

Avis de Soutenance

Madame Pauline ZIMMER

Ingénierie pour le vivant

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés
*Développement d'un biocapteur hybride couplant électrocinétique et imagerie plasmonique pour la
détection rapide, spécifique et à faible seuil de Dickeya dans les eaux d'irrigations*

Soutenance prévue le **jeudi 03 septembre 2026** à 14h00

Lieu : 36 avenue Guy de Collongue, 69134 Écully

Salle : Amphi 1bis du bâtiment W1

Composition du jury proposé

Mme Emmanuelle LAURENCEAU	Maîtresse de conférences HDR	Ecole Centrale de Lyon	Directrice de thèse
Mme Elise GHIBAUDO	Professeure des universités	IUT 1 de Grenoble	Examinatrice
Mme Marie FRÉNÉA-ROBIN	Professeure des universités	Lyon 1 Université Claude Bernard	Co-directrice de thèse
M. Julien MARCHALOT	Maître de conférences	INSA Lyon	Co-encadrant de thèse
M. Pedro A. VASQUEZ	Professeur associé	Université de Seville	Examineur
Mme Yanxia HOU-BROUTIN	Directrice de recherche	LABORATOIRE SYMMES- CEA GRENOBLE	Rapporteuse
Mme Aude BOLOPION	Directrice de recherche	Institut FEMTO-ST	Rapporteuse
M. Guy CONDEMINÉ	INSA Lyon	Invité	
M. Julien MOREAU	Université de Paris Saclay	Invité	

Mots-clés : Biocapteur, électrocinétique, plasmonique, fonctionnalisation de surface,
Caractérisation de surface, Dickeya

Résumé :

Les bactéries phytopathogènes transmises par l'eau d'irrigation représentent une menace majeure pour la production agricole et la sécurité alimentaire. Parmi elles, les bactéries du genre *Dickeya*, responsables de la pourriture molle de la pomme de terre, peuvent se propager à de très faibles concentrations, rendant leur détection précoce particulièrement difficile. Les biocapteurs de surface constituent une approche prometteuse pour une détection rapide et sans marquage, mais leurs performances restent souvent limitées par un transport de masse lent à faible concentration d'analyte. Cette thèse présente le développement d'un biocapteur plasmonique hybride combinant l'imagerie par résonance plasmonique de surface (SPRI) et l'électrocinétique en courant alternatif (ACEK), afin d'améliorer activement le transport des cibles vers la surface sensible. Le système intègre des électrodes d'or microstructurées qui, lorsqu'elles sont polarisées, génèrent des champs électriques induisant des phénomènes d'électroosmose en courant alternatif (ACEO) et de diélectrophorèse (DEP). Ces phénomènes ont été étudiés à l'aide d'un dispositif expérimental permettant une observation en coupe des recirculations et de simulations numériques, permettant d'optimiser la géométrie des électrodes, la tension, la fréquence et la conductivité du milieu. Les conditions optimales ont été obtenues pour des conductivités inférieures à 10 mS/m, une tension d'environ 10 Vpp à 1 kHz entre des électrodes séparées d'environ 200 µm. Pour assurer la reconnaissance spécifique des bactéries, la surface d'or a été biofonctionnalisée avec des anticorps anti-*Dickeya* orientés via une chimie click SPAAC entre des anticorps modifiés avec un azide et des couches antifouling à base d'éthylène glycol (EG) portant un groupe dibenzocyclooctyne (DBCO). Différentes stratégies ont été étudiées : co-fonctionnalisation ou « backfilling », avec différentes natures de PEG/OEG et ratios DBCO. L'organisation de surface a été caractérisée par IR, XPS et AFM, tandis que l'immobilisation et l'accessibilité des anticorps ont été évaluées par fluorescence et SPR. Une co-fonctionnalisation PEG avec un ratio DBCO :OH de 1:8 s'est révélée être la chimie la plus performante, améliorant l'accessibilité des anticorps et la détection bactérienne. L'influence de la conductivité sur les interactions antigène-anticorps a été étudiée par ELISA et SPRI sur une large gamme (10 à 1500 mS/m), confirmant que les interactions spécifiques restent efficaces dans des conditions compatibles avec l'ACEK, bien que les cinétiques de liaison soient ralenties. L'intégration de l'ACEK au SPRI a permis une préconcentration active des bactéries vers la surface sensible. Dans les conditions optimisées, la plateforme hybride a permis une détection rapide et spécifique de *Dickeya* à des concentrations de l'ordre de 104 CFU/mL en quelques minutes, soit une amélioration d'au moins deux ordres de grandeur par rapport au SPRI conventionnel. Ce travail établit une plateforme ACEK-SPRI intégrée combinant transport actif, biorecognition spécifique et transduction plasmonique. Au-delà de la détection de *Dickeya*, cette approche ouvre des perspectives pour la détection multiplexée, sans marquage et sur site de pathogènes bactériens dans les systèmes d'irrigation agricoles.

Summary:

Plant pathogenic bacteria transmitted through irrigation water represent a major threat to agricultural production and food security. Among them, *Dickeya* spp., responsible for soft rot and blackleg diseases in potato crops, can spread at very low bacterial concentrations, making early detection particularly challenging. Surface-based biosensors offer promising solutions for rapid and label-free detection, but their performance is often limited by slow mass transport at low analyte concentrations. This thesis presents the development of a hybrid plasmonic biosensor combining Surface Plasmon Resonance Imaging (SPRI) with Alternating Current Electrokinetics (ACEK) to actively enhance target transport toward the sensing surface. The SPRI system integrates patterned gold electrodes that, once polarized, generate electric fields inducing Alternating Current Electroosmosis (ACEO) and Dielectrophoresis (DEP). These phenomena were first investigated through a dedicated side-view visualization setup and supported by numerical simulations to guide the selection of electrode geometry, applied voltage, frequency, and medium conductivity for efficient particle trapping. Both coplanar and top bottom electrodes configuration were investigated and experimental results showed that optimal EK conditions were obtained in conductivity media below 10 mS/m for an applied voltage around 10 V_{pp} at 1 kHz between electrodes separated by around 200 μ m. To enable specific bacterial recognition, the gold surface was functionalized with oriented anti-*Dickeya* antibodies using strain-promoted azide-alkyne cycloaddition (SPAAC) click chemistry between azide-modified antibodies and dibenzocyclooctyne (DBCO)-terminated ethylene glycol (EG)-based antifouling layers. Several surface functionalization strategies were investigated, including one-step and co-functionalization approaches, with various PEG/OEG linker types, chain lengths, and DBCO:OH ratios. Surface organization and physicochemical properties were systematically characterized by infrared spectroscopy (IR), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), and atomic force microscopy (AFM), while antibody immobilization and accessibility were assessed by fluorescence labeling and SPR measurements. Among the tested configurations, PEG co-functionalization with a diluted DBCO:OH ratio of 1:8 emerged as the most suitable strategy, providing improved antibody accessibility and enhanced bacterial detection by SPR. Because ACEK effects require low conductivity media, the influence of conductivity on antigen-antibody interactions was investigated using ELISA and SPRI measurements over a broad conductivity range, from 1500 mS/m down to 10 mS/m. These experiments confirmed that specific interactions remain effective under low-conductivity conditions compatible with ACEK operation, although with slower binding kinetics. The integration of ACEK with SPRI enabled active bacterial preconcentration and accelerated mass transport at the sensing surface. Under optimized conditions, the hybrid platform achieved rapid and specific detection of *Dickeya* at concentrations around 10⁴ CFU/mL within a few minutes, representing an improvement of at least two orders of magnitude compared with conventional SPRI. Preliminary results also highlighted the importance of surface chemistry optimization and matrix effects for realistic detection limit assessment. Overall, this work establishes a fully integrated ACEK-SPRI biosensing platform combining active transport, specific biorecognition, and plasmonic transduction. Beyond *Dickeya* detection, this approach opens perspectives for multiplexed, label-free, and on-site monitoring of bacterial pathogens in agricultural water systems.