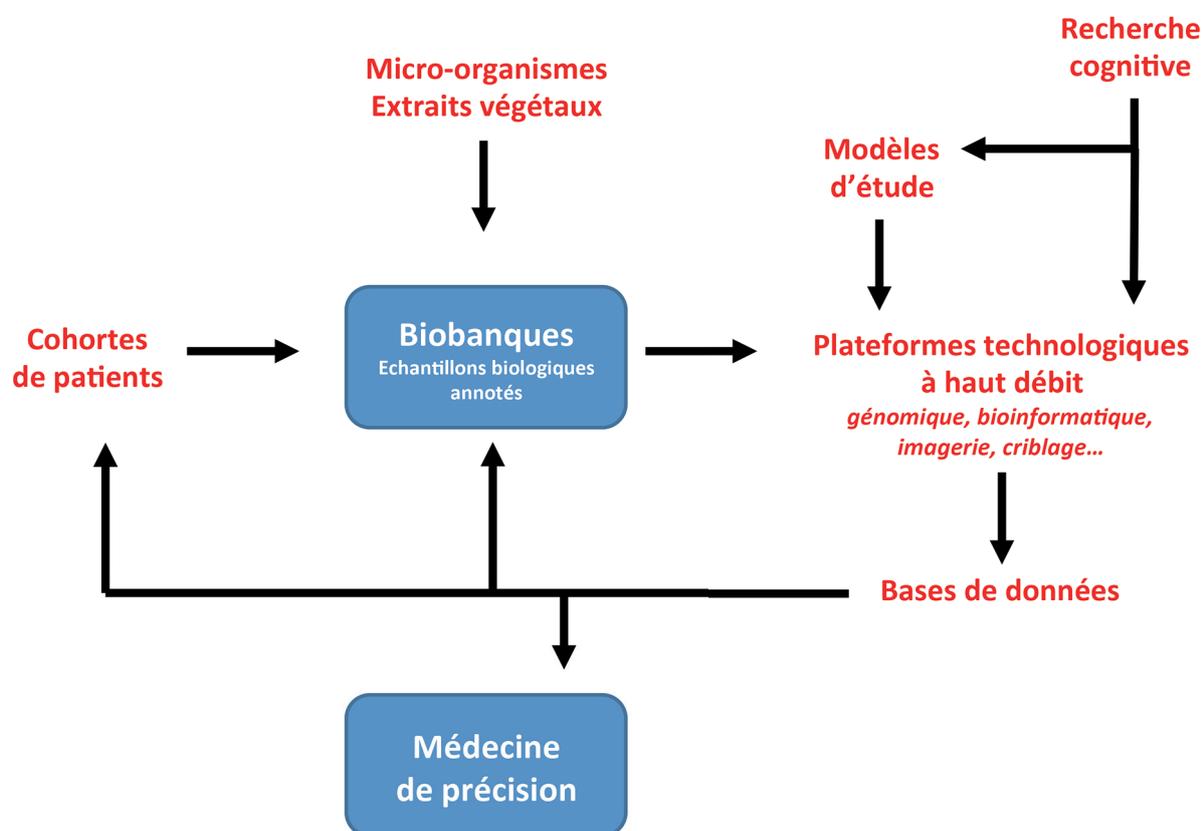


Figure 1 : Place des biobanques dans la médecine de précision.

la maladie et identifier de nouvelles cibles thérapeutiques. L'ensemble de ce processus complexe concourt au développement de la « médecine de précision » (voir la Figure 1 de la page précédente).

La qualité des échantillons biologiques humains annotés est un élément crucial pour un développement optimal de la recherche translationnelle, et donc pour celui de la médecine de précision.

En effet, les technologies à haut débit ont la capacité de générer de grandes quantités de données. À partir d'un échantillon biologique unique, il est possible de produire des milliers de données par le séquençage du génome (génomique), l'analyse globale des produits d'expression des gènes (transcriptome, protéome, métabolome...) et l'imagerie (cellulaire, tissulaire...). La puissance d'analyse de ces techniques permet de mieux comprendre les maladies complexes et de développer des traitements de plus en plus ciblés. Cependant, la fiabilité des données générées par ces techniques massives dépendent avant tout de la qualité du matériel biologique analysé et de celle des informations qui lui sont associées. La normalisation des procédures de collecte, de transformation, de stockage et d'accès aux échantillons biologiques et à leurs annotations est donc devenue un enjeu majeur à la fois scientifique, médical, économique et éthique.

C'est dans ce contexte que s'est développé le concept des centres de ressources biologiques (CRB). La réunion d'échantillons biologiques collectés dans la nature ou chez l'homme a toujours existé dans l'histoire des sciences, depuis l'Antiquité : ainsi, par exemple, à Alexandrie (au troisième siècle avant Jésus-Christ), dans les cabinets de curiosité des XV^e et XVI^e siècles, ou encore dans le « Jardin de plantes médicinales », le futur Muséum d'Histoire Naturelle, créé à Paris par Louis XIII en 1635. Mais si l'activité de réunion d'échantillons biologiques n'est pas vraiment nouvelle, son ampleur ainsi que la mise en place de standards de collecte et de conservation des échantillons biologiques aux fins d'études et de recherches biologiques à grande échelle ont entraîné l'émergence de centres spécialisés, les centres de ressources biologiques (CRB) également appelés biobanques ⁽²⁾.

La France a été un acteur déterminant au plan international de la mise en place de recommandations, puis de normes pour les CRB (voir la Figure 2 de la page suivante). Au travers du projet européen CABRI (*Common Access to Biological Resources and Information*) ⁽³⁾, en 1996, ce sont l'Inserm (pour les ressources biologiques d'origine humaine) et l'Institut Pasteur (pour les microorganismes), qui ont établi les premières règles d'harmonisation des processus de gestion des échantillons biologiques et des informations associées en s'appuyant sur les normes de qualité ISO 9000.

En 1998, la France a animé le groupe de travail de l'OCDE (*Organisation de coopération et de développement économiques*) qui a défini les missions et le périmètre d'action des CRB et établi les premières recommandations aux États membres pour la mise en place desdits centres dans le but de favoriser la recherche en biologie et

santé et de faciliter les échanges internationaux d'échantillons biologiques ^(4, 5).

Parallèlement, l'Inserm, avec le ministère chargé de la Recherche, le ministère chargé de la Santé et l'Institut national du cancer (INCa) se sont engagés dans une politique active d'identification, de soutien et de valorisation des collections d'échantillons biologiques d'origine humaine. Cette démarche d'envergure nationale a eu pour particularité d'associer l'ensemble des acteurs de la recherche biomédicale lors de chacune des étapes d'harmonisation des pratiques.

Dans le prolongement de ces actions, l'Agence nationale pour la recherche (ANR) a soutenu, à partir de 2006, les biobanques qui souhaitent progresser dans le processus de standardisation par la création, avec l'appui de l'AFNOR, d'une norme qualité spécifique pour la certification des CRB. La France a été ainsi le premier État membre de l'OCDE à avoir publié, en 2008, une norme spécifique, la NF S96-900, pour la certification des CRB d'échantillons biologiques d'origines humaine et microbienne, qui a été étendue en 2011 aux domaines animal et végétal ⁽⁶⁾. Son application est compatible avec les exigences de la norme ISO 9001 et elle respecte les recommandations de l'OCDE : la rigueur scientifique qui garantit l'origine et la qualité des ressources biologiques ; la sécurité ; l'exigence éthique dans le cadre réglementaire établi par la loi ; la régulation économique, avec la mise en place de règles précises d'accès aux collections ; et la promotion des échanges internationaux.

La montée en puissance des biobanques de nouvelle génération : expertises et normes ISO

Dans le cadre du Programme des investissements d'avenir, les biobanques ont été rassemblées, en 2010, au sein d'une infrastructure nationale. Cette infrastructure distribuée, qui rassemble 85 biobanques (dont 54 sont à ce jour certifiées NF S96-900), a pour mission de favoriser la recherche biomédicale translationnelle et clinique par la mise à disposition de collections biologiques d'origine humaine ou microbienne selon des critères européens et internationaux. L'infrastructure BIOBANQUES accompagne 27 consortiums de recherche, 9 projets européens et 53 projets de R&D avec l'industrie ⁽⁷⁾. Elle est le nœud français des infrastructures européennes BBMRI (*Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure*) et MIRRI (*Microbial Resource Research Infrastructure*).

(2) BELLMIER (F.) & NOVILLE (C.), Les Biobanques, Collection « Que sais-je ? », PUF, 2009, 128 p.

(3) Common Access to Biological Resources and Information: <http://www.cabri.org/description.html>

(4) Biological Resources Centres: underpinning the future of life sciences and biotechnology: <https://www.oecd.org/sti/biotech/2487422.pdf>

(5) Lignes directrices de l'OCDE relatives aux pratiques exemplaires concernant les centres de ressources biologiques :

<http://www.sfr-biosciences.fr/medias/documents/documents-cellulonet/ocde-crb.pdf?lang=fr>

(6) Qualité des centres de ressources biologiques : système de management d'un CRB et qualité des ressources biologiques : <https://www.boutique.afnor.org/norme/nf-s96-900/>

(7) L'infrastructure nationale BIOBANQUES : <http://www.biobanques.eu/fr/nous-connaître/infrastructure>

1999	Loi sur l'Innovation du 12 Juillet 1999	OCDE : définition des CRB
2001	Comité Consultatif des Ressources Biologiques	Recommandations de l'OCDE pour les CRB, approuvées par 30 pays
2001 à 2003	- AAP de l'INSERM, CNRS, INRA, IFREMER, BRG... - Plan d'action du Ministère de la Santé - Création du réseau national des biobanques (Inserm)	
2003	Plan Cancer : action ciblée sur les tumorothèques par l'INCa	Déclaration de l'Unesco
2004	Loi du 6 Août 2004 relative à la bioéthique	OCDE Conseil des ministres : vers un réseau global de CRB
2006	ANR : AO pour une norme française CRB	Recommandations du Conseil de l'Europe Directive européenne 2006-86
2007	Recommandations de l'INCa pour les tumorothèques	- OCDE : Guide des bonnes pratiques pour les CRB d'origine humaine et microbienne - ESFRI : <i>Biobanking and Biomolecular Research Infrastructure (BBMRI : 20 pays, 50 institutions)</i>
2008	- TGIR : Très Grandes Infrastructures de Recherche - Publication de la Norme française NF S 96-900 - Intégration du réseau des CRB au GIS <i>Infrastructures en Biologie, Santé et Agronomie (IBISA)</i>	
2010	- Extension de la Norme NF S 96-900 - Programme Investissements d'Avenir : <i>Infrastructure nationale BIOBANQUES</i>	BBMRI : infrastructure européenne de statut légal
2014	L'infrastructure BIOBANQUES est opérationnelle : 70% des livrables sont réalisés ; 54 biobanques sont certifiées sur un total de 85 ; 27 consortiums ; 17 projets de R&D	Lancement des groupes de travail pour la création d'une norme internationale ISO pour le management des biobanques et la qualité des échantillons biologiques

Figure 2 : Les actions majeures de la France en faveur des biobanques.

Les CRB sont aujourd'hui en train de franchir une nouvelle étape avec l'émergence des biobanques de nouvelle génération (*Next Generation Biobanks*). Cette évolution signe l'effacement entre les activités propres à la recherche et les activités de soins (diagnostic, thérapies ciblées) et l'émergence de la médecine génomique : l'échantillon biologique est désormais un objet d'étude indissociable de son rôle crucial dans l'orientation du choix thérapeutique. Les biobanques voient donc leurs missions évoluer : d'infrastructures passives de collecte et de stockage d'échantillons biologiques, elles se renforcent désormais d'expertises multiples (cliniques, génomiques, bioinformatiques...). L'échantillon biologique est distribué avec des annotations enrichies par des experts qui mutualisent leurs compétences pour lui donner une valeur d'importance capitale pour la prise en charge des patients et la découverte de biomarqueurs et de cibles thérapeutiques. La biobanque devient un partenaire à part entière dans les processus de soins et de recherche, et non plus un simple entrepôt d'échantillons biologiques.

Outre les aspects managériaux, la normalisation des processus engagés dans une biobanque doit donc évoluer afin de garantir la qualité intrinsèque des échantillons et des données associées pour un objectif donné. À cette fin, neuf normes internationales relatives aux phases pré-analytiques génomiques sont en cours d'élaboration. Elles se présentent sous la forme de spécificités techniques à la norme ISO 15189.

Membre du comité ISO et animateur du comité miroir AFNOR, l'infrastructure BIOBANQUES contribue largement au déploiement de ces normes dans les biobanques partenaires des plates-formes génomiques. La séparation ancienne entre recherche et soins s'efface, par conséquent, du fait de la mise en place de normes internationales communes. Cette stratégie s'accompagne également de l'amélioration des systèmes de traçabilité des échantillons et des données, d'interopérabilité des bases de données et de méta-analyse de données massives et hétérogènes : génomes entiers, patrons d'expression de gènes et de protéines, imagerie, etc.

La normalisation dans les biobanques et les centres de ressources biologiques : un frein ou un accélérateur de la recherche biomédicale ?

La mise en place de normes dans les laboratoires de recherche peut apparaître dans un premier temps comme un événement nouveau et contraignant ⁽⁸⁾.

(8) MURET (A.), « La qualité en recherche : la construction d'une nouvelle norme française », thèse de doctorat en socio-économie de l'innovation, École nationale supérieure des Mines de Paris, 2003 : <https://halshs.archives-ouvertes.fr/pastel-00001249/document>

En réalité, la standardisation des plans expérimentaux et la reproductibilité des résultats constituent la base même de la démarche scientifique. L'avènement de technologies à très haut débit capables de générer des données massives à partir d'une expérience unique a ravivé une exigence encore plus forte en matière d'assurance-qualité. Des études récentes ont soulevé le problème de la non-reproductibilité de beaucoup de travaux scientifiques en biologie. Ainsi, Friedman et coll. ont montré que l'incidence cumulée des données précliniques non-reproductibles dépasse les 50 %, avec un impact financier déficitaire estimé à plus de 28 milliards de dollars par an aux États-Unis ⁽⁹⁾. La qualité inappropriée des échantillons biologiques ou de leurs annotations contribue à la non-reproductibilité des résultats scientifiques à hauteur de 30 %, avec un impact financier estimé à 8 milliards de dollars par an. Dès lors, la mise en place de normes dans les biobanques apparaît naturellement comme un moyen d'améliorer la qualité globale des résultats de la recherche, de faire progresser les retombées médicales et de réduire les coûts ⁽¹⁰⁾.

L'établissement de normes est également un composant facilitateur pour la valorisation des échantillons biologiques auprès de partenaires industriels, y compris au plan international. L'émergence des biobanques de nouvelle génération répond à ce besoin : de simple fournisseur d'échantillons, la biobanque devient un partenaire très actif par le partage de savoir-faire et la production de publications scientifiques et de brevets communs ⁽¹¹⁾, avec des retombées positives à court et moyen terme.

Mais l'introduction de normes dans la pratique des laboratoires ne doit pas affecter la nature même de la recherche scientifique, qui est par essence transgressive et créative. Le chercheur est à la confluence de ces deux exigences : la standardisation de la démarche scientifique qui s'appuie sur des normes et la liberté d'explorer des champs d'investigation inconnus ou inattendus. La prolifération des standards et des règlements, les mutualisations dans l'organisation de la recherche et les changements de mode de comptabilité publique doivent être parfaitement maîtrisés et devenir de véritables facilitateurs de la recherche biomédicale. La montée en puissance actuelle d'un système normatif dans les laboratoires et les biobanques est en effet au service de la recherche, mais elle ne doit pas brider l'innovation scientifique.

(9) FREEDMAN (L.), COCKBURN (I. M.) & SIMCOE (T. S.), "The economics of reproducibility in preclinical research", *PLoS Biology* 13(6): e1002165, 2015: <http://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.1002165>

(10) CLÉMENT (B.), YUILLE (M.), ZALTOUKAL (K.), WICHMANN (H. E.), ANTON (G.), PARODI (B.), KOZERA (L.), BRÉCHOT (C.), HOFMAN (P.) & DAGHER (G.), "Public biobanks: a tool for the calculation and recovery of costs", *Science Translational Medicine* 6: 261fs45, 2014.

(11) HOFMAN (P.), BRÉCHOT (C.), ZATLOUKAL (K.), DAGHER (G.) & CLÉMENT (B.), "Public-private relationships in biobanking: a still underestimated key component of open innovation", *Virchows Archiv* 464:3-9, 2014. Doi : 10.1007/s00428-013-1524-z.