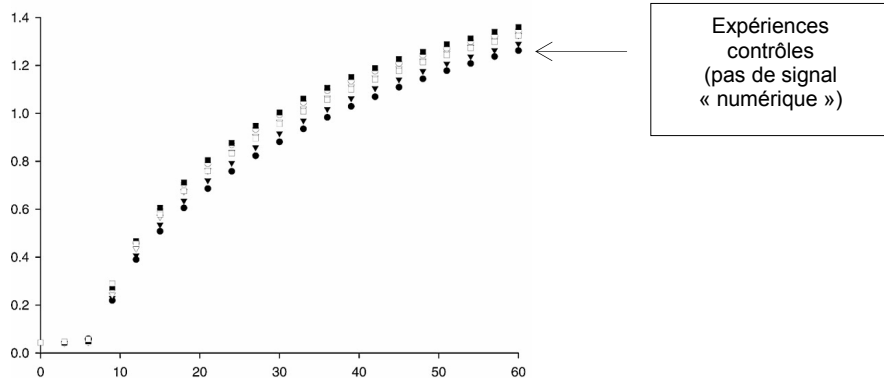


Chapitre 24. « Le signal numérique avait un effet ! »

« Les résultats sont hautement significatifs »

Le robot analyseur acquis auprès de Digibio grâce aux crédits de la DARPA est donc installé dans un laboratoire du *National Institute of Health* à Bethesda (Maryland). J. Aïssa et D. Guillonnet viennent le faire fonctionner du 14 au 21 juillet 2001 au cours de la phase de l'expertise appelée étude pré-pilote. Le but de cette étude pré-pilote est de vérifier que tout fonctionne correctement selon les critères de l'équipe de Clamart. J. Aïssa et D. Guillonnet font également quelques expériences informelles qui permettent de constater avec satisfaction que le signal numérique inhibiteur est également efficace de l'autre côté de l'Atlantique et ils expliquent le fonctionnement du robot.

Après la phase pré-pilote, des expériences contrôles (sans signaux d'aucune sorte) sont réalisées par les experts américains qui indiquent un degré de reproductibilité élevé. Sur la base de ces essais, il est calculé que quatre expériences seraient suffisantes d'un point de vue statistique pour détecter une différence de 20 % des signaux numériques actifs par rapport aux conditions contrôles (Figure 24.1).



(Reproduit d'après W. Jonas et al, *Faseb J* 2006 ; 20 : 23)

Figure 24.1. Exemple d'expérience réalisée par le robot analyseur (en absence de tout « signal numérique ») par les experts américains entre la phase pré-pilote et la phase pilote. Ces essais mettent en évidence la faible variation d'un échantillon à l'autre. Selon les experts américains la variation entre les échantillons était de moins de 1 % pour 10 expériences réalisées au cours de 5 jours différents.

Abscisse en min et ordonnée en unités de densité optique.

Avant de poursuivre, il faut noter qu'une nouvelle variante a été introduite par l'équipe de J. Benveniste afin de rendre ces expériences encore plus simples à mettre en place dans n'importe quel laboratoire. Afin de ne plus être tributaire d'un approvisionnement en plasma qui peut parfois être malaisé, c'est maintenant la transformation du fibrinogène sous l'action de la thrombine qui est mesuré. Cela ne change rien au principe, le fibrinogène est la molécule soluble qui se trouve dans le plasma et qui, sous l'action de la thrombine, se transforme en fibrine insoluble qui participe à la formation du caillot. C'est donc un système purement biochimique. Cette réaction *in vitro* peut également être facilement mesurée par un spectrophotomètre puisque la fibrine insoluble absorbe la lumière.

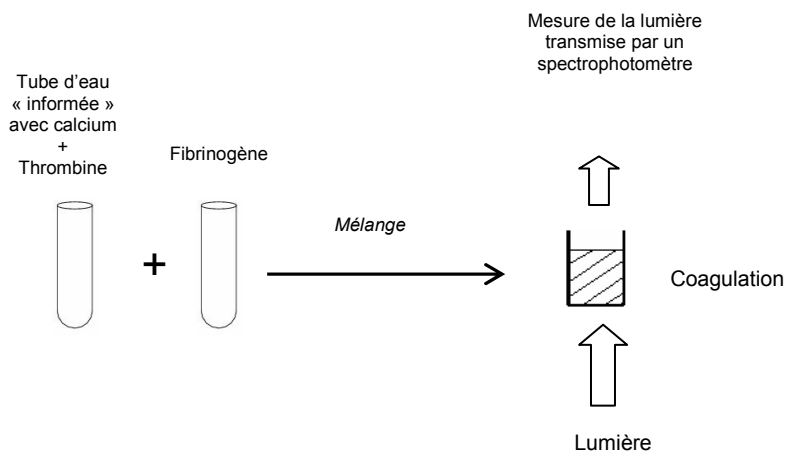


Figure 24.2. Principe de la transformation du fibrinogène (24 mg/mL) en fibrine par la thrombine (0,3 µg/mL) *in vitro* avec lecture de la densité optique par le robot analyseur. La thrombine est une enzyme qui provoque la transformation du fibrinogène soluble en fibrine insoluble. Plus de la fibrine est produite, plus la lumière du spectrophotomètre est absorbée. L'eau « imprégnée » par un « signal numérique » qui inhibe l'effet de la thrombine (enregistrement actif) peut ainsi être mise en évidence en comparaison avec de l'eau « imprégnée » par un « signal eau » (contrôle inactif).

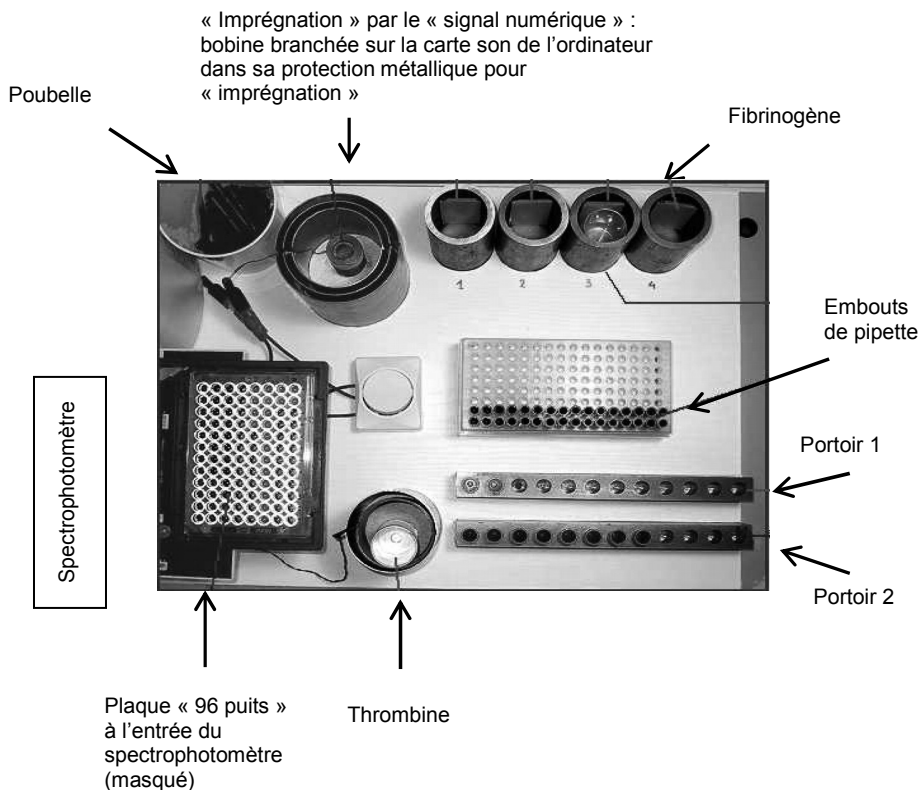
La solution de thrombine est exposée à l'inhibiteur numérisé ou à l'eau numérisée (contrôle) puis elle est mélangée au fibrinogène et distribuée dans les puits. Tout est automatique exceptée la préparation des solutions stocks de fibrinogène et de thrombine. En effet, le fonctionnement du robot est le suivant. Après avoir placé la solution de fibrinogène et la solution de thrombine dans leurs récipients respectifs, le logiciel qui pilote la machine est lancé. Le bras

du robot qui est équipé d'une pipette distribue la thrombine dans les tubes et les place dans la bobine qui diffuse un signal (choisis dans un ordre aléatoire). Le tube d'eau contenant la thrombine est « informé » pendant 10 minutes et replacé sur le portoir des tubes. Il est procédé ensuite de la même façon avec les autres tubes. L'ordre des « signaux » est aléatoire. Du fibrinogène est ensuite ajouté à chacun des tubes « informés » qui sont alors déposés dans deux puits situés côte à côte d'une « plaque 96 puits ». La densité optique du mélange fibrinogène-thrombine est alors mesuré automatiquement toutes les 60 secondes pendant 1 heure.

Puis la phase suivante, l'étude pilote, est réalisée du 30 octobre au 3 novembre 2001 avec J. Aïssa, D. Guillonnet et J. Benveniste. Elle est destinée à vérifier de façon formelle que l'équipe de J. Benveniste obtient bien les résultats allégués. Un protocole a été défini et a été accepté par tous. Le protocole retenu consiste à « informer » les échantillons contenant de la thrombine selon l'« information » de trois enregistrements différents : signal inhibiteur de la thrombine (DTI ; *digital thrombin inhibitor*), signal eau et absence de signal, c'est-à-dire un signal actif et deux signaux inactifs. Chaque signal est transmis à la bobine de sortie et « joué » pendant dix minutes. Les signaux numériques consistent en des enregistrements de 3 secondes passés en boucle pendant dix minutes. Chaque point expérimental est réalisé en double. L'ordre des enregistrements et les répétitions sont aléatoires et sont déterminés par l'ordinateur. L'expérimentateur ne sait donc pas dans quel ordre sont réalisés les différents points expérimentaux. Il n'en prend connaissance qu'à la fin de l'expérience avec les résultats.

J. Ives raconte comment s'est déroulée cette phase pilote :

« La phase suivante a été la phase pilote. Durant cette phase, l'équipe de Benveniste était présente et réalisait les expériences en utilisant le robot. Ils ont réalisé 21 expériences, chacune comportant les trois conditions expérimentales en double. Une inhibition de vingt-et-un à vingt-huit pourcent a été observée avec le signal numérique [*inhibiteur*] de la thrombine en comparaison avec le signal eau et l'absence de signal. L'analyse statistique indique que les résultats sont hautement significatifs ($p < 0,0001$). Le signal numérique avait un effet ! »¹



(Reproduit d'après W. Jonas et al, *Faseb J* 2006 ; 20 : 23)

Figure 24.3. Séquence des opérations exécutées par le robot analyseur. Afin de préparer le robot, 12 tubes sont placés (manuellement) à l'extrême gauche des portoirs 1 et 2 (6 tubes par portoir), des récipients contenant de la thrombine et du fibrinogène sont placés dans leurs emplacements respectifs. Noter que les récipients et les tubes sont placés dans des protections métalliques (manchons ou portoirs) afin de protéger le contenu des ondes électromagnétiques. Puis le robot est mis en marche.

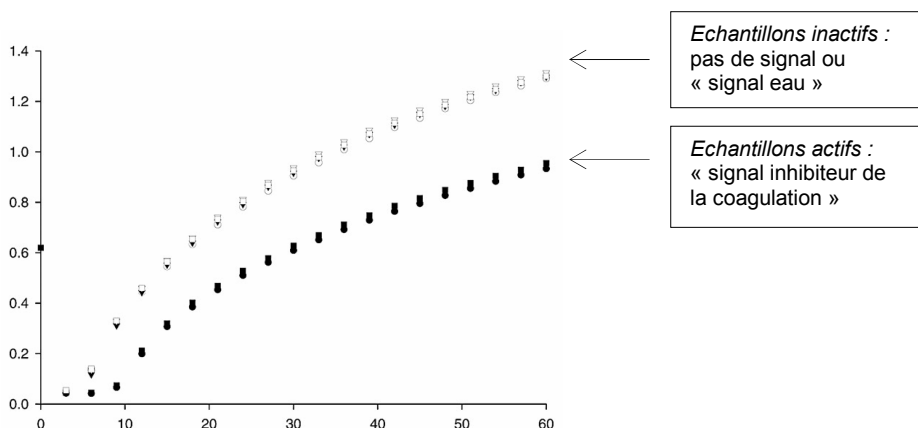
- (1) Le bras articulé (non visible) du robot qui porte une pipette se munit d'un embout à usage unique et distribue des volumes égaux de thrombine dans chacun des tubes du portoir 2.
- (2) Le bras place chacun de ces tubes du portoir 1 dans la bobine afin de l'exposer au champ électromagnétique de la bobine et recevoir l'un des trois signaux possibles : « signal eau » en contrôle, « signal anticoagulant » ou « absence de signal ». Après 10 minutes d'exposition, chaque tube est remis à sa place. L'embout à usage unique est jeté dans la poubelle et un nouvel embout est placé à l'extrémité de la pipette portée par le bras du robot.
- (3) Après 60 minutes, du fibrinogène est ajouté dans le premier tube (à gauche) du portoir 2.

(suite page suivante)

(suite)

- (4) La thrombine du tube 1 du portoir 1 est prélevée et ajoutée au tube 1 du portoir 2 puis mélangée par aspirations-refoulements répétés.
- (5) Le contenu est déposé dans deux puits adjacents de la plaque « 96 puits » (points en double).
- (6) Le même processus de (3) à (5) est répété pour les 5 autres tubes.
- (7) La plaque « 96 puits » est introduite dans le spectrophotomètre et une mesure de densité optique est réalisée sur chaque puits toutes les 3 minutes pendant une heure.

Plus précisément, l'article dont W. Jonas est signataire indique que 16 expériences ont été réalisées pendant la phase pilote et alors que les différences de coagulation n'excédaient pas 1 % entre les points expérimentaux « eau numérisée » et « absence de signal » (c'est-à-dire les contrôles), dans 7 expériences une diminution de 21 à 28 % de la coagulation a été observée avec les échantillons « imprégnés » par le « signal » anticoagulant (Figure 24.4).



(Reproduit d'après W. Jonas et al, Faseb J 2006 ; 20 : 23)

Figure 24.4. Phase pilote (30 octobre – 3 novembre 2001) : exemple d'un effet inhibiteur obtenu durant l'expertise avec un « signal numérique ». Au cours de chaque expérience trois conditions expérimentales sont comparées ; chacune des 3 conditions expérimentales est réalisée en double. Les 3 conditions expérimentales sont : pas de signal (rond ouvert, carré ouvert), signal « eau » (triangle fermé, triangle ouvert), signal « inhibiteur » (rond fermé, carré fermé). Sur la figure, les 4 contrôles (2 puits « pas de signal » et 2 puits « signal eau ») et les 2 « actifs » (2 puits avec « signal inhibiteur »). On constate que le « signal numérique inhibiteur » diminue effectivement la coagulation.

Sur 16 expériences réalisées pendant la phase pilote, une inhibition est mise en évidence pour 7 d'entre elles (inhibition moyenne de 21 à 28 %). Par conséquent, les résultats obtenus au cours de la phase pilote confortent la « biologie numérique ».

Abscisses en min et ordonnées en unités de densité optique.

Tout va donc pour le mieux et l'avenir de la « biologie numérique » promet donc d'être radieux. En tout, au cours de la phase pré-pilote et la phase pilote, 11 expériences sur 23 ont donné des résultats positifs en faveur de la réalité des effets des « signaux numériques » qui inhibent en moyenne de 24 % la coagulation ; ces résultats sont d'un point de vue statistique extrêmement significatifs.

Les expériences réalisées à l'aveugle et avec un appareil automatique étant concluantes, il serait étonnant que cela ne soit plus le cas après le départ de l'équipe française. En effet, la manipulation du robot ne nécessite pas une grande habileté manuelle ou une expertise particulière. Comme il a déjà été dit, le travail de l'opérateur se limite à mettre en place les consommables (embouts de pipettes, tubes) et les produits biologiques. Dès que tout est en place, il suffit d'appuyer sur un bouton et l'expérience proprement dite se déroule automatiquement, depuis le choix aléatoire des enregistrements numériques jusqu'à l'impression des résultats.

Toutefois, l'équipe américaine fait l'observation suivante :

« Une analyse en sous-groupes de la phase pilote a montré que tous les effets inhibiteurs se produisaient quand les expériences étaient réalisées par l'un des membres de l'équipe de Benveniste (Jamal Aïssa) et que ceci se produisait habituellement quand il utilisait une méthode de répartition des échantillons pour laquelle il interrompait le fonctionnement de l'analyseur biologique automatique de façon à réaliser un dépôt manuel suivi par un dépôt automatique. Deux des 16 expériences faites seulement par la machine (sans interruption) montraient un effet quand Jamal était présent. A trois occasions Jamal mit en place les expériences puis s'absenta pour la journée. Aucune de ces expériences ne montra d'effet inhibiteur. »²

L'équipe française, quant à elle, n'est guère surprise de cette « influence » possible de J. Aïssa et elle révèle aux chercheurs américains qu'en effet elle a constaté que certains individus sont « facilitateurs » et d'autres « inhibiteurs ». J. Aïssa fait à l'évidence partie de la première catégorie. Mais que cette constatation puisse remettre en quoi que ce soit la « biologie numérique » c'est-à-dire le fait que « l'activité biologique » de molécules puisse être « enregistrée-numérisée » ne semble pas effleurer les esprits de l'équipe de Clamart. En effet, dans le même temps, les chercheurs américains constatent que lorsque les résultats ne sont pas conformes aux attentes, l'équipe française conclut toujours à une défaillance du matériel.

Chapitre 24. « Le signal numérique avait un effet ! »

Quels sont donc les résultats obtenus au cours de la phase test après le départ de J. Benveniste et de ses collaborateurs ? L'absence de J. Aïssa a-t-elle affecté ces résultats prometteurs ?

Notes de fin de chapitre

¹ J. Ives. Evaluating unusual claims and devices using a team approach: A case study. *Subtle Energies & Energy Medicine* 2002 ; 13 : 39–59.

² Jonas WB, Ives JA, Rollwagen F, Denman DW, Hintz K, Hammer M, Crawford C, Henry K. Can specific biological signals be digitized? *FASEB J* 2006 ; 20 : 23–8.