



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعرييرج

Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

## Intitulé :

**Méthodes actuelles et émergentes de détection rapide des  
germes pathogènes d'origine alimentaire : Recherche  
bibliographique**

## Présenté par :

BOUGUERRA Nabila & HANNIT Nawal & TAHRAOUI Dounia

Soutenu le 25/06/2023, Devant le Jury :

<b>Président:</b>	Mme. SOUAGUI Yasmine	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
<b>Encadrant:</b>	Mme. ZERROUG Amina	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
<b>Examineur:</b>	Mme. CHENOUF Nadia Safia	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2022/2023



**CLASS OF**  
**2023**

## *Remerciement*

*« Et la fin de leur invocation : " Louange à Allah, Seigneur de l'Univers " »*

Au terme de ce travail, nous tenons tout d'abord à remercier Dieu " **ALLAH** " le tout puissant de nous avoir donné courage, la volonté et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et d'accomplir ce modeste travail.

Nous voudrions présenter nos remerciements à notre encadrant Madame **ZERROUG Amina** pour sa précieuse aide, ces orientations, sa disponibilité et ses précieux conseils.

Nous remercions par ailleurs vivement les membres du jury de nous avoir fait l'honneur de juger notre travail et d'assister à la soutenance.

Finalement, nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

*Nabila, Nawal, Dounia*



## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à la mémoire de ma sœur, à mes chers parents ; Vos sacrifices, votre amour indéfectible et vos encouragements constants ont été la force qui m'a porté vers l'excellence.*

*À mon très cher époux pour sa patience et son aide précieuse.*

*À ma famille et ma belle-famille surtout vous avez été mon inspiration, mon soutien inébranlable tout au long de mon parcours.*

*À mes deux merveilleux enfants Amine et Farah vous êtes la lumière de ma vie ma plus grande fierté.*

*À tous ceux qui ont joué un rôle dans ma vie, cette dédicace est également pour vous, mes professeurs bienveillants, mes chères amies et tous ceux qui ont contribué à ma réussite.*

*Nabila*







## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes chers parents qui ont été toujours à mes côtés et m'ont toujours soutenu tout au long de ces années d'études malgré le refus de tous, sans eux je ne serais pas qui je suis aujourd'hui.*

*À ma petite famille, mon mari et mon fils Wael. Vous êtes ma source de bonheur, de force et de motivation.*

*Nawal*





## *Dédicace*

*A mon très chère père Abdelouahab , pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour , pour son amour , et ses encouragements ,q'ALLAH te protège et t'accorde santé et longue vie .*

*A ma très chère mère Ouahiba , la source de tendresse et l'exemple du dévouement , pour ses prières à moi et ses encouragements , q'ALLAH te protège et t'accorde santé et longue vie .*

*A ma chère sœur Asma et mes chères frères : Fateh , Hichem , Mahdi et Yaakoub .*

*Mes nièces mes neveux : Dina , Nouha , Adem , Rassim*

*A mes amis : Nawal , Nabila , Kahina , Chaima , Sara et Dounia*

*A tous mes enseignants, et à toute la promotion Microbiologie Appliquée 2023*

*Dounia*



## Table des matières

المخلص

Résumé

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction..... 1

### **Chapitre I. Méthodes conventionnelles de détection des agents pathogènes**

I.1.Méthodes de culture (comptage et analyse) ..... 3

I.2. Méthodes immunologiques ..... 3

I.2.1.Essai immuno- adsorption enzymatique (ELISA) ..... 3

I.2.2.Immuno assai à flux latéral(LFIA) ..... 4

I.3.Méthodes moléculaires ..... 5

I.3.1.Amplification par réaction de polymérisation en chaîne (PCR)..... 5

I.3.2. Amplification isothermiques..... 7

a)Amplification isothermiquemédiée par boucle d'ADN (LAMP)..... 8

b) Amplification par la séquence d'acide nucléique (NASBA)..... 10

I.3.3.Métagénomique ..... 11

I.4. La spectrométrie de masse (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight) (MALDI –TOF) ..... 12

### **Chapitre II. Méthodes émergentes de détection rapide des agents pathogènes**

II.1. Impression moléculaire ..... 13

II.2.La technique des puces à ADN (DNA microarray) ..... 14

II.3.Omique et CRISPER CAS ..... 14

II.4.Essai à base d'aptamère ..... 16

II.5. Biocapteurs (biosenseurs) ..... 17

a) Biocapteurs optiques.....18

b) Biocapteurs électrochimiques.....20

c)Les biocapteurs sensibles à la masse.....22

d) Biocapteur micro fluidique.....22

### **Chapitre III.Les avantages et les inconvénients des différentes techniques conventionnelles et émergentes de détection des pathogènes**

III.1. Caractéristiques des techniques immunitaires .....24

III.2. Caractéristiques des méthodes moléculaires .....24

III.3. Caractéristiques de la spectrométrie de masse MALDI TOF.....	25
III.4. Caractéristiques des techniques émergentes de détection des pathogènes .....	25
Conclusion .....	27
Références bibliographiques.....	28

## الملخص

خلال السنوات الأخيرة الماضية، أصبحت الأمراض التي تنقلها الأغذية عائقاً رئيسياً أمام الصحة العامة العالمية، بسبب تلوث الأطعمة بعدة أنواع من المكروبات، لذلك من المهم جداً الكشف عن هذه العوامل الممرضة بطريقة سريعة وموثوقة لضمان الأمن الغذائي ومنع انتشارها عبر الغذاء. الطرق القديمة أو ما يسمى بالطرق التقليدية المستخدمة للكشف عن الكائنات الدقيقة المسببة للأمراض مثل التقنيات التي تتضمن أساليب الزراعة، الطرق المناعية و تقنيات الحمض النووي قياس الطيف الكتلي هذه الأخيرة يمكن ان تكون طويلة وشاقة، ولهذا السبب فالسنوات الأخيرة ظهرت تقنيات حديثة مثل أجهزة الاستشعار الحيوي البصرية والكهروكيميائية والحساسة للكتلة، وتقنيات الأحماض النووية مثل التكنولوجيا *omique* ونظام *CRISPER CAS*، رقائق الحمض النووي على شكل منصات مصغرة، بالإضافة إلى الاختبار القائم على الأبتامر والطباعة الجزيئية. هذه الأساليب تعطي نتائج موثوقة وفي وقت قصير، سهلة الاستعمال، حساسة وأقل تكلفة. بصفة عامة، جميع تقنيات الكشف عن مسببات الأمراض التي تنقلها الأغذية لها مبدأ عمل خاص بها، و عدة فوائد مع حدود وتطبيقات معينة.

**الكلمات المفتاحية :** مكروبات ممرضة، الاساليب الناشئة، أساليب الكشف، الأساليب التقليدية.



## **Résumé**

Au cours des dernières années, les maladies d'origine alimentaire sont devenues un obstacle majeur pour la santé publique mondiale en raison de la contamination des différents aliments par des agents pathogènes spécifiques. Donc, il est important de détecter les pathogènes d'origine alimentaire de façon rapide et fiable pour garantir la sécurité alimentaire et prévenir la propagation des maladies d'origine alimentaire. Les méthodes conventionnelles ou dites traditionnelles utilisées pour la détection des microorganismes pathogènes telles que les techniques impliquant les méthodes de culture, les méthodes immunologiques, les méthodes moléculaires et la spectrométrie de masse peuvent être longues et laborieuses, c'est pour cette raison que ces dernières années il y a eu une émergence des techniques modernes, comme les biocapteurs optiques, électrochimiques et ceux sensibles à la masse, les techniques à base d'acide nucléique telles que la technologie omique et le système CRISPER CAS, les puces à ADN qui sont des plateformes miniaturisées, en outre, les essais à base d'aptamère et l'impression moléculaire. Ces méthodes donnent des résultats fiables en peu de temps, faciles à la manipulation, sensibles et moins coûteuses. En général, chaque technique de détection des agents pathogènes d'origine alimentaire a un principe spécifique, présentant des avantages, des limites et des applications précises.

**Mots-clés :** Germes pathogènes, Méthodes émergentes, Méthodes de détection, Méthodes conventionnelles.

## **Abstract**

In recent years, food-borne disease has become a major public health issue, due to the contamination of foods with specific pathogens. Therefore, it is important to detect foodborne pathogens quickly and reliably to ensure food security and prevent the spread of foodborne diseases. Conventional or so-called traditional methods used for the detection of pathogenic microorganisms such as techniques involving cultivation methods, immunological methods, molecular methods and mass spectrometry can be long and laborious, consequently in recent years there has been an emergence of modern techniques, such as optical, electrochemical and mass-sensitive biosensors, nucleic acid techniques such as omic technology and the CRISPER CAS system, DNA microarray that are miniaturized platforms, in addition, aptamer-based testing and molecular printing. These methods give reliable results in a short time, easy to handle, sensitive and less expensive. In general, each food-borne pathogen detection technique has a specific principle, with specific benefits, limitations and applications.

**Keywords:** Pathogenic germs, Emerging methods, Detection methods, Conventional methods.

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Caractéristiques des techniques immunitaires .....	24
<b>Tableau II:</b> Caractéristiques des méthodes moléculaires. ....	24
<b>Tableau III :</b> Caractéristiques de la spectrométrie de masse MALDI TOF .....	25
<b>Tableau IV:</b> Caractéristiques des techniques émergentes de détection des pathogènes ...	25

## Liste des Figures

<b>Figure 1:</b> Schéma des composants généraux et de la conception des bandes en LFIA .....	5
<b>Figure2:</b> PCR en temps réel avec sonde spécifique .....	7
<b>Figure3:</b> Le processus d'amplification de l'ADN par la méthode LAMP .....	9
<b>Figure4:</b> Les étapes d'amplification de l'ADN par la méthode NASBA.....	11
<b>Figure5:</b> Principe du MALDI TOF .....	12
<b>Figure6:</b> Schéma représentatif des polymères à empreinte moléculaire (MPI).....	13
<b>Figure7:</b> Principe des puces à ADN.....	14
<b>Figure8:</b> Les étapes de détection de <i>Staphylococcus aureus</i> par système CRISPR-CAS cas. ....	13 16
<b>Figure9:</b> Représentation schématique de la détection d'agents pathogènes utilisant des sondes aptamères marquées par un fluorophore.....	17
<b>Figure10:</b> Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un biocapteur..	18
<b>Figure11:</b> Illustrations schématiques des différentes approches de détection par transduction du signal utilisé dans un biocapteur optique.....	20
<b>Figure12:</b> Diagramme schématique des (A) biocapteurs ampérométriques/voltamétriques, (B) potentiométriques, (C) biocapteur impédométriques .....	21
<b>Figure13:</b> Principe de fonctionnement du biocapteur piézoélectrique .....	22
<b>Figure14:</b> Différents biocapteurs à système microfluidique .....	23



## Liste des abréviations

**Ac/Ag** : Anticorps /Antigènes

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ADNc** : Acide désoxyribonucléique complémentaire

**ADNdb** : Acide désoxyribonucléique double brin

**ADNp** : Acide désoxyribonucléique Polymérase

**AMV-RT**: *Avian myeloblastosis* Virus Reverse Transcriptase

**API** : Analytical Profile Index

**ARN**: Acide ribonucléique

**BIP**: Backward Inner Primer

**Bst**: *Geobacillus stearothermophilus*,

**CRISPER CAS**: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-CRISPR associated

**ELISA**: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

**FIP**: Forward Inner Primer

**FRET**: Fluorescence Resonance Energy Transfer

**LB**: Loop Backward

**LF**: Loop Forward

**LFIA**: Lateral Flow Immunoassay

**LOC**: Lab On a chip

**LSPR**: Localized Surface Plasmon Resonance

**M/z**: masse-charge

**MALDI –TOF**: Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight

**MIP**: Molecular Imprinted Polymers

**MS**: Masse spectrophotometry

**NASBA**: Nucleic Acid Sequence-Based Amplification

**NGS** : Next Generation sequencing

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PCR**: Polymerase Chain Reaction

**PDMS** : Polydiméthylsiloxane

**QCM**: Quartz crystal microbalance

**QD** : Quantum Dot / point quantique

**q-PCR** : Quantitative Polymerase Chain Reaction

**RNase H**: Ribonucléase

**RT-PCR:** Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

**Sal FOS:** Salmonella Foodborne Syst-OMICS

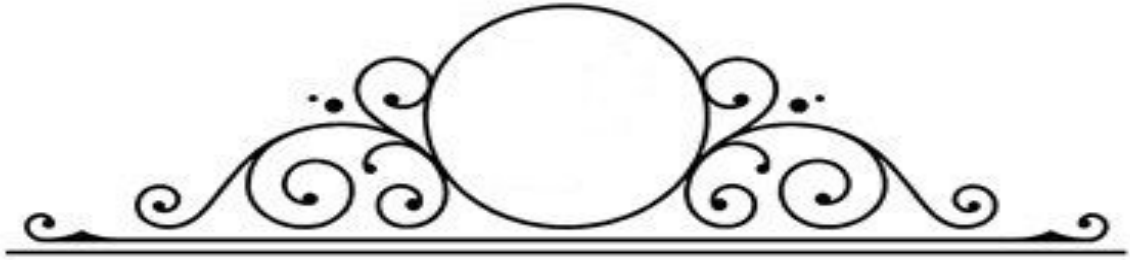
**SELEX:** Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment.

**SERS:** Surface-Enhanced Raman Spectroscopy

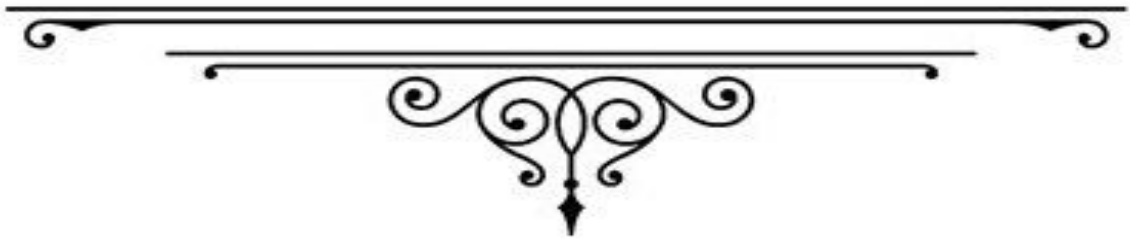
**SHERLOCK:** Specific High-Sensitivity Enzymatics Reporter Unlocking

**SPR :** Surface Plasmon Resonance

**μPADs :** Microfluidic paper-based analytical devices



# **INTRODUCTION**



## **Introduction**

Chaque individu a le droit d'avoir accès à une nourriture sûre et convenable, il n'y a pas une sécurité alimentaire sans sécurité sanitaire des aliments. Ainsi, la sécurité sanitaire de l'aliment est une part essentielle de la composante d'utilisation de la sécurité alimentaire qui compte quatre dimensions : disponibilité, accès, stabilité et utilisation (FAO, 2019).

L'Organisation Mondiale de la Santé « OMS » classe la sécurité alimentaire et la sécurité sanitaire des aliments au même titre, car les aliments insalubres causent de graves maladies touchant particulièrement les enfants en bas et jeune âge, les personnes âgées et les malades chroniques. L'OMS a évalué que 600 millions de personnes soit 1/10 dans le monde tombent malades suite à la consommation des aliments contaminés, 420 000 décès sont enregistrés parmi ces derniers (Panisset et al., 2003). La mortalité est élevée chez les enfants de moins de 5 ans, en plus, les aliments insalubres influent directement sur la productivité et les dépenses de santé, ainsi que sur le développement socio-économique.

Les maladies d'origine alimentaire sont causées par des agents pathogènes comme : les bactéries (*Salmonella*, *Compylobacter*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*), virus (Virus de l'hépatite A), parasites (*Trematoda*, *Ascaris*), moisissures (*Aspergillus flavus*) (FAO, 2007) ou chimique comme les toxines naturelles (OMS, 2020). Tous ces agents pathogènes peuvent engendrer de graves maladies qui peuvent conduire à la mort chez les consommateurs et causer des épidémies alimentaires, notamment les toxi-infections alimentaires qui causent des syndromes comme le syndrome hémolytique urémique causé par certain sérotype de *Escherichia coli* entérohémorragiques et d'autres maladies auto-immunes (Panisset et al., 2003).

Dans le but de lutter contre ces maladies d'origine alimentaire, l'OMS soutient les efforts mondiaux de promotion d'une nourriture sans danger et élimine les menaces de la santé publique liées à l'alimentation (FAO, 2019); en se basant sur deux volets essentiels concernant la prévention et la détection.

Le volet préventif repose sur le respect rigoureux des normes d'hygiène et la salubrité des produits alimentaires depuis la production jusqu'à la consommation connues sous le nom de *Codex Alimentarius*. Ces produits commercialisés doivent répondre à l'exigence et aux différents critères de la qualité nutritionnelle, hygiénique, organoleptique,...etc. (Bonney et al., 2002).

Le deuxième volet repose sur la détection et l'analyse des agents pathogènes par des méthodes dites conventionnelles telles que la culture microbiologique, les tests sérologiques et



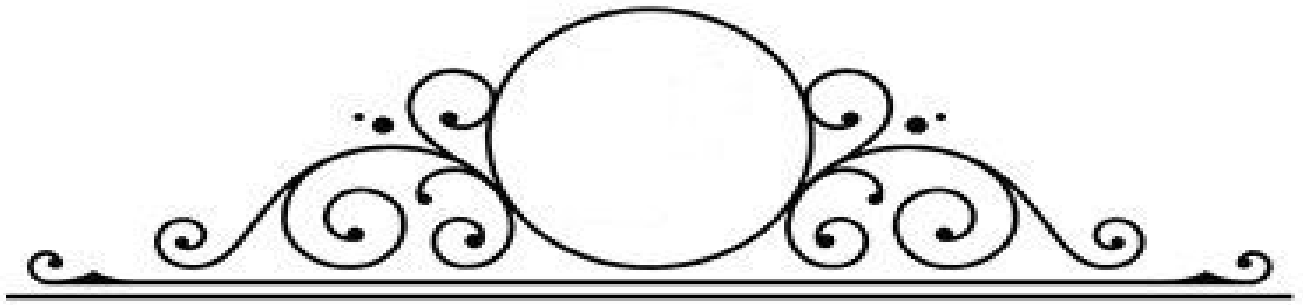
les méthodes moléculaires, toutes ses procédures présentent la base de la détection des pathogènes au fil des nombreuses années dans l'industrie alimentaire et les laboratoires de recherche. Néanmoins ces méthodes présentent certaines limites, en ce qui concerne le temps de réponse, la spécificité et la sensibilité (**Panisset et al., 2003**). C'est pourquoi de nouvelles techniques de détection des pathogènes d'origine alimentaire sont apparues ; plus développées, offrant des avantages significatifs par rapport aux méthodes classiques, quelles sont ces nouvelles techniques ? et dans quelle mesure sont-elles plus efficaces que les techniques anciennes ?

Dans ce contexte, une série de méthodes de détection conventionnelles et émergentes rapides des agents pathogènes ont fait l'objet de notre étude bibliographique pour mieux connaître leurs principes de fonctionnement et les résultats attendus. Ce mémoire est présenté en 3 chapitres :

Le premier, est consacré aux méthodes conventionnelles : Les méthodes de culture, les méthodes immunologiques, les méthodes moléculaires et la spectrométrie de masse MALDI-TOF dans le but de connaître leurs principes.

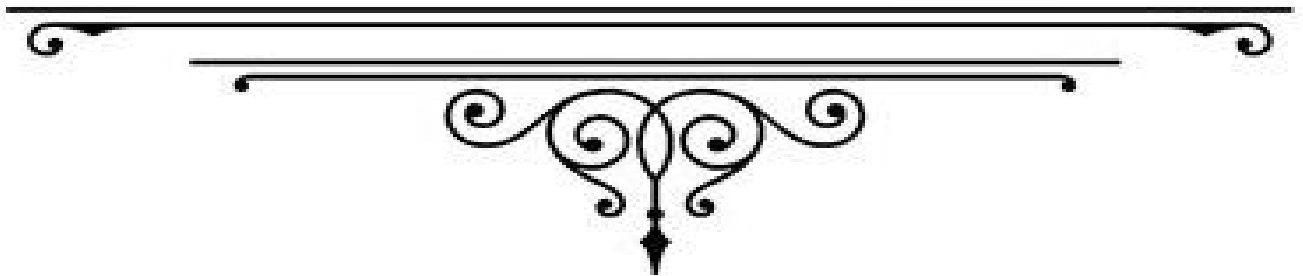
Le second chapitre est consacré aux méthodes émergentes et rapides de détection des agents pathogènes comme la technique d'impression moléculaire, les puces à ADN, Omique et CRISPER CAS, les biocapteurs et leurs principes.

Le troisième chapitre explique les avantages et les inconvénients des méthodes conventionnelles et des méthodes émergentes.



## **Chapitre I.**

### **Méthodes conventionnelles de détection des agents pathogènes**



### **I.1.Méthodes de culture (comptage et analyse)**

Les méthodes de détection culturales ou dites classiques, standards ou traditionnelles, impliquent le prélèvement d'échantillons à partir d'un aliment, suivi par un pré- enrichissement et un enrichissement dans le but de confirmer la présence de microorganismes (**Gracias et Mckillip, 2004**) ; et un isolement sur différents milieux de culture sélectifs et une incubation à des températures spécifiques pour permettre la croissance de l'agent pathogène en colonies (**Fernández-fuentes et al., 2012**).

Après purification, l'identification des agents pathogènes peut être faite avec une observation microscopique et macroscopique. Pour l'observation microscopique, la cytométrie est parfois utilisée pour dénombrer aussi bien les cellules vivantes que mortes dans une suspension à l'aide des colorants comme le bleu de méthylène (méthode de Breed), coloration de Gram (Gram positif et négatif). L'observation des cellules peut également se faire sur des lames classiques ou des lames de type hématimètre comme les cellules de Thoma et Malassez (**Bonnefoy et al., 2002**). Concernant l'observation macroscopique, elle nous renseigne sur la morphologie, la couleur des colonies, la pigmentation (**Bouguelia, 2013**).

Des tests biochimiques peuvent également être réalisés permettant la distinction des genres et des espèces microbiens à l'aide d'un système de galeries API (**Bouguelia, 2013**); Au bout des tests culturels, un test de sensibilité aux antibiotiques peut être effectué par des techniques de dilution en milieu gélosé ou en milieu liquide ainsi que par des disques et des bandelettes en milieu gélosé (**Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec, 2017**).

### **I.2. Méthodes immunologiques**

Ce sont des techniques de détection à large spectre d'agents pathogènes, basées sur les interactions anticorps-antigènes ainsi que sur des réactions enzymatiques, parmi ces tests on peut citer l'ELISA (Essai immuno-adsorption enzymatique) et le LFIA (Immuno assai à flux latéral).

#### **I.2.1. Essai immuno- adsorption enzymatique (ELISA)**

C'est une technique de dosage immuno-enzymatique qui permet la détection spécifique d'une grande variété d'analytes cibles dans différents types d'échantillons. Depuis son invention, l'ELISA a rapidement trouvé diverses applications dans les domaines de l'industrie alimentaire, de l'environnement, de la biotechnologie et de la chimie (**Vázquez-villegas et al., 2018**).

Le principe de base de cette technique repose sur une liaison spécifique entre les anticorps et les antigènes. Le processus de liaison de l'antigène peut se dérouler de différentes manières en fonction des protocoles appliqués. L'antigène est immobilisé sur un support solide et peut se lier à un anticorps spécifique, qui est lui-même détecté par la suite par un anticorps secondaire couplé à une enzyme. Entre chaque étape, la plaque est minutieusement lavée avec une solution de lavage. Le substrat est ensuite ajouté pour développer la réaction enzymatique et produire la couleur à partir de laquelle l'intensité du signal peut être mesurée. Ce signal est en fonction directe des antigènes présents à la surface (**Vázquez-villegas et al., 2018**).

Différents protocoles sont utilisés dans la pratique clinique selon le but de l'essai, le type de l'échantillon analysé et la pureté des réactifs, tels que les protocoles directs, indirects, sandwich et compétitifs (**Vázquez-villegas et al., 2018**).

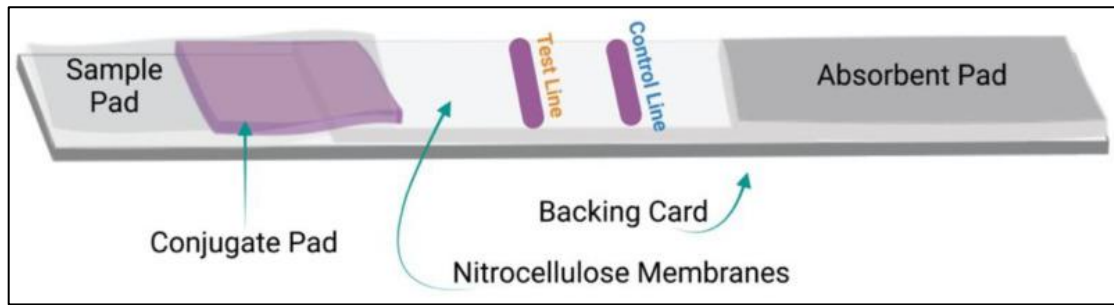
ELISA format sandwich est la forme la plus courante qui implique deux anticorps (primaires et secondaires). L'anticorps primaire est immobilisé sur les parois des puits des plaques de microtitration, l'antigène cible se lie à l'anticorps primaire immobilisé alors que l'anticorps secondaire qui reconnaît un épitope différent de l'antigène est ajouté aux puits cet anticorps est marqué par une enzyme d'où la détection rapide simple et fiable (**Nehra et al., 2022**).

Parmi les différentes enzymes, la peroxydase de raifort, la phosphatase alcaline et la  $\beta$ -galactosidase sont couramment utilisées pour le marquage des anticorps (**Walker, 2009**) ; Un élément important qui affecte le test ELISA est la spécificité de l'anticorps utilisé. Ce dernier peut affecter le processus de réaction et entraîner une faible spécificité et sensibilité, donnant ainsi lieu à de faux résultats. Pour éviter cela, ELISA est souvent combiné à d'autres techniques de détection (**Chukwuka et al., 2022**).

### **I.2.2. Immuno essai à flux latéral (LFIA)**

C'est une méthode immunologique en flux latéral, également appelée test immunochromatographie en bande utilisé pour la détection quantitative d'une grande variété d'antigène/anticorps (**Chukwuka et al., 2022**). Dans ce test il y a quatre parties (**figure 1**): Un tampon d'échantillon, qui est la zone sur laquelle l'analyte cible est déposé, un tampon conjugué qui contient des anticorps où des antigènes conjugués par un colorant ou une enzyme, une membrane de nitrocellulose contenant une ligne de test et une ligne de contrôle combinées avec des éléments de bio reconnaissance (anticorps ou antigènes) et un tampon d'absorption qui réserve les déchets (l'analyte non liée) (**Bahadır et Sezgintürk, 2016**);





**Figure 1:** Schéma des composants généraux et de la conception des bandes en LFIA.

**Sample Pad :** Tampon d'échantillon. **Conjugate Pad :** Tampon conjugué, **Nitrocellulose membranes :** Membrane de nitrocellulose. **Test Line :** Ligne de test, **Control Line :** Ligne de contrôle **Backing card :** Carte de support. **Absorbent Pad :** Tampon d'absorption  
(Alhabbab, 2022).

Le principe de cette technique consiste à déposer un échantillon liquide contenant l'analyte d'intérêt sur une membrane de nitrocellulose, lorsqu'il atteint le tampon conjugué où se trouvent les anticorps ou les antigènes marqués, ces derniers se lient à l'analyte cible (Ag/Ac) et forment un complexe anticorps-antigènes marqués, puis l'écoulement de ce complexe à travers la membrane de nitrocellulose par capillarité, jusqu'à l'endroit où l'interaction se produit sur la ligne de test et de contrôle. La ligne de test comprend les premiers anticorps ou antigène spécifique à la cible et les seconds anticorps /antigènes spécifique aux Ac/Ag conjugués sont immobilisés sur la ligne de contrôle qui se lieront au complexe anticorps-antigènes et produiront des lignes colorées observées à l'œil nu. Le liquide restant est absorbé par le tampon (Ahmad Najib et al., 2022).

LFIA est un test rapide, qui peut se faire soit en format sandwich (direct) et c'est le plus utilisé soit en format compétitif (indirect) (Bahadır et Sezgintürk, 2016).

### I.3.Méthodes moléculaires

#### I.3.1.Amplification par réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

La PCR (polymerase chain reaction) est une méthode d'amplification *in vitro* des séquences d'acide nucléique. Cela se fait par une série d'étapes de cycles thermiques utilisant l'ADN polymérase thermostable et des amorces nucléotidiques (également appelés oligonucléotides ou primers) (Chukwuka et al., 2022).

Le processus implique une dénaturation de l'ADN, l'hybridation ou annealing des amorces et une élongation par l'ADN polymérase. Les brins néosynthétisés deviennent à leur tour matrice de la réaction suivante. La réaction est réalisée grâce à un appareil appelé

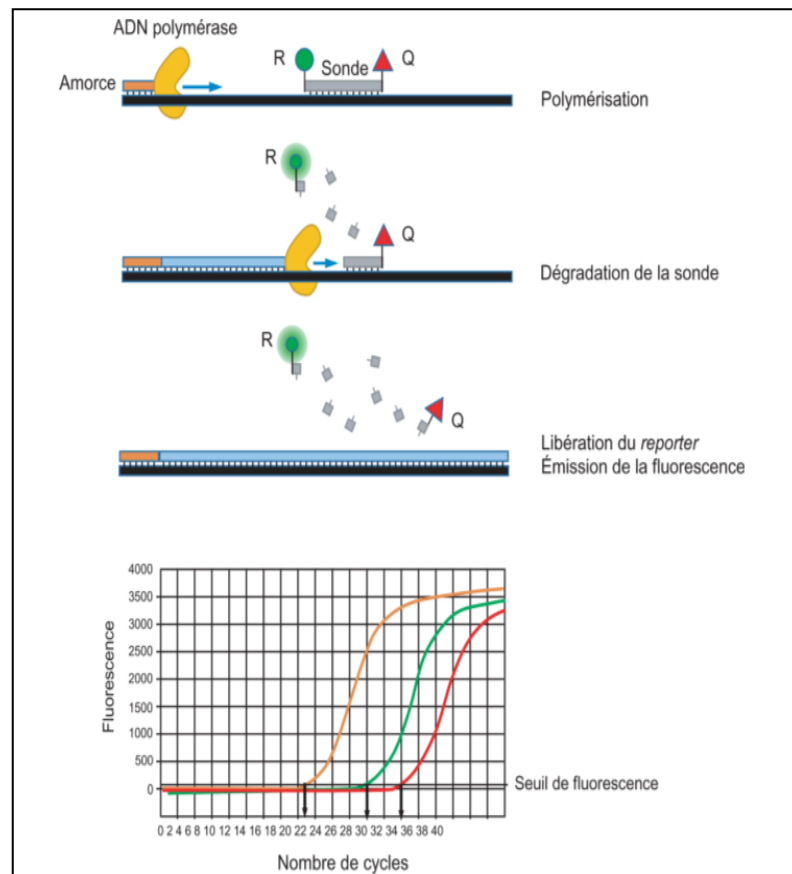
thermocycleur et permet de produire plusieurs copies de la séquence cible à partir de très faibles concentrations initiales d'ADN en moins d'une heure (Uhel et Zafrani, 2019) ; Le produit de PCR amplifié est visible sous forme de bandes après coloration au GelRed™ et GelGreen™ sur un gel d'électrophorèse (Mikhail et al., 2017).

Il existe différentes techniques de PCR, on citera la :

- ✓ **RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction)** qui s'applique à l'étude des ARN, où grâce à une enzyme transcriptase inverse l'ARN est copié en une molécule d'ADN complémentaire (ADNc) (Uhel et Zafrani, 2019) ;
- ✓ **La PCR en temps réel ou la q-PCR (Quantitative Polymerase Chain Reaction)**, permet la détection et la quantification de l'ADN en cours de l'amplification. Cette réaction peut être réalisée en utilisant un marqueur fluorescent (SYBR® green) ou une sonde de détection fluorogénique (Taq-man®) qui s'hybride de manière spécifique sur le fragment d'ADN. La fluorescence est mesurée à chaque cycle (Lacombe et Marchand, 2015).

On a une sonde spécifique qui se fixe au centre de la région à amplifier et qui est parallèle à la paire d'amorce. Cette sonde est composée d'un fluorophore rapporteur (reporter, R) et d'un désactivateur (quencher, Q) qui bloque l'émission de fluorescence par le rapporteur lorsqu'ils sont en proximité. Au cours de l'élongation, l'activité exonucléase de l'ADN polymérase dégrade la sonde, libérant ainsi le rapporteur qui provoque l'émission de fluorescence. La vitesse d'émission de fluorescence est directement liée à la quantité d'amplicons produits au cours de la réaction comme c'est illustré dans la figure 2 (Uhel et Zafrani, 2019).

La PCR en temps réel fournit une analyse rapide supérieure à celle de la PCR traditionnelle, en plus elle permet également d'obtenir des informations quantitatives sur la quantité d'ADN cible présente dans un échantillon (Lacombe et Marchand, 2015; Uhel et Zafrani, 2019).



**Figure 2:** PCR en temps réel avec sonde spécifique(Uhel et Zafrani, 2019).

- ✓ **La PCR multiplex**, c'est une PCR qui consiste à utiliser simultanément deux amorces ou plus, chacune ayant une spécificité particulière, dans la même réaction (Zeng et al., 2018). Une telle procédure permet la détection simultanée de deux ou plusieurs agents microbiens différents dans un seul échantillon (Sachse et al., 2003). Cependant, cette méthode prend plus de temps pour achever la synthèse des brins par rapport à la PCR classique. Néanmoins un test multiplex basé sur la PCR en temps réel peut détecter rapidement 25 agents pathogènes cliniquement importants directement à partir du sang total en moins de 6 heures (Sachse et al., 2003).

### I.3.2. Amplification isothermiques

Les limitations des techniques de biologie moléculaire basées sur la PCR standard ont encouragé l'émergence d'une nouvelle méthode appelée amplification d'acide nucléique isotherme. La principale distinction entre la PCR standard et l'amplification isotherme est la température nécessaire (température constante) pour la réaction et les étapes de cyclage thermique. Cette technique est plus efficace, son équipement moins onéreux, et contrairement à la PCR traditionnelle, elle produit des séquences d'ADN plus longs (Chang et al., 2012).

Les principales techniques isothermes employées dans le domaine du diagnostic sont la LAMP (Amplification isothermique médiée par boucle d'ADN) et la NASBA (Amplification basée sur la séquence d'acide nucléique) (Chang *et al.*, 2012).

#### **a) Amplification isothermique médiée par boucle d'ADN (LAMP)**

Il s'agit d'une méthode de déplacement de brin hautement sensible qui permet d'amplifier l'ADN de quelques copies à  $10^9$  copies en moins d'une heure le tout dans un seul tube (Savan *et al.*, 2005). Dans cette méthode, il n'est pas nécessaire de dénaturer et purifier la matrice d'ADN, contrairement à ce qui est requis dans la PCR classique. Elle offre des résultats précis et fiables pour une vaste gamme d'agents pathogènes (Knox et Beddoe, 2021).

Le principe de cette technique est reposé sur la synthèse d'ADN dans un cycle automatique sous l'action de l'ADN polymérase Bst de *Geobacillus stearothermophilus*, à une température comprise entre 60° et 65°C et en présence de 4 à 6 amorces, trois amorces sens et trois antisens pour assurer l'élongation. Les amorces utilisées sont : Deux amorces sens : FIP interne (Forward Inner Primer) contenant deux régions F1c et la région F2 et F3 externe, deux amorces antisens: BIP interne qui contiennent la partie B2 et B1c (Backward Inner Primer), et B3 externe, deux amorces de boucle : L'amorce LF interne (Loop Forward) et LB une amorce externe (Loop Backward) pour accélérer l'amplification (Padzil *et al.*, 2022; Shirshikov et Bespyatykh, 2022).

La LAMP se déroule en trois étapes (**figure 3**) :

##### **✓ L'étape d'initiation**

Cette étape consiste en l'hybridation de l'amorce FIP (amorces sens) à la région F2c dans l'ADN cible, puis l'ADN polymérase Bst se fixe et catalyse l'élongation d'un brin d'ADN complémentaire. L'amorce externe F3 (amorce sens) s'hybride à F3c libérant un brin complémentaire lié à FIP, qui peut former une structure en boucle à l'extrémité (Tsugunori *et al.*, 2000).





**b) Amplification par la séquence d'acide nucléique (NASBA)**

La NASBA est un système d'amplification isotherme sensible qui s'effectue à 41°C et est utilisé pour amplifier l'ARN et l'ADN simple brin (Chang *et al.*, 2012). Ce test est basé sur la transcription et la transcription inverse en présence de trois enzymes : la transcriptase inverse du virus de la myéloblastose aviaire (AMV-RT), l'ARN polymérase T7 et la RNase H et deux amorces qui contiennent une région promotrice T7 (Nieuwkerk *et al.*, 2021).

La technique NASBA contient trois étapes lorsque la cible est l'ARN (figure 4) :

**✓ L'étape de synthèse**

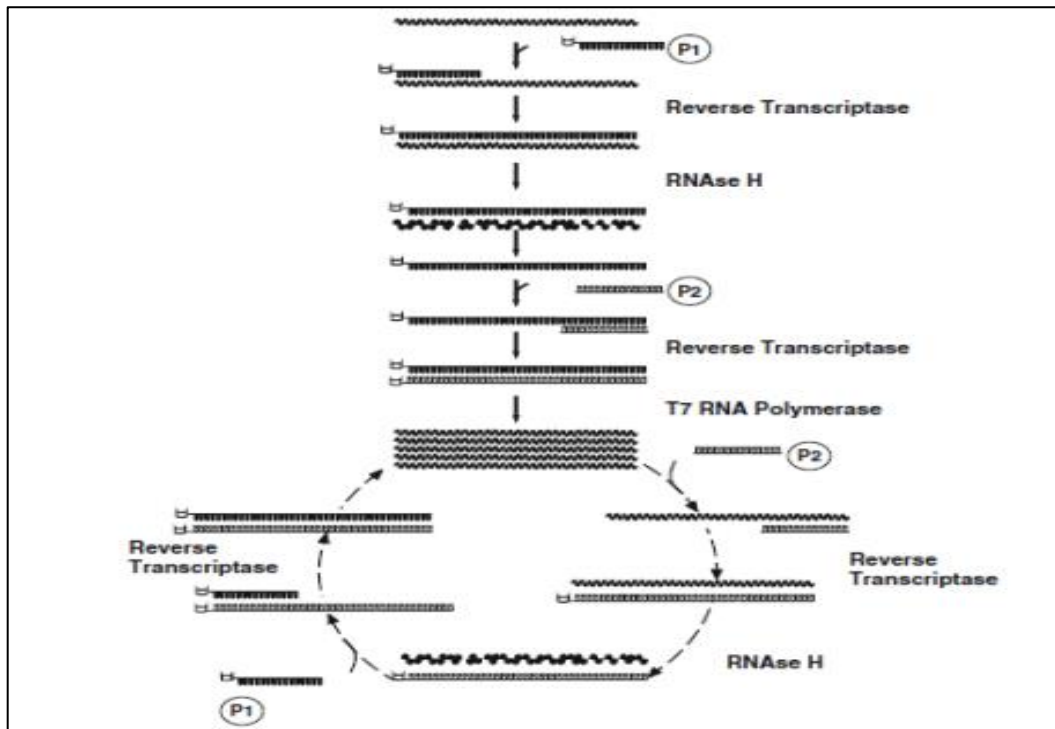
Dans cette étape, l'amorce sens (contient une séquence promotrice du phage T7) se lie à l'ARN cible pour la synthèse d'un brin d'ADN, sous l'activité d'AMV-RT d'élongation, ensuite, Le brin d'ARN hydrolysé par la RNase H, permettant à l'amorce inverse de se lier au brin d'ADNc libre, puis la formation d'ADN double brin par la transcriptase inverse. Ce dernier constitue une séquence promotrice de la polymérase d'ARN T7 (Nieuwkerk *et al.*, 2021).

**✓ L'étape d'amplification**

La région promotrice T7 liée à la polymérase T7 pour produire des brins d'ARN anti sens (plusieurs copies). Chaque nouveau brin d'ARN subira un processus d'amplification cyclique, permettant ainsi une augmentation progressive de la quantité d'ARN amplifié (Nieuwkerk *et al.*, 2021).

**✓ La détection du produit final**

La détection se fait par électrophorèse sur gel d'agarose, sonde fluorescente (balise moléculaire) (Nieuwkerk *et al.*, 2021).



**Figure 4:** Les étapes d'amplification de l'ADN par la méthode NASBA (Fakruddin et al., 2012).

### I.3.3. Métagénomique

C'est une technologie d'étude du contenu génétique d'échantillon prélevé dans un environnement complexe (sol, air, intestin, etc.). Le séquençage direct d'ADN présent dans l'échantillon permet une description génomique du contenu de l'échantillon (Bouchez et al., 2016).

Le séquençage métagénomique c'est le séquençage à haut débit également connu sous le nom de séquençage de nouvelle génération (NGS), permet de générer rapidement de grandes quantités de données génomiques à partir d'échantillons contenant des communautés microbiennes complexes. Ces fragments sont ensuite analysés bioinformatiquement pour identification (Guyomar, 2018).

On distingue deux principaux types de données métagénomiques : Métagénomique ciblée et métagénomique plein-génome. La métagénomique ciblée, également appelée metabarcoding, consiste à amplifier et séquencer une région spécifique du génome, comme l'ADN ribosomique 16S. En revanche, la métagénomique plein-génome ou shotgun, permet le séquençage de l'ensemble de l'ADN contenu dans l'échantillon (Guyomar, 2018);

#### I.4. La spectrométrie de masse (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight) (MALDI –TOF)

Le MALDI-TOF est une technique d'analyse rapide qui consiste en une source d'ionisation douce assistée par une matrice et un analyseur à temps de vol (TOF), suivie par un détecteur. Il est utilisé pour mesurer les masses moléculaires de certaines composés cellulaires des microorganismes tels que les protéines, les peptides..etc. (Menet, 2011).

Son principe (figure 5) est fondé sur le piégeage de cible dans une matrice co-cristallisée, puis l'ionisation douce et la désorption de la cible par un faisceau laser produisant des ions de différentes masses. Les molécules chargées sont ensuite accélérées à un potentiel fixe et entrent dans le tube de vol (l'analyseur de temps de vol (TOF)) et se séparent les unes des autres en fonction de leur rapport masse-charge ( $m/z$ ). Les analytes chargés sont alors détectés et leur intensité est mesurée, à la fin du tube par un enregistreur sous forme graphique (rapport  $m/z$  par intensité relative de signal (Gravet et Camdessouens-Miché, 2011; Singhal et al., 2015).

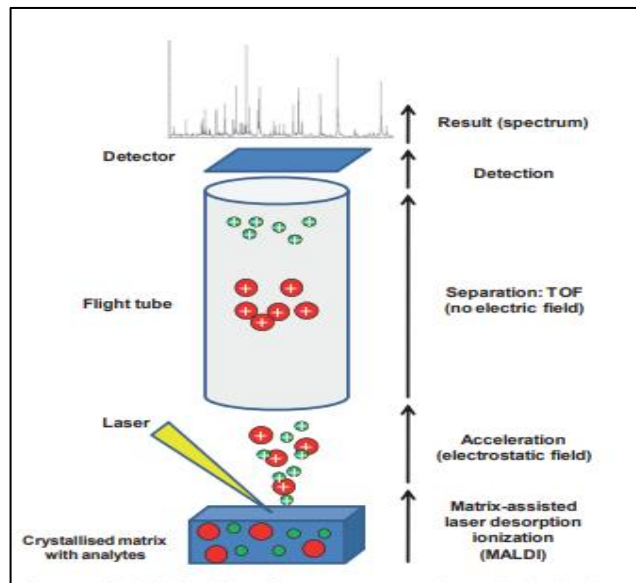
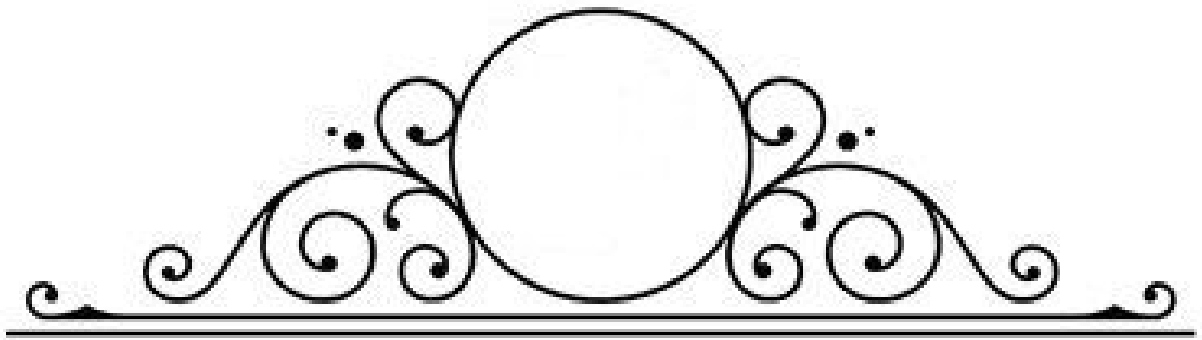
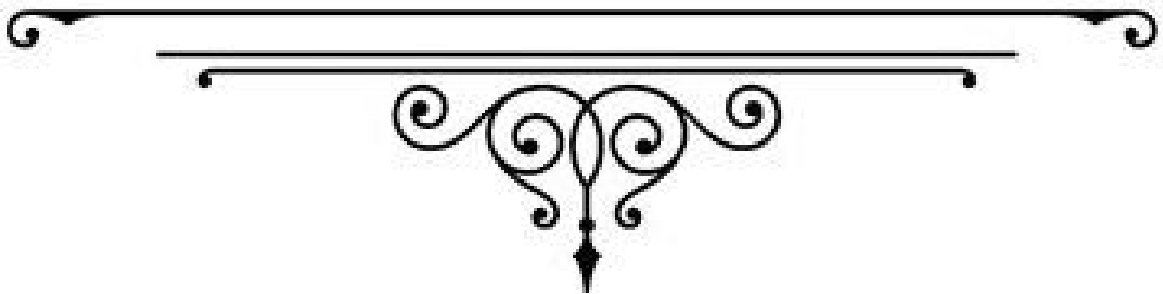


Figure 5: Principe du MALDI TOF (Croxatto et al., 2012).



## **Chapitre II**

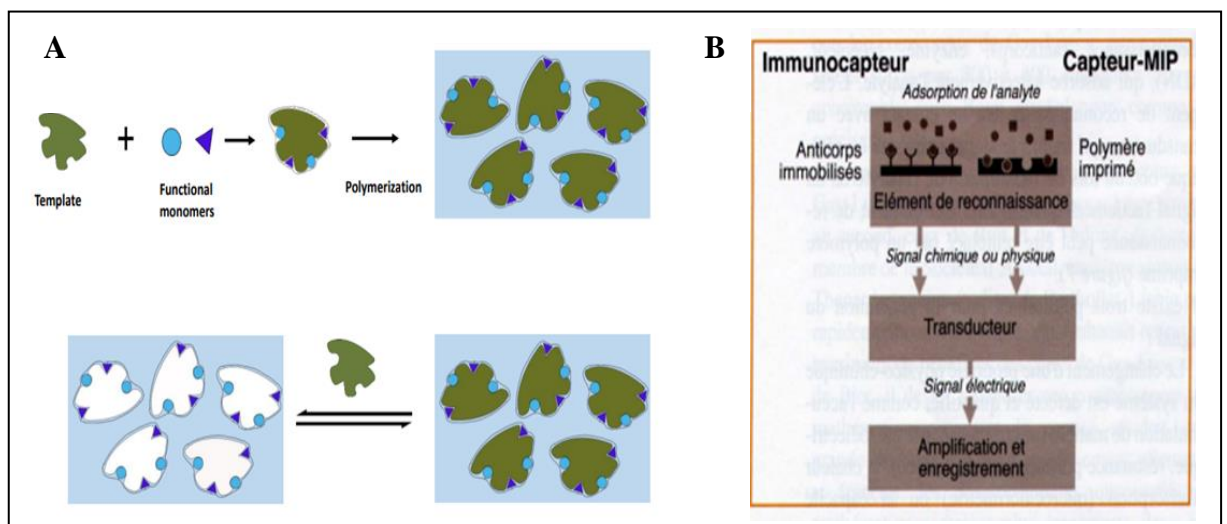
### **Méthodes émergentes de détection rapide des agents pathogènes**



## II.1. Impression moléculaire

L'empreinte moléculaire est une technique puissante utilisée afin de synthétiser des récepteurs artificiels de type polymère (MIP) (Cheng *et al.*, 2001). Cette technologie peut offrir une détection sélective et sensible de grande variété de produits chimiques et biologiques (Nehra *et al.*, 2022), contrairement aux récepteurs naturels comme les anticorps ou les enzymes (Zhang *et al.*, 2021).

Le principe de cette technique est basé sur la réticulation d'un monomère autour d'un "microorganisme modèle". Après cette polymérisation, la molécule modèle est éliminée, laissant des moules dans le polymère qui conserve sa taille, sa forme et ses fonctions chimiques. Ces moules sont appelés "sites d'empreinte", et ils permettent la reconnaissance spécifique du microorganisme modèle ou des molécules structurales similaires (figure 6)(Cheng *et al.*, 2001).



**Figure 6:** Schéma représentatif des polymères à empreinte moléculaire (MIP). **A.** Mécanismes de synthèse, **B.** La comparaison entre un immunocapteur et un capteur à empreinte moléculaire (Haupt et Fradet, 2001; Nehra *et al.*, 2022).

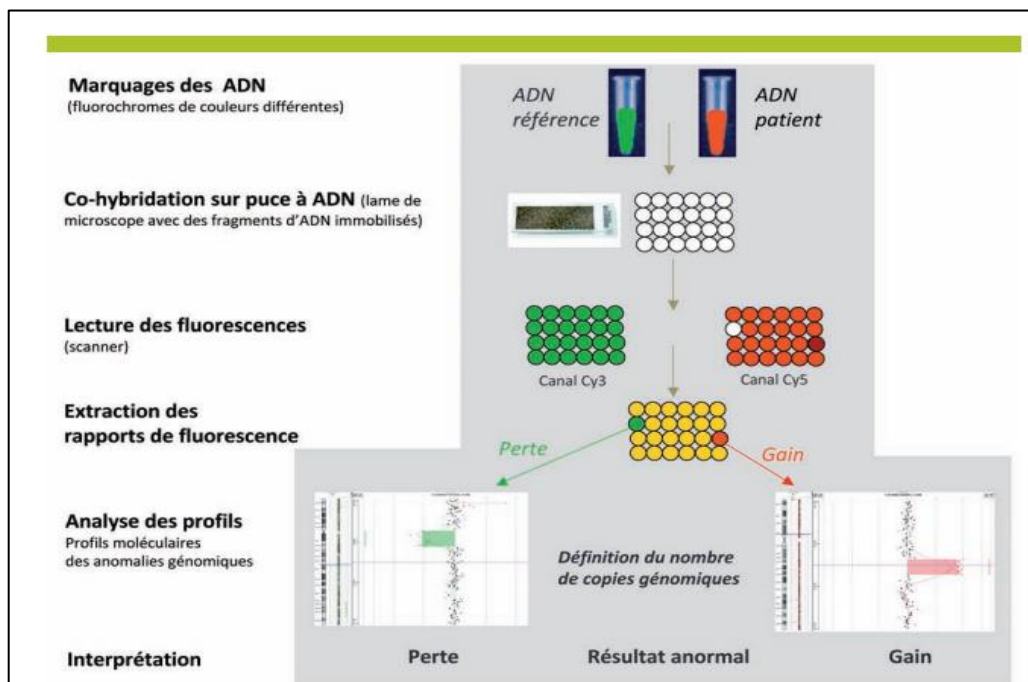
Les capteurs MIP peuvent être utilisés comme élément de reconnaissance dans les biocapteurs qui adsorbent sélectivement l'analyte, lors de cette adsorption on obtient un signal physique ou chimique facilement quantifiable (Haupt et Fradet, 2001); avec des transducteurs optiques, électrochimiques et piézoélectriques (Nehra *et al.*, 2022).

## II.2. La technique des puces à ADN (DNA microarray)

La technologie des puces à ADN ou biopuces a été utilisée dès le départ dans de nombreux domaines comme dans la microbiologie notamment dans la détection des pathogènes (**Berth,2013**); car elles fournissent un dépistage multiplexe (**Donatin et Drancourt, 2011**).

Le principe d'une puce à ADN repose sur une hybridation par complémentarité des bases (A-T et G-C) entre l'ADN d'un échantillon biologique et un ensemble de sondes immobilisées (oligonucléotides ou fragments d'ADN) (**Berthet, 2013**) ; marqués chacun par un fluorochrome de couleur différente (**figure 7**), sur un micro réseau à ADN (**Ferrarini et al., 2010**). ces surfaces portent des spots et sont constituées essentiellement en verre, nylon ou silicium (**Devauchelle et Chiocchia, 2004**) ;

L'application la plus fréquente des puces d'ADN est la mesure du transcriptome, qui est la mesure du niveau d'expression de tous les gènes dans un génome. Contrairement aux autres techniques, elles mesurent également l'expression des gènes dans un génome complet, même complexe, en une seule hybridation (**Baron et al., 2007**). La lecture des signaux fluorescents est faite grâce à un scanner laser automatisé ; Une analyse bioinformatique des données est ensuite réalisée à l'aide d'un logiciel qui enregistre l'intensité de différentes fluorescences ; Ensuite une représentation graphique est effectuée à l'aide d'un logiciel (**Ferrarini et al., 2010**).



**Figure 7:** Principe des puces à ADN (**Lamoril et al., 2007**).

### II.3. Omique et CRISPER CAS

Le terme "**foodomique**" a été introduit pour décrire une branche qui utilise la technologie omique telle que la génomique, transcriptomique, protéomique et la métabolomique pour étudier le domaine alimentaire (**Cifuentes, 2009**). Cette technologie repose sur l'analyse précise et complète de différents composants cellulaires (ADN, ARN, protéines et les métabolites) pour une meilleure identification (**Ellis et al., 2019**).

La génomique représente l'étude de la structure et la fonction d'une séquence d'ADN, par contre la transcriptomique signifie l'étude de l'ARN messager produit par transcription du génome. Les deux domaines utilisent le séquençage de nouvelle génération (NGS) pour déterminer la succession des bases nucléiques d'un pathogène. En raison de leur petite taille et leur coût moins cher, ces appareils sont largement utilisés dans les laboratoires pour identifier rapidement et avec précision une large gamme de pathogènes (**Nehra et al., 2022**). quant 'au séquençage de transcriptome, il est nommé « le séquençage d'ARN »(ARNseq) ( **CSS, 2021**).

La troisième approche est la protéomique, qui permet de donner une vision générale sur l'architecture et la fonction des protéines pour leur identification et leur détection dans une cellule. De même, la métabolomique désigne l'analyse d'un métabolite impliqué dans le métabolisme cellulaire, ces deux domaines utilisent la spectrophotométrie de masse (MS) (**Beltran et al., 2017**). Lorsque ces domaines omiques sont combinés, on parle de la « multi omiques » (**Ellis et al., 2019**).

Les données omiques obtenus doivent être stockés et analysés par des approches bioinformatiques dans différentes bases de données, telles que SalFoS (pour *Salmonella*) et sur des sites web tels que *Listeriomics*. Ces outils permettent d'améliorer la précision des techniques de diagnostic (**Ellis et al., 2019**).

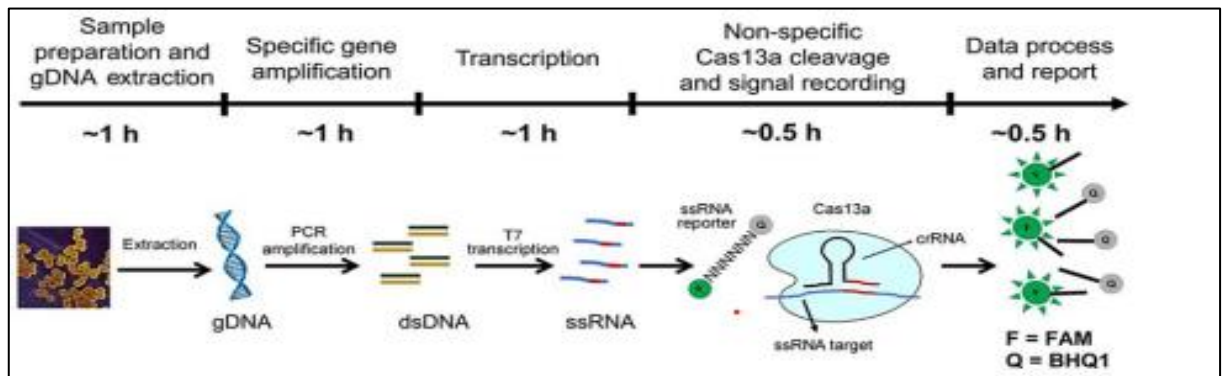
Une autre technologie de détection apparue nommée Le CRISPER CAS (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, ou répétition palindromique courte groupées et régulièrement espacées) qui est un système immunitaire adaptatif des procaryotes contre les virus. En outre, c'est une technique d'édition de gènes guidés par l'ARN, utilisant la nucléase Cas9, Cas12 ou Cas14 lorsque la cible est l'ADN et Cas13 pour l'ARN cible (**Yuxuan Heet al, 2023**).

En présence d'ARN guide, un échantillon et l'endonucléase « cas » selon le type de cible (ARN ou ADN) et des sondes promoteurs DNA/RNA marquées par fluorescence, le processus commence par la formation du complexe nucléoprotéique (cas9, 12, 14,13) avec l'ARN guide qui induit le clivage d'ADN /ARN cible. Dans le cas de Cas13, il clive toutes les molécules



d'ARN proches de manière non spécifique, ce qui est appelé clivage collatéral ou trans-clivage, suivi par la découpe des sondes marquées et une libération d'un signal (Kumar et al., 2020; Yuxuan Heet et al., 2023).

Il existe une autre technologie de détection *in vitro* d'ADN et d'ARN dans un échantillon, qui est la technologie SHERLOCK (Specific High-sensitivity Enzymatic Reporter Unlocking) (figure 8) qui est basé sur l'amplification isothermique de l'acide nucléique « l'ADNdb ». Au cours de cette méthode, l'échantillon d'ARN soumis à la transcription inverse permet la production d'un ADN complémentaire (ADNc) et grâce à l'activité de l'ARN polymérase T7, des copies d'ARN sont produites, ensuite, elles sont clivées par l'endonucléase Cas 13. Le but de l'amplification est de générer une cascade de signaux (Kumar et al., 2020).



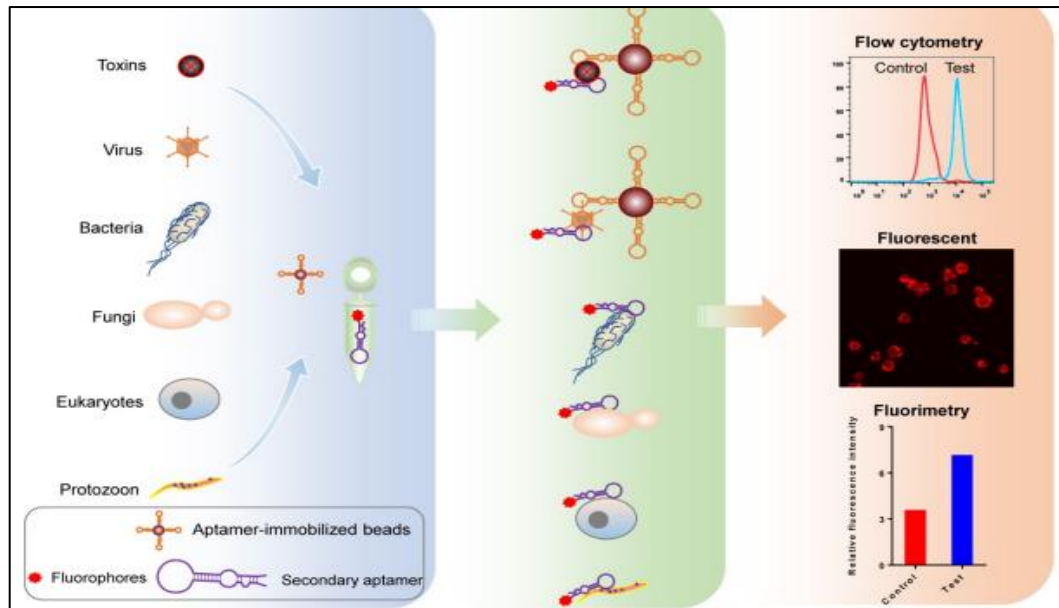
**Figure 8:** Les étapes de détection de *Staphylococcus aureus* par système CRISPR-CAS 13 cas (Nehra et al., 2022).

#### II.4. Essai à base d'aptamère

Les aptamères sont des oligonucléotides monocaténares (ADN ou ARN) de 15 à 80 nucléotides (Rozenblum et al., 2016). sélectionnés aléatoirement *in vitro* à partir d'une banque de séquences selon leur capacité à reconnaître une cible (sous forme de ligand) (Chauveau et al., 2006) par un processus appelé Evolution Systématique de Ligands par enrichissement Exponentiel (SELEX), suivi par amplification (Rozenblum et al., 2016). Les aptamères présentent des affinités similaires à celles des anticorps pour différentes molécules comme les acides aminés, l'ARN, l'ADN ou les protéines (Chauveau et al., 2006). Avec une structure tridimensionnelle stable et flexible (Rozenblum et al., 2016). par conséquent, ils sont utilisés comme des alternatives aux anticorps (Chauveau et al., 2006).

Ils sont utilisés dans diverses méthodes de détection d'agents pathogènes telles que, la fluorophotométrie et le test à flux latéral (LFIA). Pour la fluorophotométrie (figure 9), les aptamères utilisés sont marqués soit avec un fluorophore ou par des nanoparticules de détection, afin de détecter la présence d'un analyte spécifique, si l'aptamère trouve sa cible, un

réarrangement spatial se produit dans la structure de l'aptamère, provoquant une fluorescence mesurée à l'aide d'une fluorimétrie, cytomètre en flux ou une microscopie à fluorescence (Wan et al., 2021).



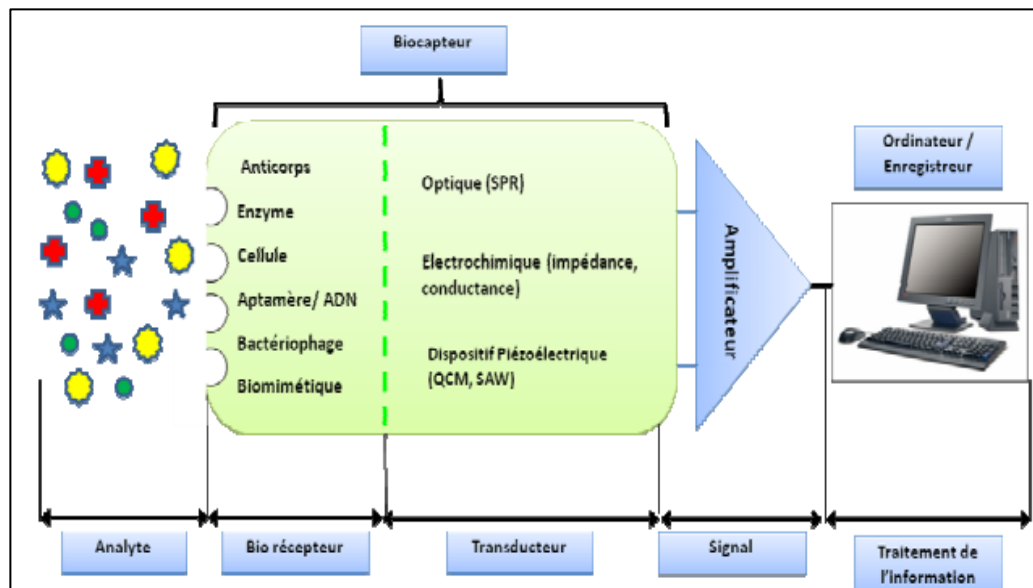
**Figure 9:** Représentation schématique de la détection d'agents pathogènes utilisant des sondes aptamères marquées par un fluorophore (Wan et al., 2021).

Les aptamères peuvent également être utilisés sur des bandelettes à flux latéral, leurs principes de base est le même que dans un test de flux latéral à base d'anticorps sauf que les anticorps conjugués (colorés ou fluorés) sont remplacés par des aptamères conjugués. Lorsque l'analyte cible est présent dans l'échantillon, un complexe se forme entre l'aptamère conjugué et l'analyte. Ce complexe se fixe ensuite sur la ligne de test et sur la ligne de contrôle. En revanche, si l'analyte cible est absent, le complexe coloré reste seulement sur la ligne de contrôle (Eilers et al., 2018).

## II.5. Biocapteurs (biosenseurs)

Le biocapteur est un dispositif de détection des agents pathogènes qui permet une analyse rapide *in situ*, il se compose principalement d'un bio récepteur et d'un transducteur (figure 10), le rôle du bio-récepteur est de reconnaître la cible (analyte) par des interactions biologiques et le transducteur converti le signal biologique en signaux mesurables (Hameed et al., 2018), habituellement le récepteur peut être soit:

- ✓ **Enzyme** : La détection se fait lorsque l'enzyme utilise la cible comme substrat grâce à la complémentarité géométrique (Curulli, 2021);



**Figure 10:** Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un biocapteur (Bouguelia, 2013).

- ✓ **Anticorps** : La détection des antigènes se fait par leur affinité à un site spécifique dans les anticorps (Patris et al., 2015).
- ✓ **Acides nucléiques** : La reconnaissance par des acides nucléiques (ADN ou ARN) repose sur la complémentarité entre la séquence d'acide nucléique fixé dans un capteur et la cible (Curulli, 2021) ;
- ✓ **Aptamère**: Reconnaît les structures des acides nucléiques et les surfaces tridimensionnelles, comme les protéines (Curulli, 2021) ;

Ces éléments biologiques sont immobilisés sur les récepteurs afin de garantir leur stabilité lors du stockage, les transducteurs donnent un signal mesurable et quantifiable qui peut être piézo-électrique, optique ou électrochimique, cette approche a permis de classer les biocapteurs en fonction de leur principe de détection et leur mode de fonctionnement en : (Tetyana et al., 2021)

#### a) Biocapteurs optiques

Les biocapteurs optiques sont basés sur l'interaction entre les champs optiques et les éléments biométriques pour la détection optique et la conversion des signaux optiques en signaux électriques afin de détecter l'analyte cible (Tetyana et al., 2021 ; Li et al., 2022).

Parmi les techniques de transduction optique (figure 11) on citera :

**La spectroscopie Raman** : C'est une technique dont le principe de base est un type de spectroscopie vibrationnelle qui repose sur la mesure des changements de fréquence de la

lumière diffusée par une molécule cible, laquelle révèle des informations sur la structure moléculaire des échantillons. Elle peut être associée à des substrats métalliques tels que l'or et l'argent pour augmenter l'intensité du signal Raman et améliorer la sensibilité de la détection ce qui a conduit à la SERS ou spectroscopie Raman exaltée en surface, c'est une procédure très sensible utile pour l'analyse des petites molécules (Li *et al.*, 2022 ; Lukose *et al.*, 2023).

**La résonance plasmonique de surface (SPR) :** Cette technique permet de détecter des molécules cibles en faible concentration et en temps réel. Lorsque la lumière est réfléchi sur la surface métallique, elle crée un champ électromagnétique qui interagit avec les électrons de la surface métallique ou plasmons qui vont être excités, ainsi y'aura perturbation de la résonance plasmonique de surface qui se traduit par une modification de la courbe de réflexion de la lumière. On peut mesurer cette variation d'intensité de la lumière réfléchi à l'aide d'un détecteur (Eksin *et Erdem*, 2023).

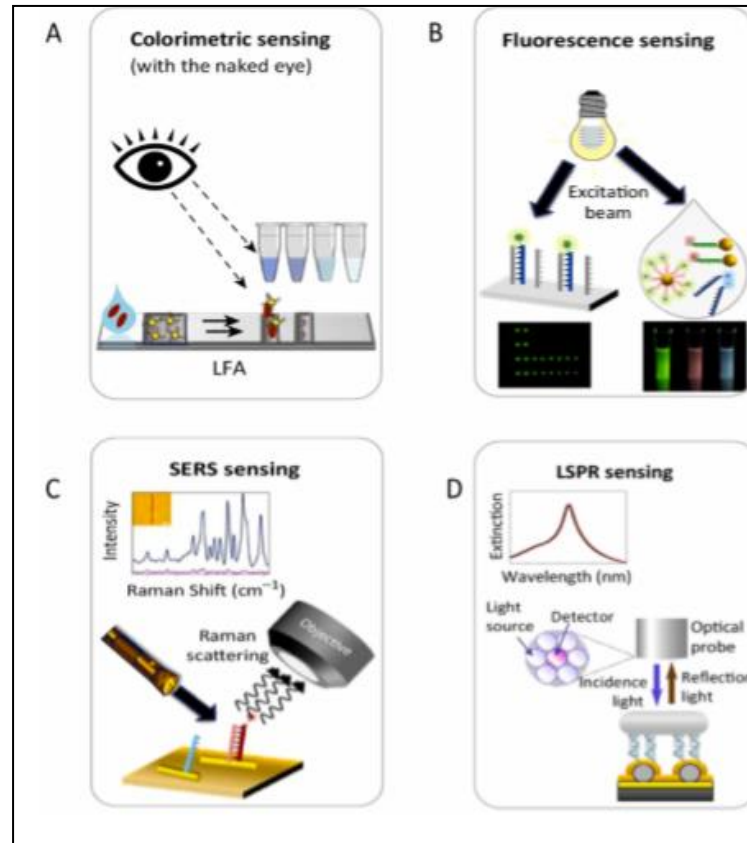
**La SPR localisée (LSPR) :** Le principe de cette méthode repose sur la modification de la résonance plasmonique des nanoparticules en présence de la biomolécule d'intérêt. Pour cela, les nanoparticules sont préalablement fonctionnalisées avec des molécules permettant de fixer spécifiquement la biomolécule cible (Eksin *et Erdem*, 2023 ; Nan *et al.*, 2023).

**Les biocapteurs colorimétriques :** Leur principe repose sur l'utilisation de substances réactives spécifiques, telles que des enzymes, des anticorps ou des acides nucléiques, qui changent de couleur en présence de la molécule cible qui est détectable à l'œil nu ou par spectrophotométrie (Eksin *et Erdem*, 2023).

**Les biosenseurs optiques basés sur la fluorescence :** Leur fonctionnement est basé sur l'emploi de molécules fluorescentes qui produisent de la lumière lorsqu'elles sont stimulées par une source lumineuse, cette lumière émise est alors captée et quantifiée pour évaluer la présence ou la concentration de la molécule cible. A titre d'exemple : Le transfert d'énergie par résonance de fluorescence (FRET) qui est fondé sur la détection d'énergie lumineuse entre deux molécules fluorescentes en proximité donc permettant de mesurer la distance entre elles. Ainsi les sondes fluorescentes, y compris les fluorophores, les points quantiques (QD), les nano clusters, les points de carbone et les nanomatériaux fluorescents, présentent une intensité de fluorescence modifiée en fonction de la cible (Zeng *et al.*, 2018).

D'autres méthodes de transduction optique qui utilisent des fibres optiques comme composant sont basées sur des mesures telles que l'absorbance, la fluorescence, la chimiluminescence, etc. Avec les récentes avancées en nanotechnologie, le développement de

fibres optiques de dimensions micro ou nanométriques a ouvert de nouvelles perspectives pour la détection de micro-organismes, de cellules et la bio détection *in vivo* (Eksin et Erdem, 2023).



**Figure 11:** Illustrations schématiques des différentes approches de détection par transduction du signal utilisé dans un biocapteur optique. (A). Approche de détection colorimétrique (B). Approche de détection par fluorescence impliquant des faisceaux d'électrons (C). Diffusion Raman améliorée par la surface (SERS). (D) Résonance plasmonique de surface localisée (LSPR) (Chukwuka et al., 2022).

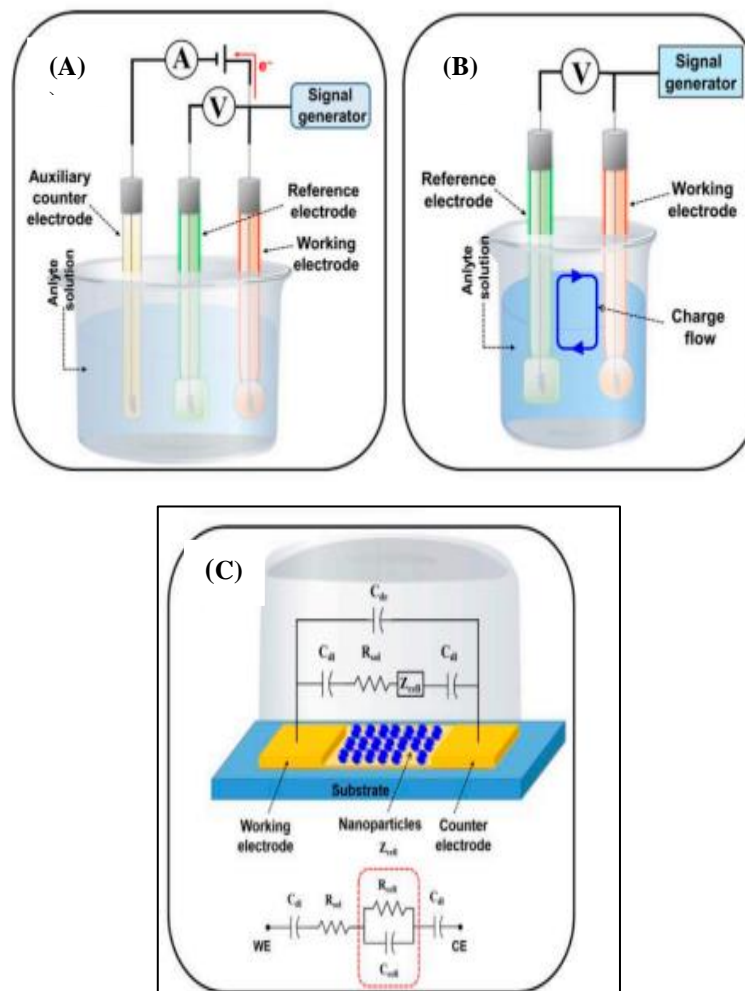
### b) Biocapteurs électrochimiques

Les biocapteurs électrochimiques sont conçus pour la détection des bactéries pathogènes, avec une réponse rapide et la capacité de fonctionner dans des solutions turbides (Benserhir, 2022) ; Les signaux issus des réactions biologiques dans l'électrode peuvent être mesurés par changements d'impédance, de courant mesurable ou d'accumulation de charge à l'aide des techniques impédométriques, potentiométriques et ampérométriques (figure 12) (Hameed et al., 2018).

Les biocapteurs potentiométriques mesurent les variations du potentiel créé par l'accumulation de charge à la surface de l'électrode de travail où se déroulent les réactions biologiques. Ils utilisent des électrodes à secteur d'ions pour effectuer cette mesure (Curulli, 2021) ;

Les capteurs ampérométriques mesurent les variations du courant ou du potentiel qui se produisent par l'oxydation ou la réduction de l'analyte après son interaction spécifique avec un biorécepteur adapté à la concentration cible. Donc, ils permettent de quantifier la présence de changements chimiques induits par une interaction spécifique (Benserhir, 2022);

**La spectroscopie d'impédance électrochimique** est un autre type de biocapteur qui repose sur la mesure de l'impédance en fonction de la fréquence entre une électrode de travail (qui immobilise les molécules de biorecognition) et une électrode de référence (Benserhir, 2022).



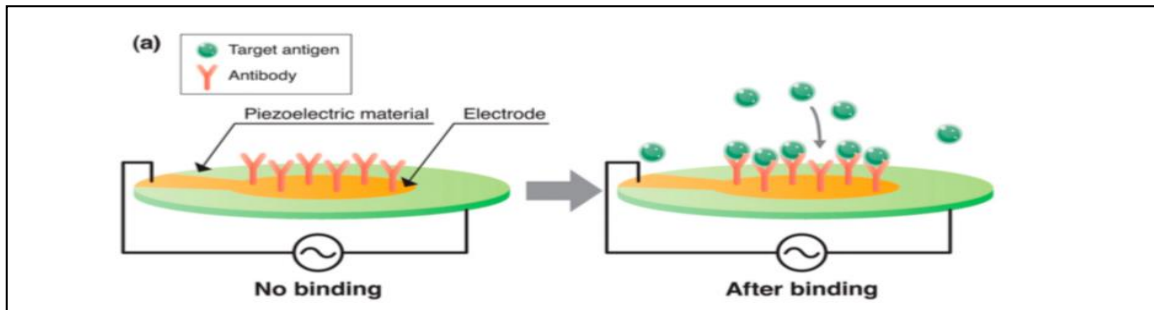
**Figure 12:** Diagramme schématique des biocapteurs(A) ampérométriques/voltamétriques, (B) potentiométriques, (C) impédométriques (Curulli, 2021).



### b) Les biocapteurs sensibles à la masse (piézoélectriques)

Le fonctionnement des capteurs piézoélectriques est basé sur la génération d'une contrainte de masse à la surface d'un cristal piézoélectrique soumis à une tension alternative, ce qui entraîne des variations d'oscillation (**figure 13**). Les biocapteurs piézoélectriques, produisent un signal électrique lorsqu'une force mécanique est appliquée (**Li et al., 2022**).

La microbalance à cristal de quartz (QCM) est un type de biocapteur piézoélectrique qui mesure la fréquence de résonance du cristal de quartz pour détecter les changements de masse à la surface du cristal causés par l'interaction de molécules biologiques, afin d'améliorer la sensibilité de détection, il est courant d'utiliser des nanoparticules d'or qui sont attachées à la surface du cristal de quartz (**Li et al., 2022**).



**Figure 13:** Principe de fonctionnement du biocapteur piézoélectrique (**Li et al., 2022**).

### c) Biocapteur microfluidique

Les biocapteurs micro fluidiques sont des dispositifs miniaturisés qui présentent une efficacité importante, ils utilisent des volumes d'échantillons et des réactifs très réduits, ce qui entraîne une diminution du coût et du temps de dosage ,sous le sens microfluidique qui signifie les fluides comportements, la manipulation à l'échelle submillimétrique et le contrôle précis, de plus, ils sont économiques en énergie et appliqués à tous les types de biocapteurs pour accélérer la détection (**Nikoleli et al., 2018**).

Cette plate-forme microfluidique est intégrée dans une puce de laboratoire (LOC : lab on a chip). Elle est fabriquée à partir des matériaux tels que le verre, le silicium et des polymères comme le polydiméthylsiloxane (PDMS) (**figure 14**) qui sont les matériaux privilégiés pour ces dispositifs.



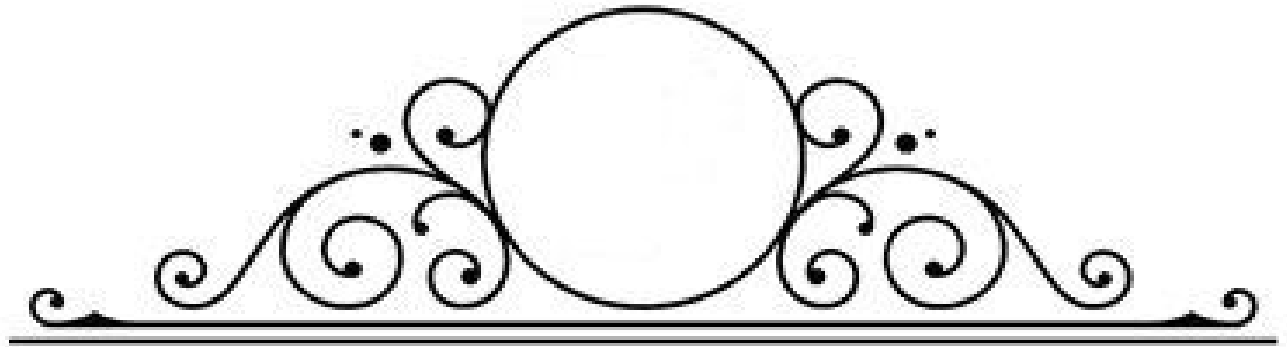
**Figure 14:** Différents biocapteurs à système microfluidique (Kulkarni et al., 2022).

L'architecture de cette puce est principalement constituée de chambres microfluidiques qui retiennent des éléments microbiologiques immobilisés, ainsi que des chambres dérivées, donc l'analyte cible doit passer à travers ses chambres par des micro canaux, afin de détecter des agents pathogènes à faibles concentrations avec différents transducteurs(Boehm et al., 2007).

Un autre biocapteur microfluidique réalisé sur un papier  $\mu$ PADs, un papier filtre imprimé par une plateforme microfluidique à l'aide d'un logiciel, suivi d'une immobilisation des éléments biologiques et d'un colorant par un simple séchage, la dernière étape est de faire fondre la cire à travers le papier qui va agir comme une barrière hydrophobe pour créer des microcanaux, la détection se fait lorsque la cible réagit avec les éléments biologiques et donne une couleur qui migre avec le fluide(sur papier microfluidique) (Xu et al., 2018).

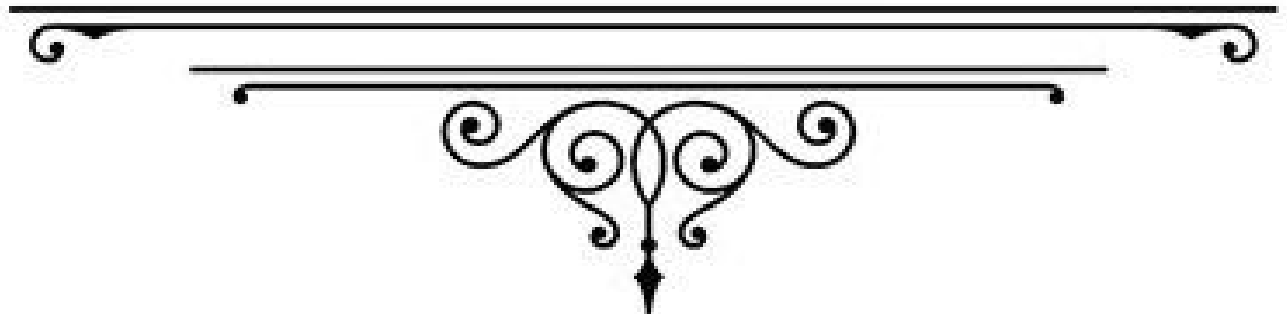
L'application de ces systèmes microfluidiques ne s'est pas arrêtées là, ils se sont développés sur smartphone qui peut fournir une plate-forme portable et facile à manipuler pour atteindre une sensibilité et une analyse en temps réel et à haut débit de petits échantillons (Xu et al., 2018).





### **Chapitre III.**

**Les avantages et les inconvénients des différentes techniques conventionnelles et émergentes de détection des pathogènes**



**Chapitre III. Les avantages et les inconvénients des différentes techniques conventionnelles et émergentes de détection des pathogènes**

Chacune des méthodes conventionnelles et émergentes de détection des pathogènes alimentaires offrent des avantages et des inconvénients particuliers en termes de spécificité, de sensibilité, de temps et de limite de détection. Les tableaux suivants présentent les avantages et les inconvénients des différentes techniques

**III.1. Caractéristiques des techniques immunitaires**

**Tableau I :** Caractéristiques des techniques immunitaires

Méthode de détection	Avantage et temps de détection	Inconvénients	Limite de détection	Référence
<b>ELISA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Haute spécificité</li> <li>- Quantitative et qualitative</li> <li>- Facile à utiliser avec un grand nombre d'échantillons</li> <li>- 45min à 2h selon le kit</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nécessite un pré-enrichissement.</li> <li>- Difficulté à différencier les cellules endommagées ou stressées</li> </ul>	$6.8 \times 10^3$ UFC/ml	<b>(Shen et al., 2014)</b>
<b>LFIA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Haute spécificité et sensibilité</li> <li>- Débit élevé</li> <li>- Détection des toxines bactériennes</li> <li>- 10min à 15min</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nécessité de l'étiquetage des anticorps ou des antigènes</li> </ul>	$10^4 - 10^5$ UFC/ml	<b>(Law et al., 2015)</b>

**III.2. Caractéristiques des méthodes moléculaires**

**Tableau II :** Caractéristiques des méthodes moléculaires

Méthode de détection	Avantage et temps de détection	Inconvénients	Limite de détection	Références
<b>PCR classique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Haute sensibilité et spécificité</li> <li>- Automatisée</li> <li>- Fiabilité</li> <li>- Temps : 3h à 10 h</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- L'ADN nécessite une étape de purification</li> <li>- Aucune distinction entre cellules mortes et vivantes</li> </ul>	$10^6$ UFC/ml	<b>(OMS, 2014; Ferone et al., 2020)</b>
<b>PCR en temps réel</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Amplification en temps réel</li> <li>- Quantification précise</li> <li>- Temps : 1h à 2.5 h</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Difficulté de distinction entre cellules mortes et vivantes</li> <li>- Coût élevé</li> <li>- Difficulté de l'essai multiplex</li> </ul>	10 UFC/ml	<b>(OMS, 2014; Ferone et al., 2020)</b>
<b>PCR multiple</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Haute sensibilité</li> <li>- Détection de multiples pathogènes</li> <li>- Automatisée</li> <li>- Résultat fiable</li> <li>- Temps : plus de 10h</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Difficulté de distinction entre cellules mortes et vivantes</li> <li>- Coût élevé</li> <li>- risques d'inhibition de PCR</li> </ul>	$1.6 \times 10^1$ UFC/ml	<b>(Touren et al., 2005 ; Zeng et al., 2018)</b>

**Chapitre III. Les avantages et les inconvénients des différentes techniques conventionnelles et émergentes de détection des pathogènes**

<b>NASBA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Détection des microorganismes vivants</li> <li>- Température constante</li> <li>- Temps : 1h</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Difficultés à manipuler l'ARN</li> <li>- Nécessite une solution viable</li> </ul>	$5.3 \times 10^2$ UFC/ml	<b>(Lauri et Mariani, 2009)</b>
<b>LAMP</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- N'exige pas une haute chaleur</li> <li>- Faible coût</li> <li>- Facile à utiliser</li> <li>- Temps entre 60 min et 2h</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Début compliqué</li> <li>- Peut conduire à des résultats faux positifs</li> </ul>	$2,25 \cdot 10^1$ UFC/ml	<b>( Zhao et al., 2014 ; Chukwuka et al., 2022)</b>
<b>Méta génomique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Capacité de séquençage de tout le génome</li> <li>- Détection des microorganismes isolés ou pas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ne nécessite pas une culture pure</li> <li>- Incapacité d'identifier les microorganismes au niveau de l'espèce</li> </ul>	$10^3$ CFU/ml	<b>( Hoorfar, 2011; Chukwuka et al., 2022)</b>

**III.3. Caractéristiques de la spectrométrie de masse MALDI TOF**

**Tableau III :** Caractéristiques de la spectrométrie de masse MALDI TOF

Méthode de détection	Avantages	Inconvénients	Limite de détection	Références
<b>MALDI TOF</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Haut débit et sensibilité</li> <li>- Permet l'identification de différentes mutations bactériennes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mauvaise reproductibilité</li> <li>- Instruments haut de gamme coûteux</li> <li>- Résultats limités pour les populations mixtes</li> </ul>	$10^6$ à $10^8$ UFC/ml	<b>(Ferone et al., 2020)</b>

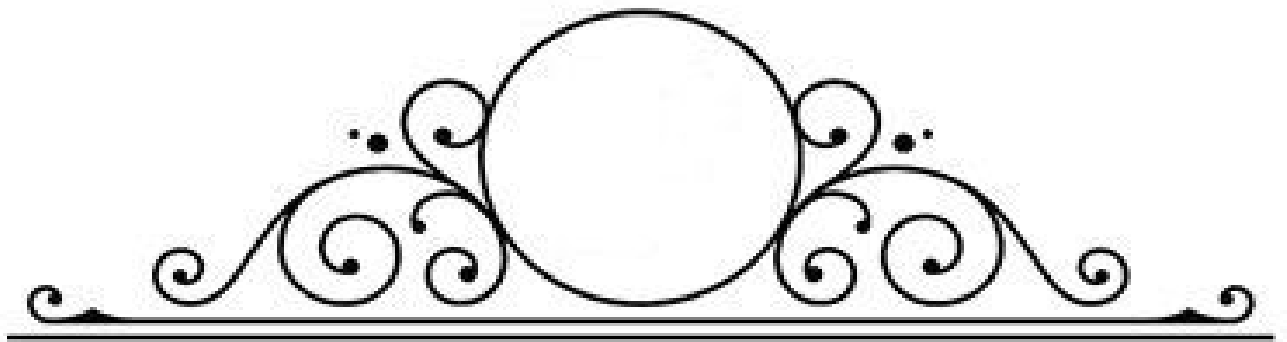
**III.4. Caractéristiques des techniques émergentes de détection des pathogènes**

**Tableau IV :** Caractéristiques des techniques émergentes de détection des pathogènes

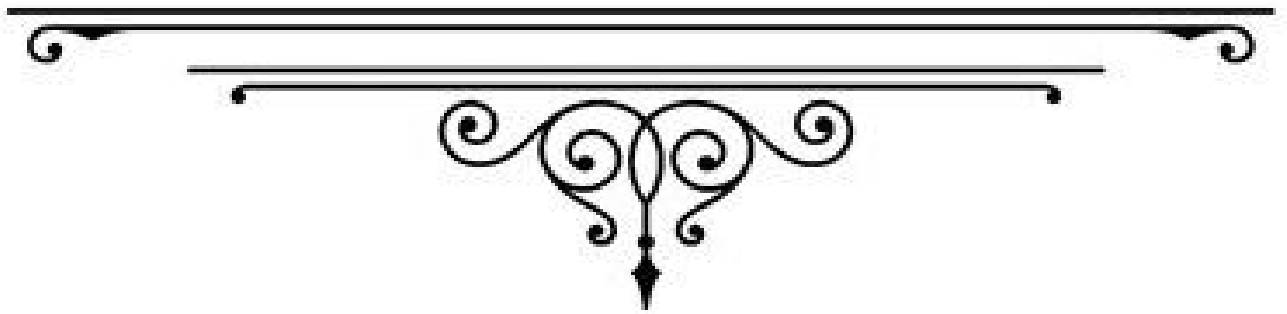
Méthode de détection	Avantages	Inconvénients	Limite de détection	Références
<b>Les puces à ADN (DNA microarray)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dépistage à haut débit</li> <li>- Sensible et sélective</li> <li>- Plus économique</li> <li>- Miniaturisé</li> <li>- Utilise des petites sondes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Problème de contamination croisée des sondes et le colmatage des broches</li> <li>- Entraînant des signaux non spécifiques et exige un étiquetage du gène cible</li> </ul>	/	<b>(Lauri et Mariani, 2009)</b>
<b>Impression moléculaire (MIP)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Stable chimiquement et physiquement</li> <li>- Réutilisable</li> <li>- Détecte des petites molécules (mycotoxines)</li> <li>- Préparation facile et fiable</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Chronophage</li> <li>- Coûteuse</li> <li>- Manque de sensibilité et de spécificité</li> </ul>	$10^3$ UFC/ml	<b>(Idil et Mattiasso, 2017)</b>

**Chapitre III. Les avantages et les inconvénients des différentes techniques conventionnelles et émergentes de détection des pathogènes**

<b>Essai à base d'aptamère</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Portable, automatisé et miniaturisé</li> <li>- Offre des limites de détection plus faibles</li> <li>- Temps : 30min à 35min</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grande flexibilité des aptamères qui pourrait résulter d'une faible affinité avec les cibles</li> </ul>	6 UFC/ml $2.9 \times 10^2$ UFC/ml	<b>(Chukwuk et al., 2022)</b>
<b>Système CRISPER CAS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Détection rapide et fiable</li> <li>- Peu coûteux</li> <li>- Temps : 30min à 60 min</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Détecte les phages seulement (virus)</li> </ul>	/	<b>(Wang et al., 2020; Wu et al., 2021)</b>
<b>Biocapteur optique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sensibilité élevée</li> <li>- Permet une détection en temps réel ou proche du temps réel</li> <li>- Temps entre 5min à 45min</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Plus cher</li> <li>- Moins stable</li> </ul>	$8.7 \times 10^6$ UFC/mL	<b>( Zhao et al., 2014 ; Law et al., 2015)</b>
<b>Biocapteur électrochimique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Manipulation d'un grand nombre d'échantillons</li> <li>- Automatisé</li> <li>- Détection sans étiquetage</li> <li>- Temps entre 6min et 1h15min</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Faible spécificité</li> <li>- Ne convient pas pour l'analyse d'échantillons avec faible quantité de microorganismes</li> </ul>	$10^2$ UFC/ml	<b>(Zhao et al., 2014 ; Law et al., 2015)</b>
<b>Biocapteur sensible à la masse</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rentable</li> <li>- Facile à utiliser</li> <li>- Détection sans étiquetage</li> <li>- la détection en temps réel</li> <li>- temps &lt; 1h30min</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Régénération de cristal qui peut être problématique</li> </ul>	$10^6-10^9$ UFC/mL	<b>(Law et al., 2015)</b>
<b>Biocapteur microfluidique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Manipulation de très petites quantités de fluide (Pico litres)</li> <li>- Réduisant le temps de réponse (10 min à 40 min)</li> <li>- Débit très élevé</li> <li>- Automatisé</li> <li>- Sensible</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contamination par des particules en suspension dans l'air ou par des composés organiques autour des canaux fluides ouverts</li> <li>- Evaporation de fluide</li> </ul>	$6.2 \times 10^4$ UFC/ml	<b>(Chukwuk et al., 2022)</b>



*Conclusion*



## **Conclusion**

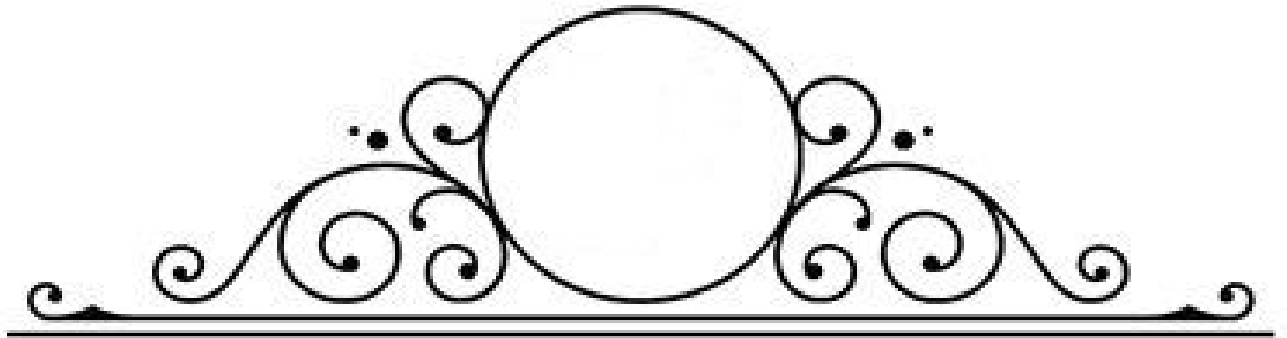
Le développement des techniques de détection des agents pathogènes est porteur d'espoir pour améliorer la prise en charge des maladies d'origine alimentaire à l'échelle mondiale. Les différentes méthodes examinées dans cet énoncé sont toutes utiles pour la recherche des agents pathogènes dans différents domaines et surtout le secteur de la sécurité alimentaire.

Bien que les méthodes traditionnelles soient assez sensibles, elles sont souvent trop lentes pour réduire la fréquence des maladies d'origine alimentaire, ainsi de nombreuses techniques novatrices ont été développées pour surmonter cette limitation des performances.

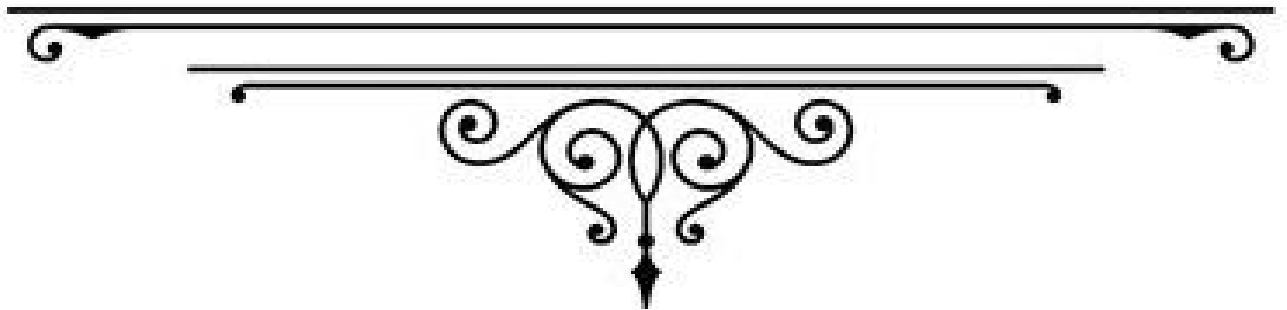
Les techniques basées sur les acides nucléiques, qui remplacent celles basées sur les cultures, sont très sensibles et prennent moins de temps, cependant leur utilisation dans un environnement pratique est limitée en raison de la nécessité d'un personnel qualifié et des instruments coûteux. Toutefois le développement des méthodes basées sur les anticorps a permis de réduire le temps nécessaire pour obtenir des résultats, la spécificité et la sensibilité élevée de ces méthodes immunologiques sont dues à la liaison spécifique de l'anticorps à son antigène.

Les avancées récentes dans la recherche scientifique ont permis l'émergence de méthodes plus accessibles et plus faciles notamment les biocapteurs qui offrent des avantages significatifs en termes de temps, de sensibilité, de spécificité et pourraient contribuer à améliorer la rapidité et la précision des diagnostics des pathogènes. Les méthodes basées sur les aptamères sont similaires aux méthodes basées sur les anticorps, qui présentent également une sensibilité et une sélectivité élevée. Bien que la miniaturisation des capteurs, tels que les capteurs micro fluidiques, soit souhaitable pour des raisons de simplicité, de stockage et de transport.

Les méthodes actuelles et émergentes de détection des pathogènes présentent des avantages et des limites, mais la recherche continue pour trouver de nouvelles techniques afin d'améliorer la rapidité et la précision et de veiller à la santé publique et à la sécurité alimentaire.



## **Références bibliographiques**



Références bibliographiques

- Ahmad Najib, M., Selvam, K., Khalid, M. F., Ozsoz, M., & Aziah, I. (2022).** Quantum Dot-Based Lateral Flow Immunoassay as Point-of-Care Testing for Infectious Diseases: A Narrative Review of Its Principle and Performance. *Diagnostics***12**, 2158.
- Alhabbab, R. Y. (2022).** Lateral Flow Immunoassays for Detecting Viral Infectious Antigens and Antibodies. *Micromachines***13**, 1901.
- Lacombe, N., Marchand, G (2015).**Détection moléculaire des bactéries du genre *Légionella* dans l'eau des tours de refroidissement et l'eau de consommation. *Études Et Recherches RAPPORT R-887* IRSST Direction des communications et de la valorisation de la recherche.
- Bahadır, E. B., & Sezgintürk, M. K. (2016).** Lateral flow assays: Principles, designs and labels. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry***82**, 286–306.
- Baron, D., Raharijaona, M., & Houlgatte, R. (2007).** Puces à ADN. *Itbm-Rbm* **28**, 210–215.
- Beltran, P. M. J., Federspiel, J. D., Sheng, X., & Cristea, I. M. (2017).** Proteomics and integrative omic approaches for understanding host .*pathogen interactions and infectious diseases*. 1–18.
- Benserhir, Y. (2022).** Fabrication de nano-capteurs électroniques pour la détection de bactéries pathogènes (thèse de doctorat).L'université de Rennes.p150.
- Berthet, N. (2013).** La puce à ADN de reséquençage : un outil rapide pour mieux identifier et comprendre une émergence virale etbactérienne. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine***197**, 1669–1682.
- Boehm, D. A., Gottlieb, P. A., & Hua, S. Z. (2007).** On-chip microfluidic biosensor for bacterial detection and identification.*Sensors and Actuators B***126**, 508–514.
- Bonnefoy, C., Guillet, F., Leyral, G., & Verne-Bourdais, É. (2002).** Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. 150–151.
- Bouchez, T., Blieux, A. L., Dequiedt, S., Domaizon, I., Dufresne, A., Ferreira, S., Godon, J.-J., Hellal, J., Jouliau, C., & Quaiser, A. (2016).**La microbiologie moléculaire au service du diagnostic environnemental. Synthèse de Recherche. Contrat n° 1406C0050. Projet de recherche coordonné par:" Observatoire des sols vivants". 34.
- Bouguelia, S. (2013).** Développement de biopuces dédiées à la détection et quantification de bactéries pathogènes à faibles taux(thèse de doctorat).Université de Grenoble, 163 p.
- Chang, C. C., Chen, C. C., Wei, S. C., Lu, H. H., Liang, Y. H., & Lin, C. W. (2012).** Diagnostic devices for isothermal nucleic acid amplification. *Sensors (Switzerland)***12**, 8319–8337.
- Chauveau, F., Pestourie, C., & Tavitian, B. (2006).**Aptamers : selection and scope of applications. *Pathologie Biologie***54**, 251–258.
- Cheng, Z., Wang, E., & Yang, X. (2001).** Capacitive detection of glucose using molecularly imprinted polymers. *Biosensors and Bioelectronics***16**, 179–185.



- Chukwuka, R., Sui, N., Ke, B., Luo, Z., Bhalla, N., He, D., & Yang, Z. (2022).** Biosensors for rapid detection of bacterial pathogens in water , food and environment.*Environment International***166**, 107357.
- Cifuentes, A. (2009).** Food analysis and Foodomics.*Journal of Chromatography A***1216**, 9673.
- Croxatto, A., Prod'hom, G., & Greub, G. (2012).** Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiology Reviews***36**, 380–407.
- Curulli, A. (2021).** Electrochemical Biosensors in Food Safety : Challenges and Perspectives. *Molecules***26**, 2940.
- Conseil Supérieur de la Santé (2021).**L'état actuel des technologies « omiques » et leur application clinique. Bruxelles: CSS; 2021. Avis n° 9477.
- Devauchelle, V., & Chiocchia, G. (2004).** What place for DNA microarray in inflammatory diseases.*Revue de Medecine Interne***25**, 732–739.
- Donatin, E., & Drancourt, M. (2011).** Diagnostic des infections bactériennes par les puces à ADN. *Bio Tribune Magazine***39**, 4–13.
- Eilers, A., Scheper, T., & Walter, J. (2018).** Aptamer-based lateral flow assays. *AIMS Bioengineering***5**, 78–102.
- Eksin, E., & Erdem, A. (2023).** Recent Progress on Optical Biosensors Developed for Nucleic Acid Detection Related to Infectious Viral Diseases 1–18.*Micromachines***14**, 295.
- Ellis, D. I., Muhamadali, H., Chisanga, M., & Goodacre, R. (2019).** Omics Methods For the Detection of Foodborne Pathogens. *In Encyclopedia of Food Chemistry***1**, 364- 370.
- Fakruddin, M., Mazumdar, R., Chowdhury, A., & Mannan, K. (2012).** Nucleic acid sequence based amplification (NASBA)-prospects and applications. *Int J Life Sci Pharma Res***2**, 106.
- Food and Agriculture Organization. (2007).**Les bonnes pratiques d'hygiène dans la préparation et la vente des aliments de rue en afrique.
- Food and Agriculture Organization, O. et. (2019).** La sécurité sanitaire des aliments, c'est l'affaire de tous .*OMS et FAO*.
- Fernández-fuentes, M. A., Morente, E. O., Abriouel, H., Pulido, R. P., & Gálvez, A. (2012).** Isolation and identification of bacteria from organic foods : Sensitivity to biocides and antibiotics. *Food Control***26**, 73–78.
- Ferone, M., Scannell, A. G. M., & Gowen, A. (2020).** Microbial detection and identification methods : Bench top assays to omics approaches. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 1–24.
- Ferrarini, A., Jacquemont, S., Beck Popovic, M., Bonafé, L., & Martinet, D. (2010).** Puce à ADN: Pourquoi et pour qui?. *Revue Medicale Suisse***6**, 390–396.
- Gracias, K. S., & Mckillip, J. L. (2004).** review of conventional detection and enumeration methods

- for pathogenic bacteria in food. *Canadian Journal of Microbiology* **50**, 883–890.
- Graveta, A., & Camdessouens-Miehéa, G. (2011).** Application de la spectrométrie de masse à la microbiologie. *Elsevier Masson SAS*. 55-63
- GUYOMAR, C. (2018).** Développement et applications d'outils d'analyse métagénomique des communautés microbiennes associées aux insectes (thèse de doctorat). université de RENNES.
- Hameed, S., Xie, L., & Ying, Y. (2018).** Conventional and Emerging Detection Techniques for Pathogenic Bacteria in Food Science: A Review. *Trends in Food Science & Technology*.
- Haupt, K., & Fradet, A. (2001).** Polymères à empreintes moléculaires : Principe et applications. In *Actualité Chimique* (Issue 4, pp. 23–32).
- He, Y.; Yan, W.; Long, L.; Dong, L.; Ma, Y.; Li, C.; Xie, Y.; Liu, N.; Xing, Z.; Xia, W.; & Li, F. (2023).** The CRISPR/Cas System: A Customizable Toolbox for Molecular Detection. *Genes* **14**, 850.
- Hoorfar, J. (2011).** Rapid detection, characterization, and enumeration of foodborne pathogens. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica* **119**, 1–24.
- Knox, A., & Beddoe, T. (2021).** Isothermal Nucleic Acid Amplification Technologies for the Detection of Equine Viral Pathogens. *Animals* **11**, 2150.
- Kulkarni, M. B., Ayachit, N. H., & Aminabhavi, T. M. (2022).** Biosensors and Microfluidic Biosensors : From Fabrication to Application. *Biosensors* **12**, 543.
- Kumar, P., Malik, Y. S., Ganesh, B., Rahangdale, S., Saurabh, S., Natesan, S., Srivastava, A., Sharun, K., Yattoo, M. I., Tiwari, R., Singh, R. K., & Dhama, K. (2020).** CRISPR-Cas System : An Approach With Potentials for COVID-19 Diagnosis and Therapeutics. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **10**, 1–13.
- Lamoril, J., Bogard, M., Ameziane, N., Deybach, J., & Bouizegarène, P. (2007).** *Biologie moléculaire et microbiologie clinique en 2007 Généralités - Partie 1 Molecular biology in clinical microbiology in 2007 - Part 1.* **22**, 5–18.
- Lauri, A., & Mariani, A. P. O. (2009).** Potentials and limitations of molecular diagnostic methods in food safety. *Genes Nutr* **4**, 1–12.
- Law, J. W., Mutalib, N. A., Chan, K., & Lee, L. (2015).** Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens : principles , applications , advantages and limitations . *Frontiers in Microbiology* **5**, 1–19.
- Li, M., Jiang, F., Xue, L., Peng, C., Shi, Z., Zhang, Z., Li, J., Pan, Y., Wang, X., Feng, C., Qiao, D., Chen, Z., Luo, Q., & Chen, X. (2022).** Recent Progress in Biosensors for Detection of Tumor Biomarkers. *Molecules* **27**, 7327.

- Lukose, J., Barik, A. K., Mithun, N., Pavithran, M. S., George, S. D., Murukeshan, V. M., & Chidangil, S. (2023).** Raman spectroscopy for viral diagnostics. *Biophysical Reviews*. Springer.
- Mikhail, Xue, L., Candice, P., Wai-Yee, L., & Lori Roberts, B., Inc., Fremont, CA. (2017).** Comparison of Nucleic Acid Gel Stains Cell permeability, safety, and sensitivity of ethidium bromide alternatives. *Biotium*. 1-4.
- Menet, M. C. (2011).** Principes de la spectrométrie de masse. *Revue Francophone Des Laboratoires* 437 , 41–53.
- Nan, M., Darmawan, B. A., Go, G., Zheng, S., Kim, S., Lee, T., Choi, E., Park, J. O., & Bang, D. (2023).** Wearable Localized Surface Plasmon Resonance- Based Biosensor with Highly Sensitive and Direct Detection of Cortisol in Human Sweat. *Biosensors* 13, 1–13.
- Nehra, M., Kumar, V., Kumar, R., Dilbaghi, N., & Kumar, S. (2022).** Current Scenario of Pathogen Detection Techniques in Agro-Food Sector. *Biosensors* 12, 489.
- Idil, N., & Mattiasson, B. (2017).** Imprinting of Microorganisms for. *Sensors* 17, 1–15.
- Nieuwkerk, D. M., Korajkic, A., Valdespino, E. L., Herrmann, M. P., Harwood, J., & Agency, E. P. (2021).** Critical Review of Methods for Isothermal Amplification of Nucleic Acids for Environmental Analysis. *Journal Microbiol Methods* 179 , 106099.
- Nikoleli, G., Siontorou, C. G., Nikolelis, D. P., Bratakou, S., Karapetis, S., & Tzamtzis, N. (2018).** Biosensors Based on Microfluidic Devices Lab-on-a-Chip and Microfluidic Technology. In *Nanotechnology and Biosensors*. 375 -392.
- Organisation Mondiale de la Santé. (2014).** Note d'orientation sur le diagnostic du paludisme dans les contextes de faible transmission Cadre général.
- Organisation Mondiale de la Santé. (2020).** *Sécurité sanitaire des aliments*. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/food-safety%0ASécurité>.
- Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec. (2017).** *Guide de microbiologie Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec*. Bibliothèque et Archives nationales du Québec.
- Padzil, F., Mariatulqabthiah, A. R., Tan, W. S., Ho, K. L., Isa, N. M., Lau, H. Y., Abu, J., Chuang, K. (2022).** Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) as a Promising Point-of-Care Diagnostic Strategy in Avian Virus Research. *Animals* 12, 76.
- Panisset, J. C., Dewailly, E., & Doucet-Leduc, H. (2003).** Contamination alimentaire. In *Environnement et Santé publique - Fondements et pratiques*.
- Patris, S., Vandeput, M., & Kauffmann, J. (2015).** Antibodies as target for affinity biosensors. *Trends in Analytical Chemistry*.
- P, Tetyana, P.M, Shumbula and Z.N-Tetyana. (2021).** Biosensors: Design, Development and Applications. *IntechOpen*.

- Rozenblum, G. T., Lopez, V. G., & Vitullo, A. D. (2016).** Aptamers : current challenges and future prospects. *Expert Opinion on Drug Discovery***11**, 127–135.
- Sachse, K., Nat, R. E. R., & Frey, J. (2003).** PCR Detection of Microbial Pathogens: Methods and Protocols. *Methods in Molecular Biology***216**.
- Savan, R., Kono, T., Itami, T., & Sakai, M. (2005).** Loop-mediated isothermal amplification: an emerging technology for detection of fish and shellfish pathogens. *Journal of Fish Diseases***28**, 573–581.
- Shen, Z., Hou, N., Jin, M., Qiu, Z., Wang, J., Zhang, B., Wang, X., & Wang, J. (2014).** A novel enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Escherichia coli O157: H7 using immunomagnetic and beacon gold nanoparticles. *Gut Pathogens***6**, 141–8.
- Shirshikov, F. V., & Bespyatykh, J. A. (2022).** Loop-Mediated Isothermal Amplification: From Theory to Practice. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry***48**, 1159–1174.
- Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P. K., & Virdi, J. S. (2015).** MALDI-TOF mass spectrometry: An emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology* **6**, 1–16.
- Touron, A., Berthe, T., Pawlak, B., & Petit, F. (2005).** Detection of Salmonella in environmental water and sediment by a nested-multiplex polymerase chain reaction assay. *Research in Microbiology***156**, 541–553.
- Tsugunori, N., Hiroto, O., Harumi, M., Toshihiro, Y., Kelko, W., Nobuyuki, A., & Tetsu, H. (2000).** Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research***28**, 12.
- Uhel, F., & Zafrani, L. (2019).** New Techniques in Molecular Biology. *Medecine Intensive Reanimation***28**, 464–472.
- Vázquez-villegas, P., Hosseini, S., Rito-palomares, M., & Martinez-chapa, S. O. (2018).** Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) From A to Z Springer Briefs in Applied Sciences.
- John R. Crowther. (2009).** The ELISA Guidebook Second Edition. International Atomic Energy Agency, Animal Production & Health Section, Vienna, Austria.
- Wan, Q., Liu, X., & Zu, Y. (2021).** Oligonucleotide aptamers for pathogen detection and infectious disease control. *Theranostics***11**, 9133–9161.
- Wang, X., Zhong, M., Liu, Y., Ma, P., Dang, L., Meng, Q., & Wan, W. (2020).** Rapid and sensitive detection of COVID-19 using CRISPR/Cas12a-based detection with naked eye readout, CRISPR/Cas12a-NEER. *Science Bulletin* **65**, 1436–1439.
- Wu, Y., Battalapalli, D., Hakeem, M. J., Selamneni, V., & Zhang, P. (2021).** Engineered CRISPR-Cas systems for the detection and control of antibiotic-resistant infections. *Journal of Nanobiotechnology***19**, 1–26.
- Xihong Zhao, Chii-Wann Lin, Jun Wang, and D. H. O. (2014).** Advances in Rapid Detection

- Methods for Foodborne Pathogens. *J. Microbiol. Biotechnol***24**, 297–312.
- Xu, D., Huang, X., Guo, J., & Ma, X. (2018).** Automatic Smartphone-based Microfluidic Biosensor System at the Point of Care, *Biosensors and Bioelectronic* .
- Yuxuan He, et al. (2023).** The CRISPR / Cas System : A Customizable Toolbox for. *Genes***14**.
- Zhao,X., Lin,C.W., Wang,J., & Oh, D. H.(2014).** Advances in Rapid Detection Methods for Foodborne Pathogens. *Journal Microbiol. Biotechnol* **24**, 297–312.
- Zeng, L., Wang, L., & Hu, J. (2018).** Current and Emerging Technologies for Rapid Detection of Pathogens. *Biosensing Technologies for the Detection of Pathogens - A Prospective Way for Rapid Analysis*.
- Zhang, J., Wang, Y., & Lu, X. (2021).** Molecular imprinting technology for sensing foodborne pathogenic bacteria. *Analytical and Bioanalytical Chemistry***413**, 4581–4598.

## الملخص

خلال السنوات الأخيرة الماضية، أصبحت الأمراض التي تنقلها الأغذية عائقاً رئيسياً أمام الصحة العامة العالمية، بسبب تلوث الأطعمة بعدة أنواع من الميكروبات، لذلك من المهم جداً الكشف عن هذه العوامل الممرضة بطريقة سريعة وموثوقة لضمان الأمن الغذائي ومنع انتشارها عبر الغذاء. الطرق القديمة أو ما يسمى بالطرق التقليدية المستخدمة للكشف عن الكائنات الدقيقة المسببة للأمراض مثل التقنيات التي تتضمن أساليب الزراعة، الطرق المناعية و تقنيات الحمض النووي قياس الطيف الكتلي هذه الأخيرة يمكن ان تكون طويلة وشاقة، ولهذا السبب فالسنوات الأخيرة ظهرت تقنيات حديثة مثل أجهزة الاستشعار الحيوي البصرية والكهروكيميائية والحساسة للكتلة، وتقنيات الأحماض النووية مثل التكنولوجيا omique ونظام CRISPER CAS، رقائق الحمض النووي على شكل منصات مصغرة، بالإضافة إلى الاختبار القائم على الأبتامر والطباعة الجزيئية. هذه الأساليب تعطي نتائج موثوقة وفي وقت قصير، سهلة الاستعمال، حساسة وأقل تكلفة. بصفة عامة، جميع تقنيات الكشف عن مسببات الأمراض التي تنقلها الأغذية لها مبدأ عمل خاص بها، و عدة فوائد مع حدود وتطبيقات معينة. **الكلمات المفتاحية:** ميكروبات ممرضة، الأساليب الناشئة، أساليب الكشف، الأساليب التقليدية.

## Abstract

In recent years, food-borne disease has become a major public health issue, due to the contamination of deferential foods with specific pathogens. Therefore, it is important to detect foodborne pathogens quickly and reliably to ensure food security and prevent the spread of foodborne diseases. Conventional or so-called traditional methods used for the detection of pathogenic microorganisms such as techniques involving cultivation methods, immunological methods, molecular methods and mass spectrometry can be long and laborious, consequently in recent years there has been an emergence of modern techniques, such as optical, electrochemical and mass-sensitive biosensors, nucleic acid techniques such as omic technology and the CRISPER CAS system, DNA microarray that are miniaturized platforms, in addition, aptamer-based testing and molecular printing. These methods give reliable results in a short time, easy to handle, sensitive and less expensive. In general, each food-borne pathogen detection technique has a specific principle, with specific benefits, limitations and applications.

**Keywords:** Pathogenic germs, Emerging methods, Detection methods, Conventional methods.

## Résumé

Au cours des dernières années, les maladies d'origine alimentaire sont devenues un obstacle majeur pour la santé publique mondiale en raison de la contamination des différents aliments par des agents pathogènes spécifiques. Donc, il est important de détecter les pathogènes d'origine alimentaire de façon rapide et fiable pour garantir la sécurité alimentaire et prévenir la propagation des maladies d'origine alimentaire. Les méthodes conventionnelles ou dites traditionnelles utilisées pour la détection des microorganismes pathogènes telles que les techniques impliquant les méthodes de culture, les méthodes immunologiques, les méthodes moléculaire et la spectrométrie de masse peuvent être longues et laborieuses, c'est pour cette raison que ces dernières années il y a eu une émergence des techniques modernes, comme les biocapteurs optiques, électrochimiques et ceux sensible à la masse, les techniques à base d'acide nucléique telles que la technologie omique et le système CRISPER CAS, les puces à ADN qui sont des plateformes miniaturisés, en outre, les essais à base d'aptamère et l'impression moléculaire. Ces méthodes donnent des résultats fiables en peu de temps, faciles à la manipulation, sensibles et moins couteuses. En général, chaque technique de détection des agents pathogènes d'origine alimentaire à un principe spécifique, présentant des avantages, des limites et des applications précises.

**Mots-clés :** Germes pathogènes, Méthodes émergentes, Méthodes de détection, Méthodes conventionnelles.