

(Bio)capteurs électrochimiques pour la détection des molécules impliquées dans le quorum-sensing et le biofilm. Applications dans la détection de la contamination bactérienne des aliments

Bogdan Feier

Discipline de Chimie Analytique
Université de Médecine et Pharmacie «Iuliu Hatieganu»
Cluj-Napoca, Roumanie
feier.george@umfcluj.ro

Cecilia Cristea

Discipline de Chimie Analytique
Université de Médecine et Pharmacie «Iuliu Hatieganu»
Cluj-Napoca, Roumanie
ccristea@umfcluj.ro

Résumé — Pour une meilleure transparence de la chaîne de production des produits de la mer, de la ferme à la table, et pour assurer la sécurité des consommateurs et gagner leur confiance, il est essentiel de développer des méthodes innovantes pour la détection sur le terrain des bactéries pathogènes et du biofilm dans les échantillons de poisson tout au long des étapes de production et de distribution. Le quorum sensing (QS), une forme de communication bactérienne et le biofilm contribue à la survie et au développement des bactéries. La détection de bactéries et du biofilm dans des échantillons biologiques, environnementaux ou alimentaires est basée sur des méthodes microbiologiques, moléculaires, immunologiques, spectrométrie de masse, ou des (bio)capteurs optiques ou électrochimiques. Les électrodes sérigraphiées (SPE) présentent de nombreux avantages et offrent une solution pratique pour les analyses sur site. L'utilisation de nanomatériaux et d'aptamères comme éléments de biorecognition améliore la sensibilité et la sélectivité de la détection, en raison de leurs propriétés favorables. Des capteurs électrochimiques ont été développés pour la détection de bactéries avec un aptacapteur pour la détection de bactéries Gram-négatives, en utilisant un SPE modifié avec des nanoparticules d'or et un aptamère spécifique à une molécule QS et du biofilm en utilisant un capteur électrochimique modifié avec des nanomatériaux pour la détection de diguanosine-monophosphate cyclique (cdGMP).

Mots-clés — détection des bactéries, détection de biofilm, (bio)capteurs imprimés portables, électrochimie, nanomatériaux

I. INTRODUCTION

La contamination avec des bactéries pathogènes des aliments, notamment du poisson et des produits de la mer, a un impact négatif important sur la santé publique, entraînant des épidémies de maladies d'origine alimentaire. La contamination du poisson peut survenir à différentes étapes de la production et de la distribution : (i) la production ; (ii) le transport ; (iii) le stockage ; (iv) le marché. Dans les fermes aquacoles, la qualité de l'eau, les pratiques d'hygiène et les procédures de manipulation peuvent contribuer à la contamination bactérienne. Pendant la distribution et commercialisation, des conditions de stockage et de transport inappropriées et des pratiques de manipulation inadéquates peuvent exposer davantage le poisson au risque de contamination bactérienne, ce qui présente des risques potentiels pour la santé des consommateurs. Une surveillance rigoureuse et le respect strict de protocoles d'hygiène tout au long des étapes de production et de distribution sont impératifs pour minimiser le risque de contamination bactérienne des produits à base de poisson.

La consommation d'aliments contaminés par des bactéries a un impact négatif important sur la qualité de vie et entraîne des conséquences économiques importantes. La contamination croisée, en particulier par les surfaces de contact lors de la manipulation d'aliments crus et transformés, est identifiée comme un danger potentiel et un contributeur majeur aux infections bactériennes chez l'homme. Un aspect critique de la contamination croisée réside dans la capacité des bactéries à

persister sur différentes surfaces, y compris les surfaces alimentaires pendant des périodes prolongées, facilitée par la formation de biofilms. Le biofilm bactérien, s'il n'est pas contrôlé, peut se propager à toutes les étapes de la production et de la distribution du poisson, ce qui présente un risque important de contamination susceptible de compromettre la qualité et la sécurité des produits de la pêche à différents points de la chaîne d'approvisionnement [1,2].

Le **quorum sensing** (QS) est un système complexe de stimulus et de réponse par lequel les bactéries communiquent entre elles, facilitant la transition vers un comportement collectif. Les bactéries utilisent de petites molécules de signalisation appelées autoinducteurs (IA) pour réguler l'expression des gènes impliqués dans la virulence et la formation de biofilm. Dans le cas des bactéries Gram négatif, ces molécules sont représentées, en général, par des dérivés de N-acyl-homosérine lactone (AHL). Les bactéries présentent des récepteurs spécifiques au niveau membranaire et cytoplasmique, capables de détecter les molécules QS de l'environnement extracellulaire. Ainsi, QS permet aux cellules individuelles de collecter des informations liées à la densité de la population bactérienne, et lorsque la concentration de molécules de signalisation atteint un certain niveau, les bactéries modifient leur expression génétique, provoquant un changement vers un comportement collectif, capable de répondre aux changements environnementaux [1].

Le système QS régle divers processus cellulaires des micro-organismes, tels que l'expression de gènes pathogènes, la production de toxines et de facteurs de virulence et la synthèse de polysaccharides extracellulaires. QS joue également un rôle important dans l'induction de la résistance aux antibiotiques en régulant les pompes à efflux, la formation de spores et la formation de biofilm bactérien [3].

Les molécules impliquées dans le QS sont réparties selon leur structure en 3 classes: (i) les dérivés de l'acyl-homosérine lactone (AHL), particulièrement impliqués dans le QS chez les bactéries Gram-négatives, (ii) les oligopeptides autoinducteurs (AIP), présents dans les bactéries Gram-positives et (iii) diesters d'acide borique avec un cycle furanose (AI-2), présents dans les bactéries Gram-positives et Gram-négatives qui possèdent des récepteurs spécifiques pour AI-2.

Les bactéries peuvent sécréter des AHL de structures différentes, la longueur des chaînes hydrocarbonées variant de C4 à C18 et pouvant être substituées, généralement au niveau du carbone C3. Par exemple, dans le cas de *P. aeruginosa*, deux molécules AHL peuvent être distinguées : C₄-HSL, avec 4 atomes de carbone dans la chaîne aliphatique et 3-O-C₁₂-HSL, avec 12 atomes de carbone et une substitution au C3 dans la chaîne hydrocarbonée [1,3]. La structure chimique des molécules impliquées dans QS chez *P. aeruginosa* est présentée dans la figure 1.

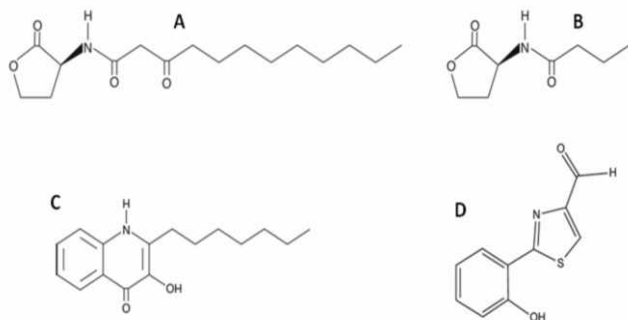


Figure 1. Structures chimiques des molécules impliquées en QS en *P. aeruginosa*: (A) 3-O-C₁₂-HSL, (B) C₄-HSL, (C) PQS, (D) IQS

Les bactéries présentent des capacités d'adaptation extrêmement élevées et rapides à une variété d'environnements tels que le sol, l'eau, la matière organique ou l'environnement interne, facilitant ainsi leur transmission et leur survie. Cette adaptabilité accrue est principalement due à la formation de **biofilm**, qui est en fait un mécanisme de défense des bactéries contre les facteurs externes. Le biofilm se forme à la surface de matériaux inertes ou actifs et peut être défini comme une barrière physique contre les agents antimicrobiens, conférant aux micro-organismes composants une résistance aux antibiotiques, au stress environnemental ou au système immunitaire de l'hôte jusqu'à 1000 fois supérieure [4,5].

Le biofilm est une communauté structurée de bactéries, attachées à une surface solide ou entre elles et encapsulées dans une matrice d'exopolysaccharide. Il présente une certaine structure spatiale et les bactéries qui le composent présentent de nouvelles caractéristiques, différentes des bactéries planctoniques [4].

Le processus de formation du biofilm bactérien est complexe et comprend plusieurs étapes importantes : fixation du substrat (réversible et irréversible), formation de microcolonies, maturation et dispersion du biofilm. Les étapes impliquées dans le développement du biofilm sont représentées schématiquement dans la figure 2.

Dans un premier temps, les cellules bactériennes qui entrent en contact avec une surface (dispositif médical interne ou tissu vivant) y adhèrent de manière réversible, impliquant des liaisons physiques (interactions faibles) entre la bactérie et la surface. Par la suite, lorsque les forces attractives sont plus fortes que les forces répulsives, certaines cellules s'attachent de manière irréversible à la surface, formant une monocouche cellulaire.

La formation des microcolonies bactériennes et la maturation du biofilm sont caractérisées par deux processus : l'augmentation de la sécrétion de molécules impliquées dans le QS, et l'augmentation de la taille et de l'épaisseur des microcolonies bactériennes, qui conduisent finalement à la formation d'une structure en forme de champignon. La maturation du biofilm se produit sur la base de la communication intercellulaire entre bactéries, le système QS jouant un rôle régulateur important à ce stade. Chez les bactéries Gram-négatives, la formation de biofilm est régulée par les molécules AHL. Suite à cette communication entre bactéries, à une certaine concentration seuil de molécules QS, il y a la sécrétion de polysaccharides, de protéines et d'acides gras, qui forment la substance polymère extracellulaire (EPS). Cette matrice a de multiples rôles dans le biofilm : protection des bactéries, milieu de distribution des nutriments et de l'oxygène, et facilitation de la communication intercellulaire des bactéries. À ce niveau, un processus cyclique de stimulation de la sécrétion d'EPS a lieu, puisque la sécrétion de cette substance est stimulée par une molécule de signalisation, l'acide 3',5'-diguanylique cyclique

(cdGMP), et la sécrétion de cette molécule est stimulée, à son tour, par la formation d'EPS.

La dernière étape, la dispersion, est très importante pour la propagation de l'infection dans l'organisme hôte. Au cours du processus de maturation, il y a une consommation de ressources, ainsi que l'accumulation de certains produits toxiques. Les conditions ainsi formées ne sont plus propices au développement des bactéries, celles-ci se détachent du biofilm et migrent vers d'autres régions. Ce processus se produit par l'activation de la phosphodiesterase cdGMP, qui dégrade la molécule cdGMP, conduisant finalement à la destruction de l'EPS. Cette étape peut favoriser l'émergence d'infections chroniques ou de complications graves des infections [4].

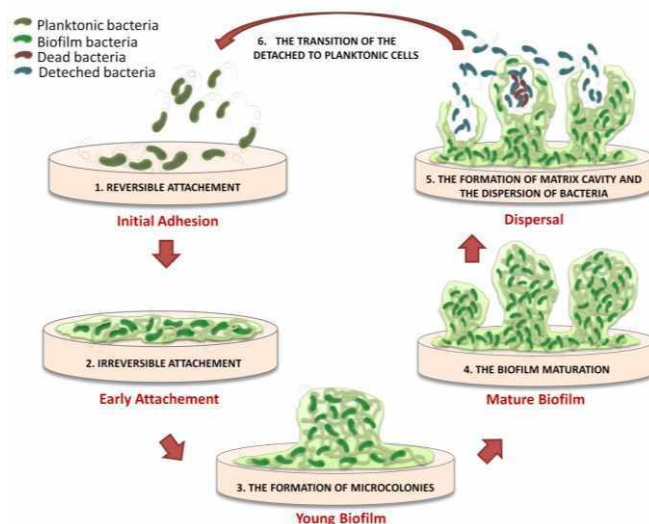


Figure 2. Étapes de la formation du biofilm bactérien. Adapté après [1]

En général, le biofilm favorise l'apparition de la résistance aux antibiotiques par des mécanismes de perméabilité (barrière moléculaire et de charge) et de limitation des nutriments et par des mécanismes phénotypiques de résistance aux antibiotiques.

Les bactéries Gram-positives et Gram-négatives ont la capacité de former des biofilms. Une seule espèce bactérienne peut être impliquée dans la formation du biofilm, mais celui-ci peut également être constituée de plusieurs espèces à la fois. Les espèces formant des biofilms les plus courantes sont : *E. faecalis*, *S. aureus*, *Streptococcus viridans*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* et *Proteus sp.* 2.34.

Les biofilms représentent un défi majeur pour l'industrie agroalimentaire, car ils peuvent favoriser la contamination croisée des aliments et réduire l'efficacité des désinfectants classiques utilisés. Les biofilms sont responsables de la détérioration des aliments et des épidémies d'infections d'origine alimentaire et sont également considérés comme responsables des dommages causés aux équipements de transformation des aliments. L'impact des biofilms sur l'industrie alimentaire est devenu évident après l'observation de plusieurs événements de contamination alimentaire par un large éventail d'agents pathogènes, notamment *Campylobacter jejuni*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus sp.*, *P. aeruginosa* et *E. coli* O157. Ces agents formant un biofilm peuvent contaminer une large gamme de produits alimentaires, affectant le plus souvent la viande, le lait, les œufs, mais aussi les fruits et légumes. La formation de biofilms entraîne une augmentation de la résistance de ces bactéries aux méthodes classiques de nettoyage et de transformation des aliments et ainsi, la consommation de ces produits peut favoriser l'apparition d'épidémies massives, ayant à terme un impact négatif sur la santé et l'économie mondiale [5].

Les biofilms revêtent une importance accrue dans les infections persistantes et difficiles à traiter, car ils constituent une cause importante des infections nosocomiales. On suppose que 65 % des infections nosocomiales, soit 60 % de toutes les infections bactériennes humaines, sont dues à la formation de biofilms. En général, les cellules planctoniques sont caractéristiques des infections aiguës et les biofilms sont particulièrement visibles dans les infections chroniques.

La formation du biofilm bactérien est donc un phénomène complexe, qui augmente le risque de propagation d'agents pathogènes capables de développer ce mécanisme de défense et rend difficile l'éradication de ces micro-organismes. Ces conséquences mettent en évidence la nécessité de détecter les biofilms, aussi bien dans le cas d'infections associées qu'en cas de contamination de surface en milieu hospitalier ou dans l'industrie agroalimentaire [1,5].

Afin d'augmenter la transparence et la confiance des consommateurs tout au long de la chaîne de production des fruits de mer, de la ferme à la table, il est essentiel de développer des méthodes innovantes pour détecter les bactéries dans les échantillons de poisson. En outre, il est essentiel de développer des techniques d'identification et de surveillance de la formation de biofilms, ces avancées étant cruciales pour identifier et résoudre rapidement les problèmes de contamination.

II. MÉTHODES DE DÉTECTION DES BACTÉRIES ET DU BIOFILM BACTÉRIEN

L'identification rapide et correcte des bactéries est très importante pour la mise en place du traitement antimicrobien approprié et l'éradication de l'infection. Ainsi, des méthodes de détection sensibles et sélectives sont nécessaires, permettant l'identification des bactéries planctoniques ou du biofilm bactérien. Actuellement, la plupart des laboratoires utilisent des méthodes microbiologiques conventionnelles pour la détection de bactéries dans des échantillons biologiques, environnementaux ou alimentaires, qui reposent sur la culture de bactéries dans des milieux de culture et leur identification en fonction de leurs caractères spécifiques. Cependant, ces méthodes présentent certaines limites, ce qui a conduit à la nécessité de développer de nouvelles méthodes de détection. Outre les méthodes standards, des méthodes moléculaires, immunologiques, optiques et électrochimiques ont également été décrites pour la détection directe de bactéries pathogènes ou indirectement, via des métabolites ou des molécules de QS [1].

Les méthodes microbiologiques sont considérées comme la référence en matière de détection de micro-organismes pathogènes dans des échantillons cliniques ou alimentaires et impliquent l'isolement de micro-organismes en culture pure et leur identification sur la base de caractéristiques morphotinctoriales ou biochimiques, dans certaines conditions de culture.

Ces méthodes de diagnostic utilisent des protocoles de travail simples, mais plusieurs étapes sont nécessaires pour identifier correctement l'agent pathogène dans les échantillons analysés. Une première étape est représentée par la préparation des échantillons, qui implique leur dilution en série, tout en respectant des règles d'asepsie strictes pour éviter toute contamination des échantillons. De plus, le prélèvement d'échantillons doit être effectué avant de commencer le traitement antimicrobien. Par la suite, les dilutions sont étalées sur des milieux de culture spécifiques et les plaques sont incubées plusieurs jours à une température optimale (généralement 37°C) pour la croissance bactérienne. Le choix du milieu de culture pour la croissance des colonies bactériennes est très important et se fait en fonction du type d'échantillon analysé, étant donné les connaissances

nécessaires liées aux micro-organismes que l'on peut trouver dans les produits récoltés, aux besoins nutritionnels de ces bactéries et aux possibilités de culture. La dernière étape consiste en l'isolement des bactéries en cultures pures et leur identification en fonction de leurs caractéristiques morphologiques (cocci, bacilles, spirochètes), tictoriales (coloration de Gram), de culture (aspect, consistance, odeur, relief, taille et forme des colonies) ou en fonction de leurs propriétés enzymatiques (la sécrétion de certaines enzymes ou métabolites et la capacité à métaboliser les sucres) [1].

Les limites des méthodes conventionnelles peuvent être surmontées par des techniques moléculaires, qui permettent un diagnostic plus rapide des infections causées par divers agents pathogènes et une quantification de la concentration bactérienne dans des échantillons réels, y compris lorsque le patient reçoit un traitement antibiotique.

Les tests moléculaires de détection de bactéries reposent sur l'analyse du matériel génétique (ADN ou ARN) et peuvent être appliqués à une très large gamme de micro-organismes. Ces techniques présentent une spécificité et une sensibilité élevées, permettant une identification rapide et précise des bactéries, y compris celles cultivées dans des biofilms. En outre, un autre avantage important de ces méthodes est la capacité d'identifier les gènes impliqués dans la résistance aux antibiotiques, avec une pertinence clinique. Les méthodes moléculaires les plus courantes sont la réaction en chaîne par polymérase (PCR), les techniques d'amplification isotherme, le séquençage de l'ADN et l'hybridation de l'ADN [1].

Les méthodes immunologiques sont largement utilisées pour la détection des bactéries, en raison des avantages qu'elles présentent, tels qu'un temps d'analyse court, une facilité d'utilisation, une spécificité élevée et un coût relativement faible de l'équipement utilisé. Ces méthodes sont basées sur une interaction spécifique antigène-anticorps, qui conduit à une réaction visible dans le milieu de test, si l'antigène est présent dans l'échantillon. Les anticorps utilisés pour effectuer des tests immunologiques peuvent être marqués avec des substances radioactives, fluorescentes ou enzymatiques.

Plusieurs tests immunologiques sont connus : le test immuno-enzymatique (ELISA), les tests immunochromatographiques, également appelés tests à flux latéral (LFT), les tests radio-immunologiques, l'immuno-fluorescence et l'immunoélectrophorèse. Parmi celles-ci, ELISA et LFT sont les méthodes les plus couramment utilisées pour la détection des bactéries [1].

La spectrométrie de masse temporelle par désorption et ionisation laser assistée par matrice (MALDI-TOF-MS) est une technique avancée de spectrométrie de masse (MS) qui a révolutionné l'identification microbienne. Cette méthode combine l'ionisation par désorption assistée par matrice avec la MS à temps de vol, offrant ainsi un moyen rapide et précis d'identifier et de caractériser les composés biologiques. Dans l'analyse MALDI-TOF MS, les protéines structurales bactériennes sont extraites et converties en ions à l'aide d'une technique d'ionisation laser. Le temps de vol de chaque ion est analysé par MS, générant ainsi des spectres de masse uniques avec des pics d'intensité variable dans le rapport masse/charge (m/z). Les spectres de masse ainsi obtenus sont comparés aux spectres stockés dans une base de données de référence, permettant l'identification du micro-organisme dans l'échantillon [1].

La figure 3 présente les avantages et les désavantages des méthodes de détection des bactéries et du biofilm.

Méthodes analytiques pour la détection des bactéries

Microbiologiques (La méthode de référence)	Moléculaires (PCR)	Immunologiques	Spectrométrie de masse	Electrochimiques
- A: $\uparrow$ sensibilité - D: $\uparrow$ spécificité, temps d'analyse long, susceptibilité à la contamination, besoin de conditions spéciales et personnel qualifié, $\uparrow$ quantités de consommables, résultats différents pour différents milieux de culture ou différentes méthodes de comptage	- A: temps d'analyse plus court, $\uparrow$ sensibilité et sélectivité - D: $\uparrow$ coût, susceptibilité à la contamination, besoin d'un technicien bien formé, mutations génétiques dans les séquences cibles $\rightarrow$ $\downarrow$ sensibilité, transfert horizontal de gènes avec d'autres bactéries $\rightarrow$ $\downarrow$ spécificité, eDNA de cellules mortes $\rightarrow$ surestimation des cellules viables	- A: $\uparrow$ sélectivité, kits ELISA disponibles - D: $\downarrow$ sensibilité, besoin d'anticorps spécifiques, sensibilité aux changements de température et de pH, sujet à des résultats faussement négatifs/positifs, réactivité croisée avec des antigènes similaires	- A: temps d'analyse court, $\uparrow$ précision et sensibilité - D: $\uparrow$ coûts d'acquisition de l'appareil, $\uparrow$ coûts de maintenance, besoin d'une étape d'extraction ou de preconcentration, personnel qualifié	- A: temps d'analyse court, détection en temps réel, $\uparrow$ précision et sensibilité, $\uparrow$ prix, petit volume d'échantillon, possibilité d'utiliser des éléments de (bio)reconnaissance qui $\uparrow$ la sélectivité, possibilité de miniaturisation et de portabilité - D: long temps de développement de la méthode

Figure 3. Evaluation des méthodes analytiques pour la détection des bactéries

III. (BIO)CAPTEURS POUR LA DÉTECTION DES BACTÉRIES ET DU BIOFILM BACTÉRIEN

Plusieurs biocapteurs ont été décrits pour la détection et la quantification rapide, sensible et efficace d'un grand nombre de bactéries, ayant des applications dans divers domaines tels que la médecine, la surveillance environnementale ou la sécurité alimentaire. Les biocapteurs sont des dispositifs analytiques qui combinent un élément de reconnaissance biologique avec un transducteur physique pour détecter et quantifier la présence de composés spécifiques. Le biorécepteur est responsable de la spécificité du biocapteur, du fait de son interaction avec l'analyte, et peut être représenté par des biomolécules (anticorps, enzymes, acides nucléiques, bactériophages, récepteurs cellulaires ou protéines) ou par des éléments de reconnaissance biomimétiques (polymères à empreinte moléculaire (MIPs) ou aptamères). Les éléments de reconnaissance sont immobilisés à la surface du transducteur par une couche d'immobilisation, qui assure la stabilité et l'activité du biorécepteur. Le transducteur convertit l'interaction biologique en un signal mesurable et peut être de plusieurs types : optique, électrochimique, piézoélectrique ou thermique.

Les *biocapteurs optiques* sont fréquemment utilisés pour le diagnostic en raison de leur faible coût et de leur résistance au bruit électrique. Parmi les techniques optiques les plus largement utilisées pour la détection de bactéries figurent la spectroscopie de fluorescence, la résonance plasmonique de surface (SPR) et la diffusion Raman exaltée par effet de surface (SERS) [6].

Les *(bio)capteurs électrochimiques* sont très fréquemment utilisés pour la détection et la quantification de bactéries dans des échantillons complexes en raison des avantages qu'ils présentent, tels qu'une grande sensibilité, un temps d'analyse court et la possibilité de miniaturisation et d'intégration dans des systèmes portables. Ces (bio)capteurs peuvent être classés en capteurs ampérométriques / volt-ampérométriques, potentiométriques, conductométriques et impédimétriques, parmi lesquels l'ampérométrie / volt-ampérométrie (la voltamétrie cyclique (CV), la voltammétrie à impulsions différentielles (DPV) et la voltammétrie à ondes carrées (SWV)) et l'impédimétrie sont les techniques électrochimiques les plus couramment utilisées pour la détection des bactéries. Ces techniques peuvent être utilisées soit pour la détection directe de l'analyte, lorsqu'il est électroactif, soit pour la détection indirecte, lorsqu'on utilise une sonde redox, présente soit à la surface de l'électrode de travail en la liant à des éléments de reconnaissance moléculaire, soit dans la solution d'électrolyte [1].

Les techniques voltamétriques reposent sur l'étude de la dépendance entre l'intensité du courant électrique généré par l'oxydation ou la réduction des espèces électroactives dans l'échantillon testé et la différence de potentiel appliquée entre les électrodes de la cellule électrochimique.

L'introduction des électrodes sérigraphiées (SPE) a représenté une avancée significative dans le domaine de l'électrochimie, en simplifiant et en miniaturisant les équipements, facilitant ainsi leur intégration dans des appareils portables ayant des applications dans les analyses de terrain. Les SPE sont des électrodes à usage unique produites en série, évitant ainsi les problèmes de contamination, notamment lorsqu'elles sont utilisées pour la détection bactérienne. De plus, les SPE sont faciles à utiliser, nécessitent de petits volumes d'échantillons et offrent une durée d'analyse courte. Les progrès de la technique d'impression ont permis la modification de la surface de l'électrode avec différents nanomatériaux ou bioéléments, qui améliorent les performances analytiques de la méthode de détection.

Une direction prometteuse dans le développement de (bio)capteurs électrochimiques est l'utilisation d'aptamères comme éléments de bioreconnaissance. Les aptamères sont des courts oligonucléotides monocaténares d'ADN ou d'ARN, sélectionnés artificiellement pour leur capacité à se lier avec une grande spécificité à une molécule cible. Les aptamères présentent des caractéristiques supérieures à celles des anticorps, telles qu'une grande stabilité dans des conditions extrêmes (température, pH, composition du milieu), une synthèse et une fonctionnalisation faciles et une capacité de rétention du comportement de liaison après immobilisation [7].

Compte tenu que les molécules QS représentent d'importants biomarqueurs des infections bactériennes, la détection de ces molécules à l'aide de (bio)capteurs électrochimiques représente une alternative très utile dans le diagnostic et la surveillance des infections bactériennes. Ainsi, un aptacapteur électrochimique pour la détection de 3-O-C₁₂-HSL a été élaboré, en utilisant une SPE à base de carbone modifié avec des nanoparticules d'or. Chaque étape de la fabrication de l'aptasenseur (dépôt de nanoparticules d'or, immobilisation de l'aptamère, incubation avec l'analyte) a été optimisée et caractérisée électrochimiquement. Différentes sondes redox en solution ont été évaluées et les meilleurs résultats ont été obtenus en présence de [Fe(CN)₆]⁴⁻/[Fe(CN)₆]³⁻. L'affinité de liaison de 106,7 nM pour l'aptamère immobilisé a été déterminée par résonance plasmonique de surface. La quantification de 3-O-C₁₂-HSL a été réalisée en utilisant le signal électrochimique de la sonde redox avant et après incubation avec l'analyte. L'aptacapteur a présenté un domaine logarithmique de 0,5 à 30 μ M, avec une limite de détection de 145 ng mL⁻¹ (0,5 μ M). L'aptacapteur a été appliqué avec succès à l'analyse d'échantillons réels (échantillons d'urine enrichis, milieux de croissance microbiologiques enrichis et cultures microbiologiques) [8].

Les capteurs électrochimiques peuvent également être utilisés avec succès pour identifier le biofilm bactérien. Ainsi, une SPE modifiée avec des nanomatériaux a été développée pour la détection *in situ* du biofilm bactérien. Cette approche permet une détection électrochimique simple, rapide, très sensible et sélective du cdGMP. Le signal électrochimique du cdGMP a été optimisé après avoir testé plusieurs matériaux électrode et différents nanomatériaux, solutions électrolytiques, pH et paramètres de technique électrochimique. En utilisant le pic anodique du cdGMP sur des SPE modifiées avec des nanotubes de carbone, le capteur a montré une excellente sensibilité, avec un domaine linéaire de 25 nM–1 μ M et une limite de détection de 15 nM. Le capteur a permis la détection sélective du cdGMP, avec une faible interférence d'autres molécules et a été appliqué avec succès à des analyses d'échantillons réels (biofilm de laboratoire produit par diverses espèces bactériennes sur des intervalles de temps distincts) [9].

CONCLUSIONS

La contamination avec des bactéries pathogènes et de biofilm des aliments à base de poisson a un impact négatif sur la santé publique. La quantification des molécules impliquées dans le QS bactérien et dans la formation du biofilm peut donner des informations concernant l'évolution de la contamination bactérienne. Il existe plusieurs méthodes d'analyse pour la détection des bactéries : microbiologiques, moléculaires, immunologiques, MS et (bio)capteurs. Parmi elles, les avantages des (bio)capteurs électrochimiques les recommandent pour la détection *in situ* de la contamination bactérienne ou biofilm des aliments.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été soutenu par le programme de recherche et d'innovation Horizon Europe de l'Union européenne dans le cadre de projet "European integration of new technologies and social-economic solutions for increasing consumer trust and engagement in seafood products" (FishEuTrust), No. 101060712/2022.

RÉFÉRENCES

- [1] Capatina D, Feier B, Hosu O, Tertis M, Cristea C. Analytical methods for the characterization and diagnosis of infection with *Pseudomonas aeruginosa*: A critical review. *Anal Chim Acta* 2022;1204.
- [2] Dhowlaghar N, De Abrew Abeysundara P, Nannapaneni R, Schilling MW, Chang S, Cheng WH, et al. Biofilm formation by *Salmonella* spp. in catfish mucus extract under industrial conditions. *Food Microbiol* 2018;70:172–80
- [3] Azimi S, Klementiev AD, Whiteley M, Diggle SP. Annual Review of Microbiology Bacterial Quorum Sensing During Infection. *Annu Rev Microbiol* 2020;74:2020.
- [4] L. Khatoun Z, McTiernan CD, Suuronen EJ, Mah TF, Alarcon EI. Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. *Heliyon* 2018;4(12):e01067.
- [5] Carrascosa C, Raheem D, Ramos F, Saraiva A, Raposo A. Microbial biofilms in the food industry—a comprehensive review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021;18: 1–31
- [6] Du H, Li Z, Wang Y, Yang Q, Wu W. Nanomaterial-based Optical Biosensors for the Detection of Foodborne Bacteria. *Food Reviews International*. Taylor and Francis Ltd.; 2022. 38: 655–84.
- [7] Li, F.; Yu, Z.; Han, X.; Lai, R.Y. Electrochemical Aptamer-Based Sensors for Food and Water Analysis: A Review. *Analytica Chimica Acta* 2019, 1051: 1–23
- [8] Capatina D, Lupoi T, Feier B, Blidar A, Hosu O, Tertis M, Olah D, Cristea C, Oprean R. Label-Free Electrochemical Aptasensor for the Detection of the 3-O-C12-HSL Quorum-Sensing Molecule in *Pseudomonas aeruginosa*. *Biosensors*. 2022; 12(7):440.
- [9] Capatina D, Feier B, Olah D, Cristea C, Oprean R. Biofilm monitoring through the detection of cyclic diguanosine-monophosphate with an easy-to-use electrochemical sensor. *Electrochimica Acta*. 2024; 489:144231.