



HAL
open science

Contribution aux technologies de génération d'impulsions électriques ultracourtes pour application dans le domaine de la bioélectricité

Nour Tabcheh

► **To cite this version:**

Nour Tabcheh. Contribution aux technologies de génération d'impulsions électriques ultracourtes pour application dans le domaine de la bioélectricité. Energie électrique. Université de Limoges, 2023. Français. NNT : 2023LIMO0073 . tel-04438222

HAL Id: tel-04438222

<https://theses.hal.science/tel-04438222>

Submitted on 5 Feb 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Limoges
ED 653 - Sciences et Ingénierie (SI)
Xlim – UMR 7252

Thèse pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université de Limoges
Génie électrique, électronique, photonique et systèmes

Présentée et soutenue par
Nour TABCHEH

Le 13 décembre 2023

**Contribution aux technologies de génération d'impulsions
électriques ultracourtes pour application dans le domaine de la
bioélectricité**

Thèse dirigée par Delia ARNAUD-CORMOS et Vincent COUDERC

Composition du jury :

Rapporteurs

M. Jean Paillol	Professeur, Laboratoire SIAME, Université de Pau et Pays de l'Adour
Mme. Noëlle Lewis	Professeur, Laboratoire IMS, Université de Bordeaux

Examineurs

M. Joël Andrieu	Professeur, Laboratoire Xlim, Université de Limoges
Mme. Rosa Orlacchio	Maître de conférences, Laboratoire IMS, Université Paris Sciences & Lettres

Directeurs de thèse

Mme. Delia Arnaud-Cormos	Maître de conférences, Laboratoire Xlim, Université de Limoges
M. Vincent Couderc	Professeur, Laboratoire Xlim, Université de Limoges



A mes parents,
Vous êtes partis très tôt, mais votre amour restera avec moi pour toujours.

"But man is not made for defeat," he said. "A man can be destroyed but not defeated."

Ernest Hemingway

Remerciements

Dans le cadre de mes travaux de recherche effectués à l'Institut de recherche Xlim, je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers Mme. Delia Arnaud-Cormos et M. Vincent Couderc, respectivement maître de conférences et professeur des universités à l'Université de Limoges pour leur confiance et leur encadrement durant cette thèse. Je tiens également à remercier M. Philippe Leveque, directeur de recherche, pour ses corrections minutieuses et sa relecture.

Je souhaite également adresser mes remerciements à M. Jean Paillol, professeur des universités à l'Université de Pau et des Pays de l'Adour, ainsi qu'à Mme Noëlle Lewis, professeur des universités à l'Université de Bordeaux, d'avoir accepté d'être rapporteurs pour cette thèse.

Je tiens à exprimer ma gratitude envers M. Joël Andrieu, professeur des universités à l'Université de Limoges, et Mme. Rosa Orlacchio, maître de conférences à l'Université de Bordeaux, pour avoir accepté d'examiner attentivement mon manuscrit.

Un grand merci s'adresse également à mes collègues et amis au laboratoire. À Amani pour tes conseils. À Eduard, je suis reconnaissante pour ton soutien indéfectible, tes encouragements et nos débats enrichissants. Même si je ne l'admets pas souvent, tu m'as apporté une grande quantité de connaissances et de perspectives différentes. Tu es le meilleur (un grand bisou à Abi au passage). À Vincent, pour nos nombreuses pauses café, nos discussions scientifiques, et nos échanges informels. À Ricardo, pour tes précieux conseils en CST. À Elisa, pour les sorties, les soirées, les conseils et surtout les moments de détente. À Mouayd pour toutes les dosettes de café que je t'ai volées. À Monsieur Legal, pour ton humour ton empathie et ton soutien. Je te souhaite une vie merveilleuse avec Madame Legal. À Benjamin, merci de m'avoir fait confiance, merci pour nos longues conversations et nos profondes discussions. À Mohamed, pour nos discussions stimulantes. Enfin, un grand merci aux nouveaux arrivants : Nina, je n'imaginai pas que nous deviendrions aussi proches en si peu de temps. Hafsa, pour l'ambiance que tu apportes en salle de manip. Adja, pour les câlins chaleureux (tu es un rayon de soleil). Kariny, la tante de mes futurs chats. Un grand merci également à Lynn, Christian et Yacine, pour votre précieuse présence.

Je tiens également à remercier tout le personnel du service ophtalmologique du CHU de Limoges, vous m'avez sauvé la vue et la vie.

Je tiens à exprimer ma gratitude envers mes amis en dehors du laboratoire. À Antonio, pour nos 10 ans d'amitié passés et les 10 ans à venir. À Damien, pour ta folie, surtout en ce qui concerne les trous noirs qui resteront toujours les objets les plus exotiques. À Elene, pour les fous rires, les larmes, et les nuits blanches. Merci d'avoir été là quand personne d'autre ne l'était. Je t'aime énormément, et je te souhaite tout le bonheur du monde avec ton cher Ali. Sylvana, pour la joie que tu m'as apportée, l'encouragement et les sorties. À nos futures aventures !

Enfin, un très grand merci à ma famille. À mes parents, qui malheureusement ne sont plus parmi nous. J'espère avoir été à la hauteur de vos attentes et que je vous ai rendus fiers. Je ne serais pas la personne forte que je suis aujourd'hui sans vous. Je vous aime profondément. À mes sœurs, Zeina, ma confidente, et mon système de soutien. Un grand merci à Khalil et Rym, mes neveux, ainsi qu'à Arnaud, mon beau-frère. À Amal, ses deux enfants Adam et la petite Nour, et son mari Fidaa. À Maha, Yara et Ayman. À Lina (joyeux anniversaire au passage). Et à mon frère Mohamed. Je ne pourrais jamais suffisamment vous remercier pour votre soutien et votre amour. Vous êtes la meilleure famille au monde.

Enfin, un GRAND merci à mon époux Mohamad, mon cher amour. La personne qui a toujours cru en moi et ne m'a jamais laissé baisser les bras. Merci pour ton amour, ton encouragement, ta confiance, tes relectures et tes corrections. Je t'aime infiniment.

Droits d'auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



Table des matières

Introduction	18
Chapitre I. Effets des impulsions électriques sur les cellules biologiques	23
I.1. Interaction ondes-vivant et Bioélectromagnétisme	23
I.1.1. Les champs électromagnétiques	23
I.2. Bioélectricité	25
I.3. La cellule biologique	26
I.3.1. Point de vue biologique	26
I.3.2. Point de vue physique	28
I.4. Interactions champ électromagnétique – cellule.....	28
I.4.1. L'électroporation réversible.....	30
I.4.2. L'électroporation irréversible.....	31
I.4.3. Influence du couple « intensité-durée » de l'impulsion.....	31
I.5. Applications de l'électroporation.....	32
I.5.1. Applications médicales de l'électroporation réversible	32
Applications médicales de l'électroporation irréversible	37
I.5.2. Applications pour le traitement des aliments.....	38
I.5.3. Applications environnementales	39
I.5.4. Applications militaires	40
I.6. L'électrophorèse	40
I.7. Effets des impulsions de durée de l'ordre de la nanoseconde.....	41
I.7.1. Effets des impulsions ultracourtes (< 2 – 4 ns)	42
Stimulation du milieu intracellulaire	42
I.7.2. Effet de la forme de l'impulsion.....	43
I.8. Systèmes d'exposition aux impulsions électriques.....	43
I.9. Méthodes d'imagerie pour l'étude des effets des nsPEF.....	44
I.9.1. Microscopie à caméra à balayage SCM (Streak camera microscopy)	44
I.9.2. Microscopie stroboscopique (Strobe microscopy).....	45
I.9.3. Imagerie de phase quantitative IPQ (Quantitative phase imaging).....	47
I.10. Conclusion.....	47
Chapitre II. Génération d'impulsions ultracourtes hautes tensions.....	52
II.1. Introduction et principe de la génération d'impulsions	52
II.2. Stockage de l'énergie.....	54
II.2.1. Circuit à condensateur ou inductance.....	54
II.2.2. Circuit à condensateur et inductance (circuit RLC)	55
II.2.3. Ligne de transmission pour la mise en forme de l'impulsion	56
II.2.3.1. Ligne microruban	58
II.2.3.2. Ligne de transmission coaxiale	58
II.2.4. Réseaux de ligne de transmission	59
II.2.4.1. Générateur Marx.....	59
II.2.4.2. Générateur Blumlein	60
II.2.5. Transformateur piézoélectrique de type Rosen	61
II.3. Éléments commutateurs	62
II.3.1. Commutateurs d'éclateur à gaz	62
II.3.2. Commutateurs liquides.....	64
II.3.3. Commutateurs solides.....	64

II.3.3.1. Transistors	64
II.3.3.1.1. MOSFET	64
II.3.3.1.2. Transistor à avalanche	65
II.3.3.1.3. Thyristors.....	65
II.3.3.2. Diodes.....	66
II.3.3.3. Commutateurs optoélectroniques à semi-conducteurs.....	66
II.4. Conclusion sur la génération impulsionnelle de tension	67
II.5. Mise en place d'un générateur optoélectronique	68
II.5.1. Impulsions unipolaires	69
PCSS1 fermé et PCSS2 ouvert.....	69
PCSS1 fermé et PCSS2 fermé et connecté sur une charge de mise en forme 50 ohms	69
II.5.2. Impulsions bipolaires	70
II.5.3. Impulsions bipolaires déséquilibrée	70
II.5.4. Impulsions paires décalées	71
II.6. Générateur d'impulsions de durée de l'ordre de la ns	72
II.6.1. Mise en place du générateur	72
Présentation de l'expérimentation	72
Déclenchement par laser.....	72
PCSS	73
Ligne de transmission	74
II.6.2. Caractérisation du générateur	75
II.6.2.1. Caractérisation fréquentielle du boîtier métallique à 3 ports	75
II.6.2.2. Caractérisation temporelle du générateur	78
Modulation de la forme des impulsions générées	78
Effet de la tension de polarisation	80
II.6.3. Génération d'impulsions avec deuxième polarité décalée.....	84
II.6.4. Caractérisation fréquentielle des câbles coaxiaux	84
II.6.5. Impulsions générées	85
II.6.6. Conclusion sur les performances du générateur 1 ns	88
II.7. Générateur d'impulsions de durée de quelques centaines de ps	89
II.7.1. Mise en place du générateur	89
II.7.2. Caractérisation fréquentielle du boîtier métallique.....	92
II.7.3. Caractérisation temporelle préliminaire du générateur.....	93
II.8. Génération d'impulsions de l'ordre de 100 ps et spectroscopie micro-ondes mono-coup.....	94
II.8.1. Mise en place du générateur	94
Expérimentation mise en place.....	94
II.8.2. Exemples d'impulsions générées	95
Impulsions bipolaires.....	95
Impulsions unipolaires successives	96
II.8.3. Spectroscopie mono-coup	97
II.8.3.1. Mesures expérimentales	98
II.8.3.2. Modélisation et simulation numérique	98
II.8.4. Conclusion sur la génération ps et la spectroscopie micro-ondes mono-coup ...	101
II.9. Conclusion générale du chapitre	101
Chapitre III. Les applicateurs d'impulsion	106

III.1. Introduction	106
III.2. État de l'art sur les applicateurs	107
III.2.1. Applicateurs en contact direct avec l'échantillon	107
III.2.1.1. Cuvettes d'électroporation (<i>Application in vitro</i>).....	107
III.2.1.2. Systèmes microfluidiques (<i>Application in vitro</i>).....	109
III.2.1.3. Applicateurs à électrodes planaires (<i>Application in vitro, in vivo</i> et clinique)	112
III.2.1.4. Applicateurs à électrodes filaires/ aiguilles (<i>Application in vivo</i> et clinique).114	
III.2.2. Applicateurs sans contact direct avec l'échantillon	117
III.2.2.1. Antennes ultralarge bande	117
III.2.2.2. Cellules TEM.....	118
III.2.3. Conclusion sur l'état de l'art sur les applicateurs	119
III.3. Applicateur optoélectronique.....	120
III.3.1. Modélisation numérique.....	121
III.3.1.1. CST suite studio.....	121
III.3.1.2. Construction du modèle 3D de l'applicateur optoélectronique	122
Partie externe - polyéther sulfone (PES)	122
La fibre optique multimodale (MMF) centrale.....	122
III.3.1.3. Études paramétriques	124
III.3.1.4. Optimisation de la structure.....	129
III.3.1.4.1. Fibre de courte longueur - 1.5 mm.....	130
III.3.1.4.2. Fibre de taille 5 cm	136
III.3.1.5. Les circuits de connexion	142
III.3.1.5.1. Câbles coaxiaux	142
III.3.1.5.2. Les connecteurs SMA.....	142
III.3.1.5.3. Les lignes microrubans.....	143
III.3.1.5.4. Connexion de l'applicateur optoélectronique	143
III.3.2. Caractérisation fréquentielle de la fibre.....	145
III.3.3. Comparaison entre les résultats numériques et expérimentaux.....	146
III.4. Conclusion	148
Conclusion générale et perspectives	151
Références bibliographiques	155
Liste des publications et communications.....	180

Table des illustrations

Figure 1 : La répartition des champs électromagnétiques en fonction de la fréquence et des exemples d'applications dans des domaines variés [1].....	24
Figure 2 : Illustration schématique des technologies d'expérimentation pour un système d'exposition in vitro de cellules aux impulsions de champs électriques [11].	26
Figure 3 : Composition d'une cellule eucaryote (adaptée de [13]).....	27
Figure 4 : Modélisation et composition simplifiée (a) de la cellule biologique avec son environnement et (b) de la structure de la membrane cellulaire avec la bicouche lipidique montrant la tête et les deux queues de chaque molécule de phospholipide (adaptés de [14]).	27
Figure 5 : a) Structure d'une cellule biologique (telle qu'elle serait vue avec un microscope optique) et b) circuit électronique «équivalent de la cellule (adaptée de [16]).	28
Figure 6 : Illustration des principaux mécanismes d'interactions des impulsions de champs électriques appliqués à une cellule eucaryote entre deux électrodes de potentiels positif et négatif (adapté de Tom Vernier, ODU).	29
Figure 7 : Illustration de l'électroporation classique induite par les déplacements de charges autour de la membrane plasmique suite à l'application d'impulsions de durée longue (> 50 ns).	30
Figure 8 : Illustration et applications de l'électroporation réversible et irréversible.	31
Figure 9 : (a) Graphe illustrant la séparation des différents régimes d'électroporation présente dans un échantillon cellulaire en fonction de la durée et de l'intensité des impulsions électriques employées. (b) Représentations du taux d'exposition cellulaire en fonction de l'intensité des impulsions. Source [26].	32
Figure 10 : Principe de l'électrochimiothérapie une application adéquate des pulses électriques améliore la perméabilité des cellules cancéreuses, modifiée de [60].	34
Figure 11 : Applications actuelles et potentielles de l'ECT pour le traitement des tumeurs, adaptée de [70].	36
Figure 12 : Électroporation au calcium (a), le calcium est injecté dans la tumeur, ce qui provoque une forte concentration de calcium extracellulaire. (b) Immédiatement après l'injection, la tumeur est électroporée à l'aide d'une électrode (par exemple, une électrode à aiguille), ce qui provoque une perméabilisation transitoire de la membrane cellulaire, permettant au calcium de pénétrer dans la cellule. (c) Le calcium pénètre dans la cellule et provoque la mort des cellules cancéreuses. (d) L'électroporation au calcium provoque la mort des cellules cancéreuses. Extrait de [84].	37
Figure 13 : Exemple d'une surface après biofouling à droite et avant à gauche (extrait de [114]).	39
Figure 14 : Différentes applications des impulsions électriques en fonction de leur durée et intensité du champ électrique, d'après [137].	42
Figure 15 : (a) Dispositif expérimental de la microscopie à camera à balayage. (b) Principes de fonctionnement d'une caméra à balayage d'après [158].	45

Figure 16 : Schéma de la photographie stroboscopique, extrait de [159].	46
Figure 17 : Illustration des paramètres d'une impulsion électrique : l'amplitude maximale, la durée totale ou (FWHM : Full Width at Half Maximum), le temps de montée ou « rise time », l'énergie totale, et la période.	52
Figure 18 : Principe de fonctionnement d'un générateur d'impulsions électriques à onde gelée et ses éléments principaux : une source de haute tension, un élément de stockage de l'énergie, un ou plusieurs éléments commutateurs, et la charge qui absorbe les impulsions générées.	53
Figure 19 : Passage du régime long en régime court. L'énergie totale de l'impulsion est conservée alors que sa durée devient beaucoup plus courte et son amplitude maximale devient plus élevée.	54
Figure 20 : (a) : Circuit équivalent d'un générateur à stockage capacitif composé d'une source de haute tension, d'un condensateur (C), d'un commutateur, et d'une charge (R) ; (b) : Exemple d'impulsions générées avec ce type de générateur ; (c) : Circuit équivalent d'un générateur à stockage inductif composé d'une source de haute tension, d'une inductance (L), d'un commutateur, et d'une charge (R); (d) : Exemple d'impulsions générées par (c).	55
Figure 21 : a) Circuit RLC et ses éléments : une source de haute tension, un condensateur (C) une inductance (L), un commutateur, et une résistance (R). b) Illustration des 3 régimes d'amortissement, source [167].	56
Figure 22 : a) Circuit d'un générateur à ligne de transmission. b) Illustration des étapes de formation des impulsions générées (adapté de [175]).	57
Figure 23 : Ligne microruban 3D (a), vue de face 2D (b) et photographie extraite de [184] (c).	58
Figure 24 : Cable coaxial composé de 3 couches : un conducteur central, une couche diélectrique enrobée par une deuxième couche conductrice, le tout enrobé par un diélectrique isolant. Représentation 3D (a), en coupe 2D (b) et photographie extraite de [185] (c).	59
Figure 25 : Structure d'un générateur Marx à N étages c.à.d. contenant N condensateurs, N résistances identiques pour limiter les problèmes de compatibilité électromagnétique et N commutateurs (adapté de [169]).	60
Figure 26 : a) Schéma d'un circuit équivalent d'un générateur Blumlein. b) Exemple d'impulsions générées par ce type de générateur. Adapté de [167].	61
Figure 27 : Circuit basé sur un transformateur piézoélectrique (adapté de [200]).	62
Figure 28 : a) Commutateur à éclateur constitué de deux électrodes séparées par un gap qui peut être rempli de gaz ou de liquide (inspiré de [212]) et b) photographie d'un éclateur à gaz [213].	63
Figure 29 : Structure d'un MOSFET, avec ses 4 zones principales : la source, le drain reliés aux deux zones de dopage identique P -ou N), la grille reliée à la zone N (ou P) à travers l'oxyde de la grille (adapté de [167]).	65

Figure 30 : a) Structure d'un thyristor a quatre jonctions P, N, P, et N alternativement. Les deux jonctions extrêmes sont liées à l'anode et à la cathode respectivement. La zone P intermédiaire est reliée à la grille. b) Équivalence d'un thyristor avec deux transistors bipolaires.....	66
Figure 31 : Schéma d'un générateur à onde gelée composé de 2 commutateurs optoélectroniques (PCSS1 et PCSS2) et d'une ligne de transmission utilisée pour le stockage de l'énergie, alimenté par une source de haute tension. La ligne de transmission est délimitée par les deux PCSS connectés à une terminaison de mise en forme de l'impulsion (PCSS2) et à une charge de sortie (PCSS1).....	68
Figure 32 : Générations d'impulsions a) unipolaire, b) bipolaire et c) bipolaire déséquilibrée en contrôlant la fermeture des deux PCSS.....	70
Figure 33 : a) Aperçu du générateur d'impulsions et b) profils des impulsions obtenues par l'activation des deux PCSSs avec des délais de 0 ps, 250 ps et 320 ps respectivement. Extrait de [176].	71
Figure 34 : Illustration des formes d'impulsions générées selon la terminaison connecté au PCSS2 : bipolaire et paire, pour un court-circuit et un circuit ouvert, respectivement. Le délai entre les deux polarités est engendré par l'introduction d'un câble entre le PCSS2 et la terminaison du circuit.....	71
Figure 35 : (a) Schéma illustrant le générateur d'impulsions de 0.9 ns. Nous pouvons y distinguer les éléments principaux : les commutateurs PCSSs, la ligne de transmission reliant les PCSS, la source de haute tension, la terminaison, et l'oscilloscope de visualisation remplaçant la charge. (b) Photo du montage expérimental.....	73
Figure 36 : PCSS (X200FG, VMI, USA). a) Schéma présentant la structure, b) Photo [248].	74
Figure 37 : Boitier métallique coaxial à 3 ports. a) Schéma, b) Photo du boitier réalisé.	75
Figure 38 : Montage de mesure des paramètres S du boitier métallique coaxial à 3 ports avec un Vector Network Analyser (VNA).	76
Figure 39 : Comparaison des éléments diagonaux a) S_{11} avec S_{22} et b) S_{21} avec S_{12} du boitier métallique vide pour les fréquences entre 10 kHz et 3 GHz.	76
Figure 40 : Comparaison des éléments diagonaux a) S_{11} avec S_{22} et b) S_{21} avec S_{12} du boitier métallique rempli d'huile pour les fréquences entre 10 kHz et 3 GHz.....	77
Figure 41 : Comparaison des paramètres a) S_{11} et b) S_{21} du boitier métallique vide (pointillé) et rempli d'huile (trait continu) pour les fréquences entre 10 kHz et 3 GHz.	78
Figure 42 : (a) Formes des impulsions générées ainsi que leur temps de montée et la durée totale d'une impulsion. (b) Délai temporel entre les deux polarités dû à la distance entre le PCSS2 et la terminaison du circuit relié au port 2.....	79
Figure 43 : Impulsions bipolaire et paire pour une tension de polarisation de 4 kV et un délai de 5 ns, mise en évidences des interférences par un rectangle rouge, et la partie de l'impulsion due au laser impulsionnel par un rectangle bleu.	80
Figure 44 : Impulsions unipolaires générées avec des tensions de polarisation variables entre 2 et 10 kV.....	81

Figure 45 : Impulsions bipolaires générées avec des tensions de polarisation variables entre 2 et 10 kV.....	81
Figure 46 : Impulsions paires générées avec des tensions de polarisation variables entre 2 et 12 kV.....	82
Figure 47 : Variation de l'amplitude crête à crête des impulsions bipolaires mesurées en fonction de la tension de polarisation. Les valeurs mesurées sont présentées en point bleu, et une régression linéaire reliant les points est tracée en trait plain rouge.	83
Figure 48 : Les coefficients a) de réflexion S_{11} et b) de transmission S_{21} pour chacun des câbles utilisés pour la génération des impulsions décalées.	84
Figure 49 : Les coefficients a) de réflexion S_{11} et b) de transmission S_{21} pour les combinaisons de câbles de longueurs égales à 10 m, 15 m et 20 m, respectivement.	85
Figure 50 : Impulsions bipolaires et paires produites pour des délais de 5 ns, 50 ns, 100 ns, 150 ns, et 200 ns et pour les tensions de polarisation de a) 2 kV, b) 4 kV, c) 6 kV, d) 8 kV et e) 10 kV.....	87
Figure 51 : Boîtier métallique utilisé pour la mise en place du générateur d'impulsions de 500 ps.	90
Figure 52 : Expérimentation liée au générateur d'impulsions de 500 ps. Les PCSSs sont placés dans un boîtier métallique connecté à : l'oscilloscope de visualisation, la source de haute tension DC et la terminaison de mise en forme des impulsions. Un laser Nd : YAG illumine les 2 PCSSs à travers deux lentilles convergentes cylindriques.	91
Figure 53 : Illustration de l'illumination d'un PCSS par une lentille cylindrique convergente (adaptée de [249]).	91
Figure 54 : Montage de la caractérisation fréquentielle du boîtier utilisé pour la génération d'impulsions de 500 ps.	92
Figure 55 : Paramètres S_{11} a) et S_{21} b) du boîtier vide et rempli d'huile pour des fréquences entre 10 kHz et 3 GHz.	93
Figure 56 : Impulsion bipolaire produite par le générateur d'impulsions de 500 ps.	93
Figure 57 : (a) : Photo à titre d'exemple du circuit du générateur ps, avec les deux éléments commutateurs (PCSSs), la ligne de stockage de tension, la ligne connectée à la source de haute tension pour la charge et le connecteur SMA lié à la masse. (b) : Schéma du montage complet du générateur incluant les chemins optiques conduisant à l'illumination des PCSSs.	95
Figure 58 : 1- Impulsion bipolaire symétrique, l'énergie optique illuminant le PCSS2 est égale à 20 μ J. 2 : Impulsion bipolaire déséquilibrée, l'énergie optique illuminant le PCSS2 est égale à 10 μ J. 3 : Impulsion unipolaire, l'énergie optique illuminant PCSS2 est de 1 μ J.	96
Figure 59 : (a) : Circuit du générateur contenant deux commutateurs, une ligne de transmission principale, une source de haute tension et un oscilloscope. (b) Impulsions produites dans chacune des trois étapes de commutation ainsi que l'impulsion électrique finale.	97

Figure 60 : Montage de la spectroscopie mono-coup avec la psPEF à l'entrée de la cellule TEM contenant le résonateur diélectrique. Le signal est récupéré par un oscilloscope et une transformée de Fourier lui est appliqué.	98
Figure 61 : (a) : représentation de la cellule TEM contenant le résonateur. (b) : le résonateur cylindrique isolé. (c) : Une capture d'écran de simulation, illustrant le maillage utilisé, et (d) : photographie du résonateur placé à l'intérieur de la cellule TEM.	99
Figure 62 : Valeurs mesurées (En noir) et calculées (En bleu) par simulations numériques des paramètres de diffusion relative à la réflexion (Gauche) et à la transmission (Droite). .	100
Figure 63 : Spectres d'absorption mesurés par spectroscopie mono-coup et obtenu par simulations numériques CST du système (Cellule TEM + résonateur diélectrique).	101
Figure 64 : Schéma illustrant l'emplacement de l'applicateur sur la chaîne d'exposition. Les trois formes d'impulsions (unipolaire, paire et bipolaire) sont présentées. Plusieurs applicateurs sont montrés et seront détaillés dans les parties suivantes. Cette figure montre aussi des exemples de cibles (<i>in vitro</i> , <i>in vivo</i> et clinique).	106
Figure 65 : (a) Illustration d'une cuvette d'électroporation avec des cellules à l'intérieur. (b) Cuvette d'électroporation de 4 mm d'épaisseur.	108
Figure 66 : Illustration de la chambre d'électroporation à flux continu proposée dans [264].	109
Figure 67 : Illustration de deux dispositifs microfluidique unicellulaire conçu avec du (a) verre/silice et du (b) PDMS ces dispositifs sont utilisés dans [266] et [268].	110
Figure 68 : (a) Dispositif utilisé dans [273] pour réaliser une exposition à flux continu de cellules et (b) représentation réelle d'un exemple de dispositif microfluidique à flux de cellules conçu et utilisé dans le laboratoire Xlim.	112
Figure 69 : Les électrodes en plaques non invasives : (a) électrode à deux plaques rectangulaires parallèles (forme classique) [106], (b) petites électrodes pour exposition <i>in vitro</i> d'un petit nombre de cellules : (1) électrodes utilisées à Xlim – Limoges, (2) représentation des électrodes, de la distribution du champ électrique entre les électrodes et du sphéroïde mentionné dans [150] ; (c) Electrodes en pince pour des applications <i>in vivo</i> et médicale [285] ; (d) électrode à quatre plaques : (1) représentation graphique, (2) dispositif utilisé dans [282] ; (e) électrodes en L d'après [286] ; (f) électrodes souple (1) vue de côté et (2) vue en face des électrodes, d'après [284].	114
Figure 70 : les applicateurs invasifs : (a) à aiguille unique [311], (b) des applicateurs à aiguilles multiples de longueurs réglables dans deux configurations, linéaire et hexagonale [312], (c) les configurations, linéaire et hexagonale, des applicateurs à aiguilles multiples fixes [313], (d) les formes longitudinale et transversale d'électrodes à doigts [314], (e) applicateur endoscopique (EndoVe) [302], (f) applicateur laparoscopique (Sting electrode) [315] et (g) applicateur à microaiguilles [10].	117
Figure 71 : (a) antenne émettrice d'impulsions (IRA) avec une lentille diélectrique complexe de cinq couches d'après [317], et (b) réflecteur sphérique allongé tel que présenté dans [320].	118
Figure 72 : Positionnement de la boîte de Petri dans une cellule TEM. Représentation adaptée de [316].	119

Figure 73 : Structure de l'applicateur optoélectronique fabriqué à l'ICMCB de Bordeaux [327].	120
Figure 74 : Modélisation de la structure de l'applicateur optoélectronique ; les dimensions et les caractéristiques des différents éléments sont aussi présentées. Les ports sont représentés par deux carrés rouges délimitant les deux extrémités de la fibre.	123
Figure 75 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{22} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre.	125
Figure 76 : Les paramètres S pour plusieurs valeurs de la permittivité relative du diélectrique (silice) composant la fibre centrale, a) S_{11} et b) S_{21}	126
Figure 77 : Les paramètres S pour les électrodes en étain et en PEC, a) S_{11} et b) S_{21}	127
Figure 78 : Les deux types de maillage a) hexaédrique utilisé dans les solveurs temporels et b) tétraédrique utilisé dans les solveurs fréquentiels.	128
Figure 79 : Les paramètres S sont obtenus après résolution avec les deux solveurs temporel et fréquentiel, a) S_{11} et b) S_{21}	128
Figure 80 : illustration des deux grandeurs RE (flèche jaune) et D (fleche noire) par rapport à la fibre HybOE et les positions pottentielles pour l'ajout des électrodes supplémentaires representés par des cercles pointillées.....	129
Figure 81: Géométrie avec variation du rayon des électrodes RE entre a) 20 μm , b) 30 μm et c) 40 μm	130
Figure 82 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre pour des valeurs de RE allant de 20 μm à 40 μm	131
Figure 83 : Géométrie avec variation de la distance entre les électrodes D :200 μm a), 300 μm b) et de 400 μm c).	132
Figure 84 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre pour des valeurs de D allant de 200 μm à 400 μm	133
Figure 85 : La fibre à quatre électrodes et à droite la distribution du champ à travers cette fibre.	134
Figure 86 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre à 4 électrodes.....	135
Figure 87 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre de taille réelle (longueur = 5 cm).	136
Figure 88 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre pour des valeurs de RE allant de 20 μm à 40 μm	137
Figure 89 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre pour des valeurs de D allant de 200 μm à 400 μm	139
Figure 90 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre à 4 électrodes pour D = 300 μm	140
Figure 91 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre à 4 électrodes pour D = 200 μm	141

Figure 92 : Représentation de la modélisation de la structure 3D de (a) la ligne coaxiale, (b) du connecteur SMA et (c) la représentation des dimensions d'un SMA à partir de sa fiche technique.....	143
Figure 93 : Structure et dimensions de la ligne microruban non connectée telle que modélisée sous CST.	143
Figure 94 : a) Structure de la fibre connectée à une ligne de transmission microruban, connecté à un connecteur SMA des deux cotés. Les paramètres b) S_{11} , c) S_{21} , d) la résistance et e) la réactance de la structure modélisée.	145
Figure 95 : La fibre connectée par l'une de ses extrémités (gauche), à travers les extensions des deux électrodes, jusqu'à la ligne de charge d'une ligne microruban, ainsi qu'à l'une des masses du connecteur SMA. L'autre extrémité de la fibre est laissée libre.	146
Figure 96 : a) La structure modélisée, et b) celle mesurée expérimentalement. Les deux dispositifs sont connectés à travers la structure de connexion à la charge, ainsi que par les deux extensions libres des électrodes plongées dans le milieu biologique.	147
Figure 97 : a) Les valeurs de S_{11} obtenues par simulations numériques (en bleu) et par mesures expérimentales (bordeaux) et b) le même graphe avec en plus les pics identifiés par des lignes pointillées noires.....	148

Table des tableaux

Tableau 1 : Délais (ns) appliqués entre les deux polarités d'une impulsion et les câbles utilisés pour introduire ces délais.....	84
Tableau 2 : Tableau montrant les valeurs de l'atténuation (%) en fonction de la forme des impulsions, de la tension de polarisation (amplitude), et du délai introduit entre les deux polarités d'une même impulsion.	88

Introduction

La médecine bioélectrique, un domaine passionnant situé à la convergence de la biologie, de la physique et de la médecine, présente un potentiel important pour le traitement éventuel de diverses pathologies. Au croisement de ces disciplines, ce domaine de recherche explore les interactions complexes entre les impulsions électriques et les organismes vivants, ouvrant ainsi la voie à des découvertes significatives dans la médecine moderne.

Notre vie quotidienne est ponctuée d'expositions aux champs électromagnétiques émis par une multitude de sources, telles que les appareils électriques, les antennes téléphoniques, voire même les rayonnements cosmiques. Ces rayonnements électromagnétiques interagissent en permanence avec les cellules qui composent notre organisme, et ces interactions varient en fonction des paramètres du champ électromagnétique et de la nature des cellules exposées. Le bioélectromagnétisme émerge ainsi comme une discipline scientifique fondamentale qui explore ces phénomènes, de l'impact potentiel des rayonnements électromagnétiques sur les aspects sanitaires et thérapeutiques.

L'histoire de l'utilisation des impulsions électriques remonte à des temps anciens, à environ 2750 ans avant notre ère, lorsque les impulsions émises par des poissons électriques étaient déjà exploitées. Cependant, les développements significatifs dans ce domaine sont plus récents, avec la découverte de l'électroporation dans les années 80. Cette thèse s'inscrit dans ce domaine d'étude, explorant la génération et l'application d'impulsions électriques sur les cellules vivantes, avec un accent particulier sur les impulsions de durées temporelles nanosecondes et subnanosecondes.

Le premier chapitre de cette thèse offre une vue d'ensemble des effets des impulsions électriques sur les cellules biologiques. Il met en lumière l'électroporation de cellules biologiques, un phénomène d'une importance capitale, capable de se manifester de manière réversible ou irréversible. L'électroporation s'est révélée être la clé pour de nombreuses applications, allant de l'amélioration de la conservation des aliments, jusqu'à des traitements innovants contre le cancer. Cette thèse explore également la complexité de la chaîne d'exposition nécessaire pour acheminer efficacement ces impulsions électriques vers les cibles biologiques, contribuant à une meilleure compréhension des phénomènes et à des applications pratiques.

Le deuxième chapitre se plonge dans l'univers des générateurs d'impulsions, une composante essentielle de la médecine bioélectrique. Il commence par une analyse des concepts de générations d'impulsions existants, avant de présenter deux structures originales basées sur le concept des ondes gelées. De plus, ce chapitre explore les méthodes pour ajuster la forme et le délai des impulsions, offrant ainsi une possibilité d'adaptation précise en fonction des besoins spécifiques de chaque application.

Le troisième chapitre est consacré aux applicateurs, c'est-à-dire des dispositifs qui facilitent la transmission des impulsions électriques vers les cibles biologiques. Il propose une analyse non exhaustive des différents types d'applicateurs, mettant particulièrement en

lumière un nouvel applicateur hybride optoélectronique (HybOE), spécialement conçu pour à terme une utilisation endoscopique. L'applicateur HybOE se distingue par sa flexibilité, qui lui permet d'atteindre des zones anatomiques autrement inaccessibles, tout en facilitant le diagnostic et l'exposition minimalement invasive.

La thèse se termine par une conclusion générale et des perspectives sur les étapes futures, offrant un aperçu des voies à explorer dans le domaine de la médecine bioélectrique.

Effets des impulsions électriques sur les cellules biologiques

Chapitre I. Effets des impulsions électriques sur les cellules biologiques

Le but de ce premier chapitre est de présenter, dans un premier temps, le contexte général et les motivations principales derrière les travaux effectués durant cette thèse. Nous allons donc commencer par introduire le domaine du bioélectromagnétisme qui adresse l'interaction des ondes électromagnétiques avec le vivant. Nous continuerons par la bioélectricité, en illustrant notamment les effets sur les milieux biologiques des impulsions électriques de durées allant de quelques centaines de ms jusqu'au domaine sub-nanoseconde avec des intensités variées. Nous allons également montrer quelques applications de ces impulsions dans plusieurs secteurs tels que le biomédical, l'industrie agroalimentaire, le militaire et l'environnement.

I.1. Interaction ondes-vivant et Bioélectromagnétisme

Le domaine des interactions des ondes électromagnétiques avec le vivant est généralement associé au bioélectromagnétisme. Il peut se décomposer en plusieurs grandes catégories, à savoir :

- Les études épidémiologiques, qui visent à établir un rapport entre des problèmes de santé, des maladies ou des effets sur le vivant d'un ou plusieurs agents physiques, chimiques, ... La cible dans ce cas est la population humaine, ou à défaut un nombre significatif de personnes.
- Les effets sur la santé. Typiquement on cherche à déterminer s'il existe des effets sur la santé liés à l'exposition aux ondes électromagnétiques, en couvrant un spectre de fréquence extrêmement vaste.
- La recherche de mécanismes induits par une onde électromagnétique lors d'une exposition de milieux biologiques, à l'échelle de la cellule, d'un tissu, d'un organe... Aux fréquences micro-ondes il existe un mécanisme de polarisation par orientation qui est la source de l'échauffement des milieux contenant de l'eau par exemple.
- Les applications thérapeutiques et biomédicales, telles que l'hyperthermie, l'électrochimiothérapie, ou bien l'imagerie médicale à travers toutes les techniques de radiologie et scanner.

Nous commencerons le chapitre par donner quelques définitions fondamentales concernant les champs électromagnétiques.

I.1.1. Les champs électromagnétiques

Nous sommes constamment exposés à des champs électromagnétiques de différentes fréquences telles qu'illustrés sur la Figure 1. Ces champs sont générés par des charges électriques en mouvement pouvant être des électrons, protons ou ions. Ils sont associés à des ondes n'ayant pas besoin d'un support matériel pour se propager. Lorsqu'elles sont rayonnées dans l'air, elles se déplacent à la vitesse de la lumière.

Ces ondes électromagnétiques peuvent être produites par des sources artificielles, telles que les lignes de transport d'électricité, les antennes de télécommunication, des sources naturelles, telles que les orages, les champs magnétiques terrestres et les champs extraterrestres. Leur comportement peut être décrit par les lois de Maxwell qui définissent et étudient les phénomènes électriques et magnétiques ainsi que leurs interactions [1].

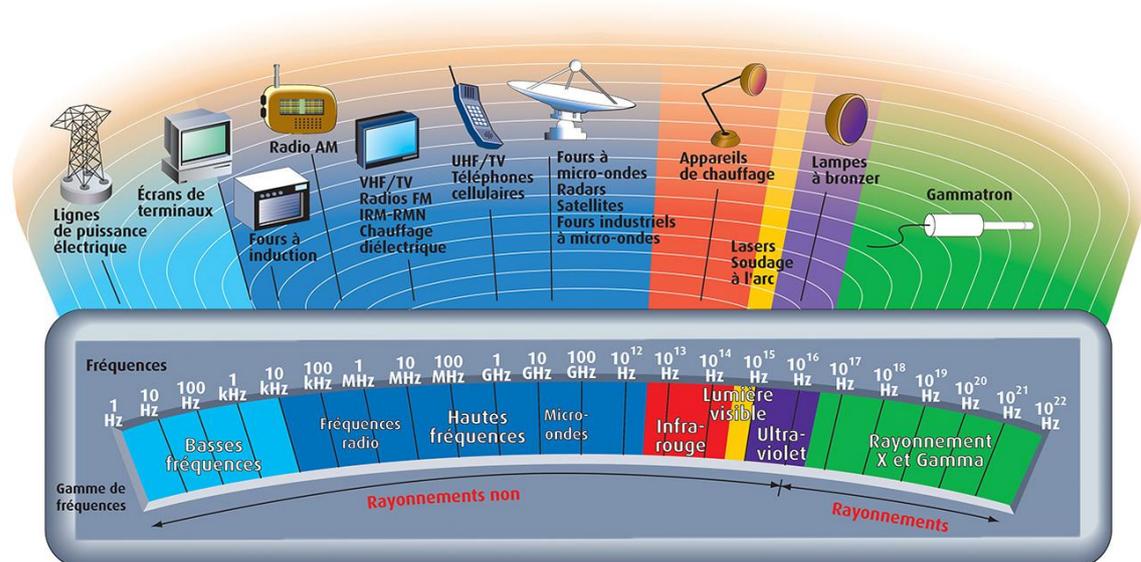


Figure 1 : La répartition des champs électromagnétiques en fonction de la fréquence et des exemples d'applications dans des domaines variés [1].

Les champs électromagnétiques sont actuellement utilisés dans différents domaines de notre vie, notamment pour la communication sans fil (mobile et WIFI), l'imagerie médicale, la médecine (applications thérapeutiques), l'industrie et les sciences de la Terre...

La Figure 1 montre les différentes classifications des ondes électromagnétiques sous différents domaines en fonction de leurs fréquences, ainsi que l'utilisation de chacun des domaines mentionnés. Nous pouvons y distinguer :

1. Les rayonnements à basses fréquences, émis par les lignes de puissance électrique.
2. Les fréquences radio diffusées, notamment par les stations de radio.
3. Les hautes fréquences, utilisées pour la communication, notamment dans les téléphones mobiles et les réseaux 3G, 4G et récemment la 5G.
4. Les micro-ondes, émises par les radars, les satellites et les fours micro-ondes.
5. Les rayonnements infrarouges, utilisés dans les appareils de chauffage.
6. Le spectre de la lumière visible.
7. Les rayonnements ultraviolets, utilisés par exemple dans les lampes UV à des fins esthétiques.
8. Les rayonnements X et gamma, utilisés pour l'imagerie médicale et en astrophysique pour la détection et l'analyse de sources de rayonnement extragalactique.

I.2. Bioélectricité

La bioélectricité est le domaine qui se concentre sur l'étude des effets des impulsions de champs électriques sur les systèmes biologiques vivants. Des études sont menées en particulier *in vitro*, telles que les cellules et les tissus ou *in vivo* telles que les animaux (souris, rats, hamsters, porcs, etc.). C'est un domaine vaste qui va de l'exploration sur les cellules humaines jusqu'aux applications médicales [2]–[4] impliquant des processus biologiques complexes tels que la signalisation cellulaire, l'expression des gènes et la régénération des tissus [5], [6], tout en passant par des applications dans des domaines variés, notamment dans des études agroalimentaires [7], et environnementales [8].

La bioélectricité est un domaine en plein essor, suscitant un intérêt croissant au cours des trois dernières décennies, notamment grâce au développement des nouvelles technologies permettant d'exploiter plus largement les effets des champs électriques pulsés sur les cellules. La Figure 2 présente une illustration typique des technologies nécessaires pour un système d'exposition *in vitro* à des impulsions de champs électriques. Dans le cas illustré, il s'agit d'impulsions d'une durée ultracourte (nanoseconde ou sub-nanoseconde) avec une très forte intensité (dizaine de kV/cm).

Une première brique technologique concerne les générateurs d'impulsions. Cette partie génération est reliée à un système pour appliquer ces impulsions, appelé « delivery system » en anglais ou encore « applicateur ». C'est la partie du système d'exposition qui, comme son nom l'indique, transforme les impulsions de tension générées par la source en champs électriques pulsés dans l'échantillon biologique. Une partie essentielle concerne la quantification et le contrôle du champ électrique et de la température dans l'échantillon exposé. Les techniques de quantifications expérimentales et numériques des grandeurs caractéristiques sont regroupées sous le terme de « dosimétrie ». Afin d'observer le comportement de l'échantillon, idéalement avant, pendant et après l'exposition, le système comprend également une partie imagerie.

Les développements récents incluent notamment des avancées sur les générateurs [9] capables de délivrer des impulsions de plus en plus courtes et intenses. En parallèle, les avancées sur les topologies d'applicateurs [10] adaptés et compatibles avec ces nouveaux générateurs, ainsi qu'avec les cibles biologiques visées, ont également contribué au progrès dans le domaine de la bioélectricité.

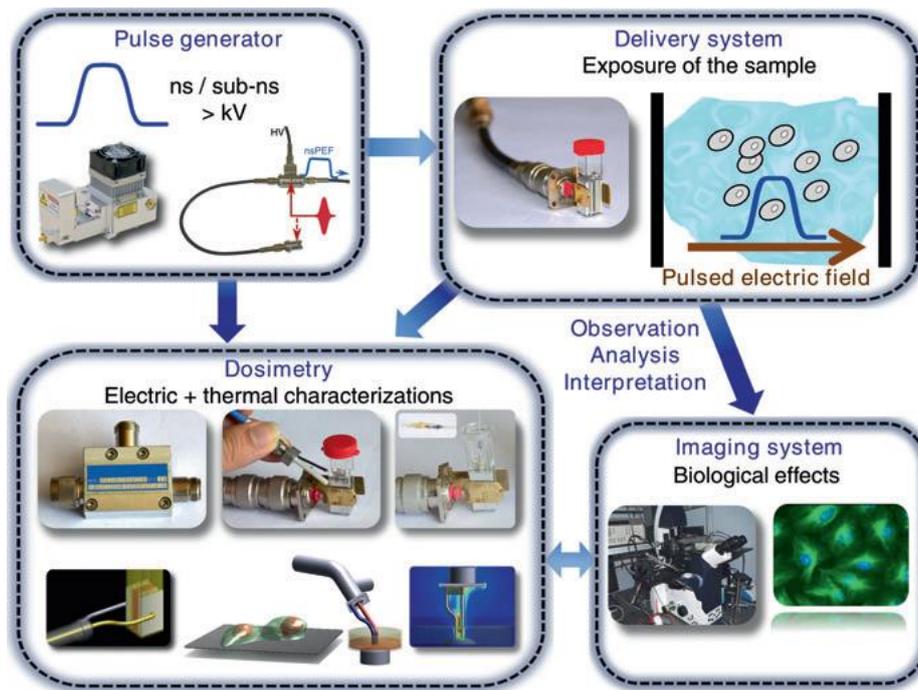


Figure 2 : Illustration schématique des technologies d'expérimentation pour un système d'exposition in vitro de cellules aux impulsions de champs électriques [11].

Nous présentons pour commencer les entités vivantes, en particulier la cellule biologique en essayant de donner à la fois une perspective biologique et une perspective physique / électrique. Ensuite, nous illustrons les effets sur les cibles biologiques des impulsions électriques de différentes durées à savoir millisecondes, microsecondes et nanosecondes (ces dernières étant couramment appelées ultracourtes). Nous aborderons également quelques applications liées aux différents types d'exposition.

I.3. La cellule biologique

I.3.1. Point de vue biologique

Les cellules en biologie sont définies comme les unités de base formant tous les tissus et les organes vivants. Elles sont classées en deux catégories principales : les cellules procaryotes, qui n'ont pas de noyau, telles que les cellules bactériennes, et les cellules eucaryotes, qui possèdent un noyau et qui existent sous différentes formes selon les organismes auxquels elles appartiennent [12].

Les cellules eucaryotes (Figure 3) sont composées d'un noyau, d'une enveloppe nucléaire et d'un cytoplasme qui comprend des mitochondries, un réticulum endoplasmique, des lysosomes, l'appareil de Golgi ainsi que d'autres organites cellulaires. La taille d'une cellule eucaryote est relativement grande et peut varier entre 10 μm et 100 μm , comparée à celle des cellules procaryotes qui varie seulement entre 1 μm et 5 μm .

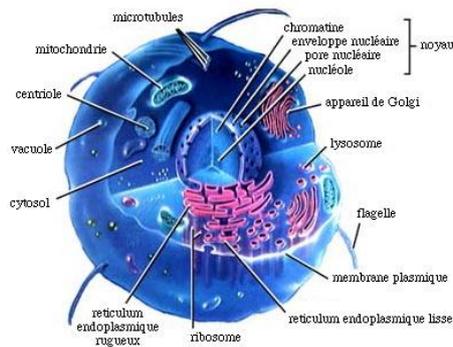


Figure 3 : Composition d'une cellule eucaryote (adaptée de [13]).

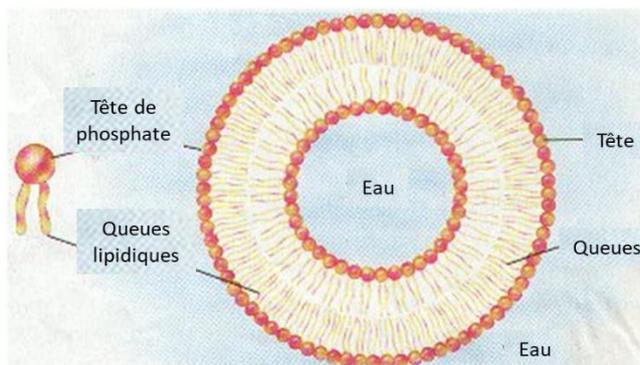
Dans les parties suivantes, nous nous concentrons uniquement sur les cellules eucaryotes qui composent les organismes humains et constituent la cible biomédicale privilégiée des impulsions électriques.

Comme illustré dans la Figure 4 a, le milieu intracellulaire, c'est-à-dire l'intérieur de la cellule, est séparé du milieu extracellulaire par une barrière appelée la membrane plasmique. Cette membrane d'épaisseur 5 -10 nm est constituée d'une mosaïque fluide de protéines et de molécules phospholipidiques. Elle présente une perméabilité très sélective qui permet de contrôler les mouvements des molécules à l'entrée et à la sortie de la cellule.

Au niveau de la membrane cellulaire (Figure 4 b), chaque molécule de phospholipide est composée de deux queues hydrophobes et d'une tête hydrophile. Cette nature amphiphile conduit à la formation d'une bicouche de molécules phospholipidiques lorsqu'elles entrent en contact avec les milieux intra et extracellulaires de nature aqueuse.

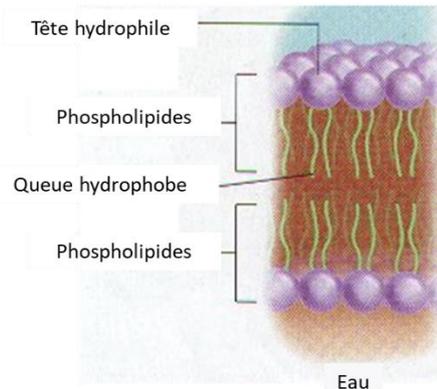
Pour une cellule vivante, la membrane cellulaire se décompose et se reforme de manière assez régulière. Sans cette flexibilité membranaire, la cellule serait complètement isolée et amenée à mourir en raison du manque de nutriments et de l'accumulation excessive de déchets métaboliques.

Membrane = barrière perméable sélective



(a)

Bicouche lipidique



(b)

Figure 4 : Modélisation et composition simplifiée (a) de la cellule biologique avec son environnement et (b) de la structure de la membrane cellulaire avec la bicouche lipidique montrant la tête et les deux queues de chaque molécule de phospholipide (adaptés de [14]).

I.3.2. Point de vue physique

L'approche physique simplifie la modélisation d'une cellule en se concentrant sur deux facteurs initiaux qui sont sa géométrie et ses propriétés électriques.

Du point de vue électrique, le modèle le plus simple consiste à considérer les trois principaux composants de la cellule - le noyau, la membrane nucléaire et le cytoplasme - comme une seule sphère homogène. On obtient alors un modèle où la membrane de la cellule (membrane plasmique) sépare les milieux intra- et extracellulaires. La membrane est modélisée d'un point de vue électrique par une permittivité ϵ et le cytoplasme peut être caractérisé par un milieu légèrement conducteur ($\sigma \sim 0.5 \text{ S/m}$ [15]).

Dans des approches plus réalistes, les différences entre les propriétés électriques telles que la permittivité ou la conductivité des différents composants sont prises en compte. Par exemple, dans le modèle bicouche, le noyau cellulaire est distingué du cytoplasme, et dans le modèle à trois couches, les propriétés électriques de la membrane nucléaire sont également prises en compte, en plus de celles du noyau et du cytoplasme. Un exemple illustratif du modèle sphérique à trois couches est présenté dans la Figure 5 (a). Comme illustré dans la Figure 5 (b), la cellule peut être grossièrement représentée comme un ensemble de conducteurs placés au niveau des membranes qui séparent deux milieux possédant des propriétés électriques différentes. Les différents milieux sont, quant à eux, représentés par des résistances.

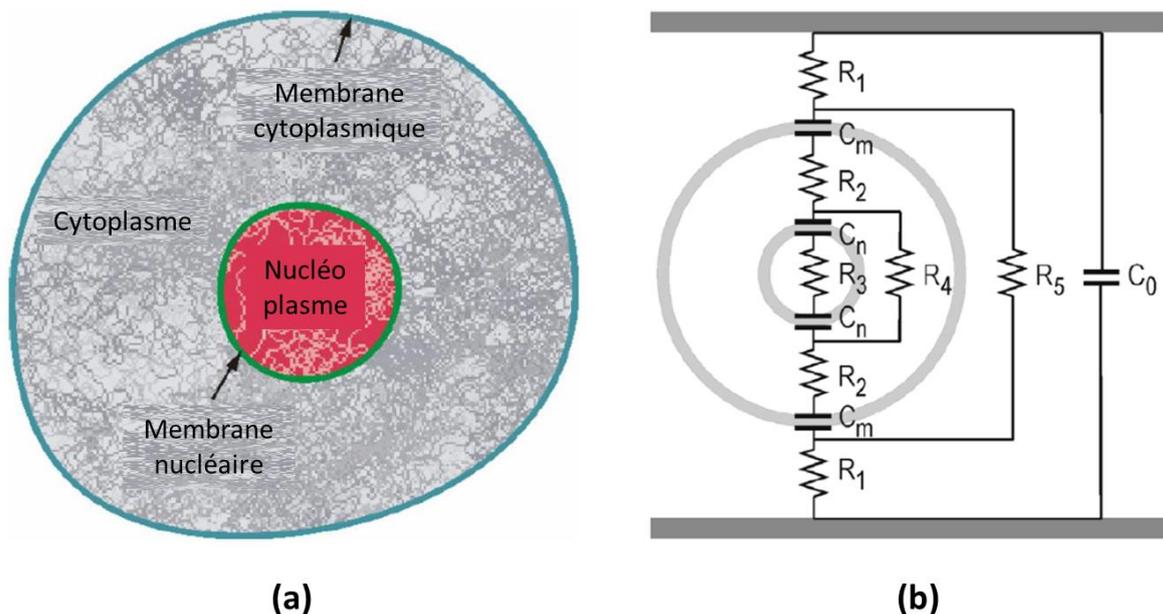


Figure 5 : a) Structure d'une cellule biologique (telle qu'elle serait vue avec un microscope optique) et b) circuit électronique «équivalent de la cellule (adaptée de [16]).

I.4. Interactions champ électromagnétique – cellule

Nous connaissons depuis des siècles les effets du courant électrique sur la contraction des muscles : expérience de Luigi Galvani au 17^{ème} siècle. Depuis, il a été montré que l'application de champs électriques pouvait modifier la perméabilisation des membranes plasmiques de cellules biologiques [17]–[20]. Dans les années 80, cette technique a été

explorée dans des recherches de **bioélectricité** avec des impulsions de champs électriques de durée comprise entre les μs et ms , et des amplitudes de l'ordre du kV/cm .

Les impulsions de champ électromagnétique influencent et perturbent le potentiel membranaire de la cellule en polarisant les deux milieux conducteurs intra et extracellulaires, en fonction de leur durée, intensité, fréquence de répétition, ainsi que des caractéristiques électriques et géométriques des cellules (Figure 6). Les réponses cellulaires peuvent varier, allant d'un simple mouvement de rotation cellulaire à une stimulation du milieu membranaire et intracellulaire à travers la migration des charges mobiles, la redistribution des charges ou la polarisation diélectrique au niveau moléculaire telle que la molécule d'eau.

Lorsqu'on applique une impulsion de champ électrique à une cellule placée entre deux électrodes un déplacement de charges est alors induit par une force de Coulomb. Un courant en résulte qui va produire une accumulation des charges électriques de part et d'autre de la membrane cellulaire (Figure 7). Cette accumulation va produire à son tour une tension à travers la membrane qui vient se superposer au potentiel transmembranaire de repos de la membrane cellulaire. Cette augmentation du potentiel transmembranaire s'accompagne d'une augmentation de la conductivité électrique de la membrane cellulaire et de la perméabilité de la membrane créant ainsi des passages structurels dans la membrane couramment appelées pores d'où le terme d'électroporation, qui peut être réversible ou irréversible tel qu'expliqué par la suite.

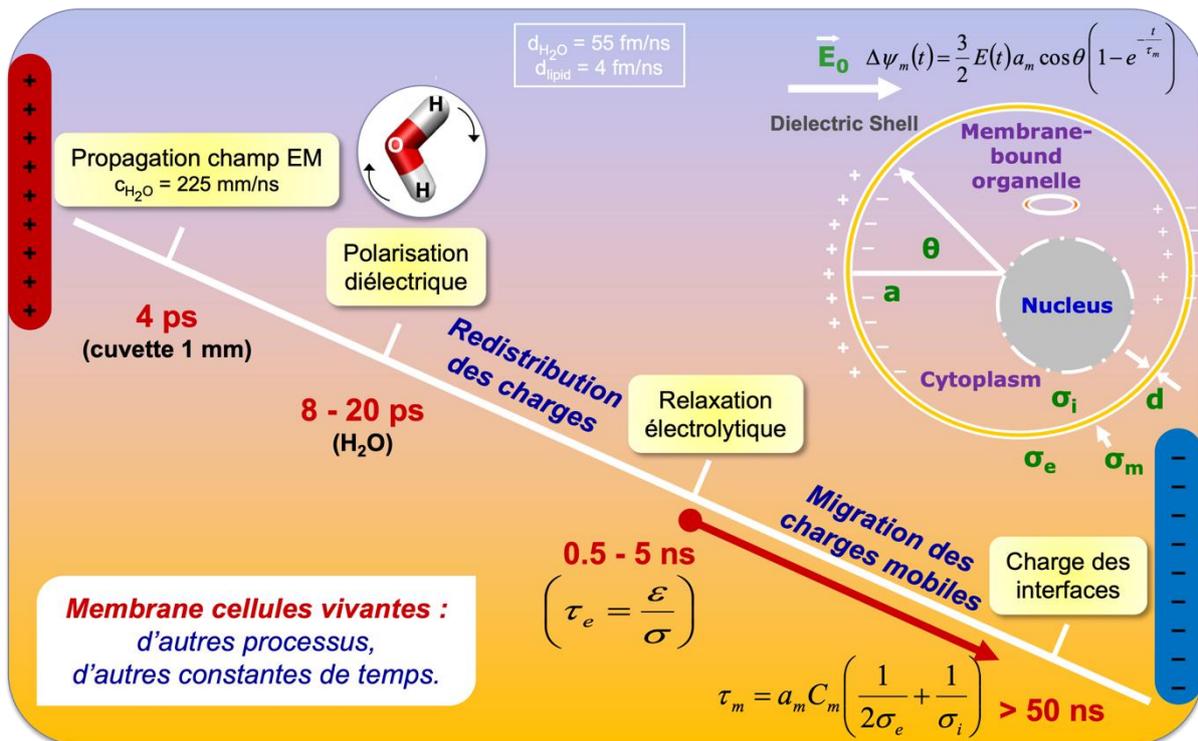


Figure 6 : Illustration des principaux mécanismes d'interactions des impulsions de champs électriques appliqués à une cellule eucaryote entre deux électrodes de potentiels positif et négatif (adapté de Tom Vernier, ODU).

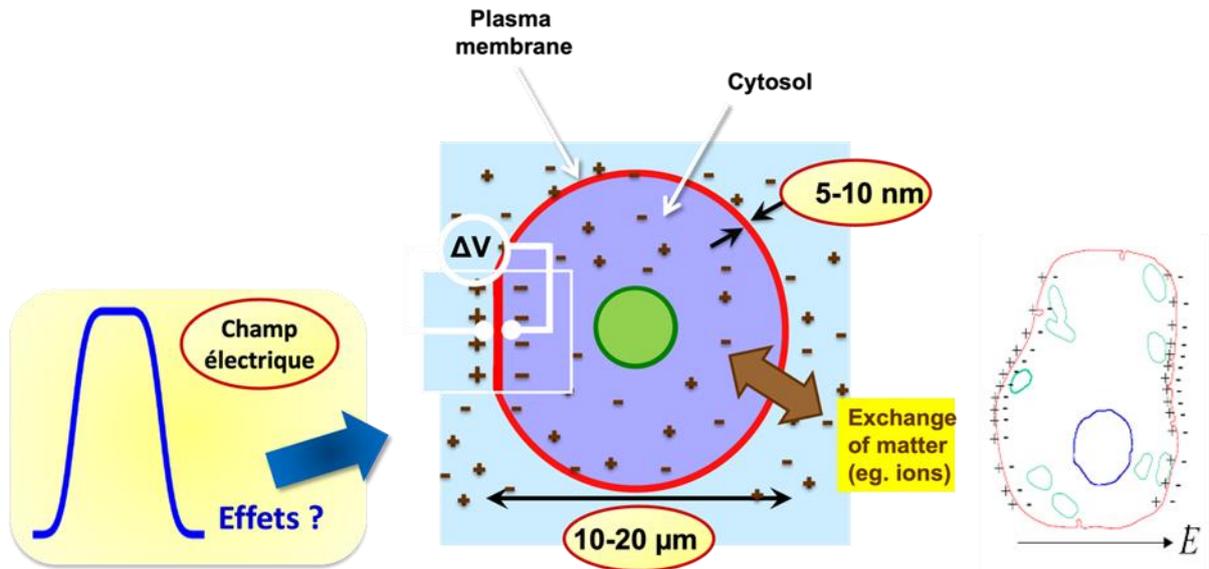


Figure 7 : Illustration de l'électroporation classique induite par les déplacements de charges autour de la membrane plasmique suite à l'application d'impulsions de durée longue (> 50 ns).

I.4.1. L'électroporation réversible

L'électroporation, également appelée électroperméabilisation, est le processus d'augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire suite à son exposition à un champ électrique externe [21].

Les premières études liées à l'électroporation ont émergé au milieu du dix-huitième siècle, lorsque Nollet [22] a observé l'apparition systématique de taches rouges sur la peau animale et humaine après exposition à des impulsions électriques. Deux siècles plus tard, Frankenhaeuser et Widen [23], ainsi que Stampfli et Willi [24] ont observé, en 1956 et 1957 respectivement, que l'électroporation de la membrane nerveuse pouvait expliquer les changements de conductivité électrique dans les nerfs endommagés par des champs électriques. Ensuite, en 1982, Neumann et ses collègues ont été les premiers à appliquer l'électroporation à des fins thérapeutiques [21], en utilisant des impulsions électriques pour introduire de l'ADN dans les cellules.

En 1992, Lluís Mir et son équipe de recherche ont introduit l'électrochimiothérapie, une méthode consistant à introduire des médicaments chimiothérapeutiques à l'intérieur des cellules après l'électroporation de leur membrane cytoplasmique [25].

Lorsque la durée des impulsions est de l'ordre de quelques millisecondes ou centaines de microsecondes, et que leur intensité est de l'ordre de quelques kV/cm, la perméabilisation induite n'affecte pas la viabilité des cellules et est réversible. Cela signifie que l'électroporation, dans ce cas, est un processus temporaire.

En résumé, l'électroporation réversible est une technique dans laquelle des impulsions électriques sont appliquées à des cellules, des tissus ou des organes pour créer temporairement des pores dans leurs membranes cellulaires, permettant l'entrée de molécules qui ne pourraient normalement pas y pénétrer, ou en très faible quantité. Une fois l'exposition terminée, les pores se referment généralement en quelques millisecondes ou secondes. Il s'agit donc d'un processus transitoire qui n'endommage pas les cellules de manière

permanente. Cette technique est largement utilisée (Figure 8) en biologie moléculaire, en génie génétique et en biotechnologie pour diverses applications [26].

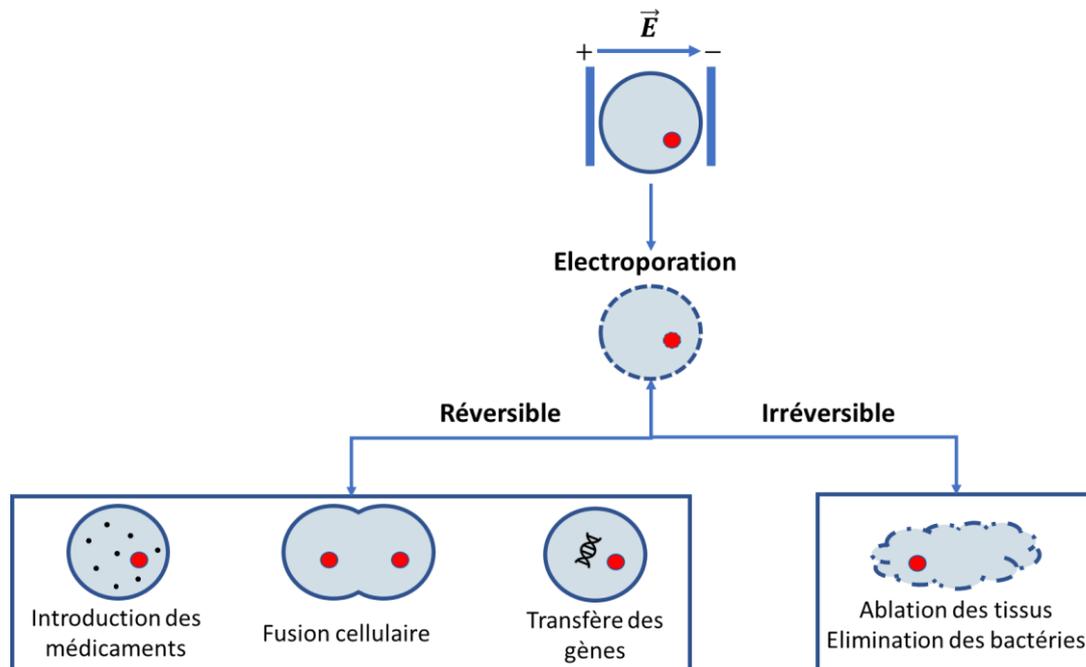


Figure 8 : Illustration et applications de l'électroporation réversible et irréversible.

I.4.2. L'électroporation irréversible

Lorsque l'intensité des impulsions est relativement élevée ou que la durée de l'exposition est suffisamment prolongée, les pores créés dans la membrane cellulaire lors de l'électroperméabilisation ne sont plus capables de se refermer. La cellule devient donc perméable et subit des modifications structurelles, les ions et les molécules peuvent librement passer entre les milieux intracellulaire et extracellulaire. Ce phénomène est connu sous le nom d'électroporation irréversible et désigné par l'acronyme IRE en anglais. Tout comme l'électroporation réversible, l'IRE est largement utilisée dans divers domaines (Figure 8) tels que les applications médicales, le traitement agroalimentaire et la science de l'environnement.

I.4.3. Influence du couple « intensité-durée » de l'impulsion

La Figure 9 (a) met en évidence les quatre cas de figures observés suite aux expositions de cellules aux champs électriques d'intensité variable entre 0 et 100 kV/cm et une durée allant de 100 millisecondes jusqu'aux dizaines de nanosecondes :

1. La zone (couleur claire) où l'énergie du champ électrique et la durée de l'exposition ne sont pas suffisamment élevées pour induire une électroporation.
2. La zone d'électroporation réversible (couleur verte), qui représente la plus petite surface sur l'image, et qui indique que des plages d'énergie et de temps d'exposition spécifiques sont nécessaires pour obtenir cet effet.
3. La zone (couleur beige foncé) où une IRE est produite sans effets thermiques. Dans cette zone, la mort cellulaire est induite uniquement par l'apoptose i.e., la mort cellulaire auto-programmée autrement connu sous le nom de suicide cellulaire.

- La dernière zone (couleur rouge foncé) représente les combinaisons d'intensité et de durée d'exposition appliquées pour obtenir une IRE avec des effets thermiques entraînant la mort cellulaire généralement par nécrose.

Il convient de noter que les séparations entre les quatre régimes présentés sur le graphe ne sont pas parfaitement franches et une incertitude peut exister entre les différentes zones.

Sur la Figure 9 (b), le pourcentage de cellules touchées est présenté en fonction de l'intensité de l'exposition. Seules les zones de très basse intensité (absence d'électroporation), d'électroporation réversible et d'électroporation irréversible non thermique sont présentées. Ce graphe met en évidence l'efficacité de l'exposition cellulaire pour les champs électriques d'intensités variables entre 0 et 2 kV/cm. Ces graphes peuvent varier et doivent être ajustés en fonction de la forme, de la taille et des propriétés électriques telles que la conductivité ou la permittivité du milieu cellulaire exposé.

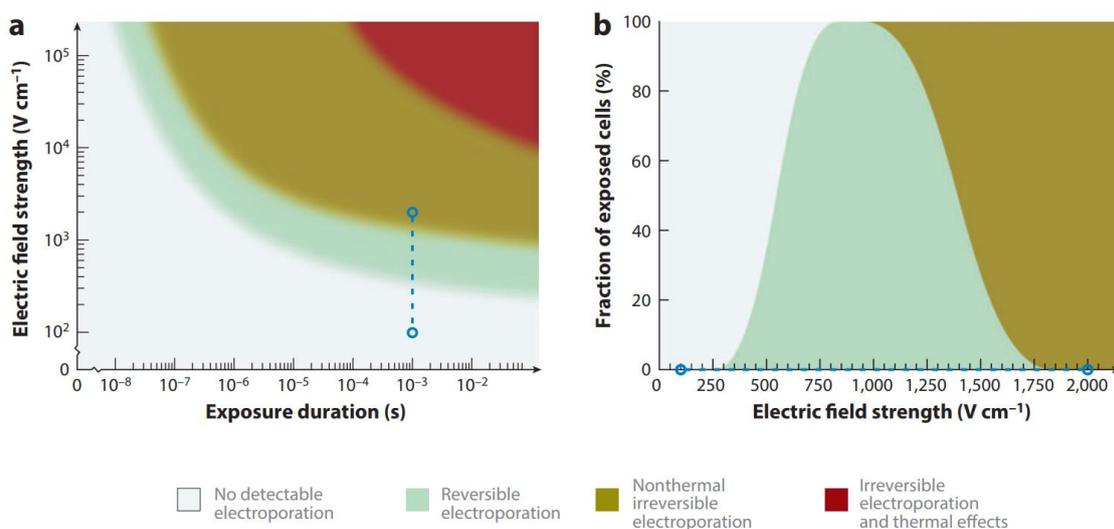


Figure 9 : (a) Graphe illustrant la séparation des différents régimes d'électroporation présente dans un échantillon cellulaire en fonction de la durée et de l'intensité des impulsions électriques employées. (b) Représentations du taux d'exposition cellulaire en fonction de l'intensité des impulsions. Source [26].

I.5. Applications de l'électroporation

I.5.1. Applications médicales de l'électroporation réversible

L'électroporation réversible est utilisée dans diverses applications, notamment la thérapie génique, où elle permet d'introduire des gènes dans les cellules pour traiter des troubles génétiques. Elle est également utilisée dans la recherche en biologie moléculaire pour introduire des plasmides, de petites molécules ou d'autres acides nucléiques dans les cellules à diverses fins, l'expression de protéines et l'ingénierie de lignées cellulaires [21], [27], [28]. De plus, l'électroporation est utilisée en biotechnologie pour améliorer l'efficacité de certains processus tels que la purification des protéines et l'absorption de certains composés par les cellules [10], [29].

Introduction de médicaments par voie cutanée

Dans des études antérieures [30], [31], l'utilisation de l'électroporation a été proposée comme une méthode pour arrêter le flux sanguin et restreindre la perfusion des tissus cutanés ciblés. En 1998, Ramirez et al. ont mené des expériences d'électroporation réversible sur un

tissu et ont observé que l'application d'un champ électrique pouvait effectivement bloquer le flux sanguin dans la zone spécifique [32]. Ce phénomène est connu sous le nom de verrouillage vasculaire. Des observations similaires de verrouillage vasculaire ont été rapportées dans les muscles [33], le foie [32] et les tumeurs malignes [34].

Cette capacité à perturber le flux sanguin peut avoir des implications significatives dans le domaine de la diffusion des médicaments à travers la peau [33]. En restreignant le flux sanguin, l'électroporation peut potentiellement améliorer l'insertion des médicaments en limitant leur dispersion dans le corps et en favorisant une concentration plus élevée dans les tumeurs malignes [34]. Cette approche pourrait donc être bénéfique dans le traitement des tumeurs malignes en facilitant l'administration localisée de médicaments.

Électrotransfert de gènes

L'électrotransfert de gènes (ETG) est une méthode largement utilisée dans des applications médicales régénératives, notamment la vaccination par ADN contre des maladies infectieuses, le cancer, l'arthrite, la sclérose en plaques et l'inflammation post-transplantation d'organe [2], [35]–[37].

Cette technique implique l'initiation d'une électroporation en présence d'acides nucléiques, comme l'ADN plasmidique, qui pénètrent ensuite dans les cellules et modifient l'expression de certains gènes dans les cellules cibles. En 1972, Neumann et ses collègues ont réalisé les premiers essais d'électrotransfert de gènes sur des souris en utilisant un champ électrique d'intensité de 8 kV/cm et de durée 5 microsecondes [21].

Titomirov et al. [38] ont ensuite démontré l'efficacité de l'ETG sur la peau d'animaux, puis sur le foie, les muscles et les tumeurs [27], [39], [40]. L'application de l'ETG s'est étendue depuis à d'autres cibles, notamment le cerveau, le rein, le cartilage, les artères, la prostate et la cornée [28], [41], [42]. Cependant, l'efficacité de la transfection varie considérablement d'un tissu à l'autre.

En 1996, Nomura et al. [43] ont proposé, pour la première fois l'utilisation de l'ETG dans la vaccination par l'ADN, dans le but d'optimiser l'efficacité clinique de cette méthode. L'ETG s'est révélée plus efficace que les méthodes de transfert génétique telles que les pistolets à gènes ou les injections intramusculaires directes [44], [45]. En effet, l'ETG a montré une augmentation de l'efficacité des vaccins à ADN de trois ordres de grandeur [46] ainsi que la capacité de provoquer des réponses similaires à celles des vaccins protéiques [47].

Actuellement, des essais de phase II sur le mélanome et le cancer du sein sont en cours avec l'ETG [48], à la suite d'essais de phase I sur l'homme [49]. Les résultats initiaux ont été prometteurs indiquant que l'ETG est sûre et efficace pour les applications cliniques [49], [50].

Électrofusion cellulaire

L'électrofusion cellulaire est le processus appliqué pour fusionner des cellules en les exposant à des impulsions électriques haute tension de courte durée. En 1989, Neumann et al. ont publié un article sur l'électroporation et l'électrofusion [5] dans lequel ils abordent, entre autres, la cinétique de l'électrofusion, et l'électrofusion des bicouches lipidiques.

L'électrofusion peut être utilisée pour traiter différentes maladies et produire des cellules aux propriétés souhaitées, comme dans les vaccins pour l'immunothérapie du cancer.

Une des utilisations les plus connues de la fusion cellulaire est la production d'anticorps [51], [52].

L'électrochimiothérapie

Le principe de base de l'électrochimiothérapie (ECT) illustré Figure 10 est l'utilisation de l'électroporation pour introduire des médicaments chimio-thérapeutiques non ou peu perméables dans les cellules cancéreuses, en facilitant leur transport transmembranaire. Par cette procédure, qui constitue une des applications des impulsions électriques parmi les plus connues, l'efficacité ou la cytotoxicité des médicaments chimio-thérapeutiques augmente et un meilleur traitement de la tumeur est assuré [53], [54].

La première étude clinique sur l'ECT a été publiée en 1991 par Mir et al. [55] démontrant la faisabilité, la sécurité et l'efficacité de l'ECT dans le traitement des nodules tumoraux de la tête et du cou. Cette étude a encouragé des groupes aux États-Unis (Tampa), en Slovénie (Ljubljana) et en France (Toulouse) à réaliser des études cliniques supplémentaires sur l'ECT [56]–[59].

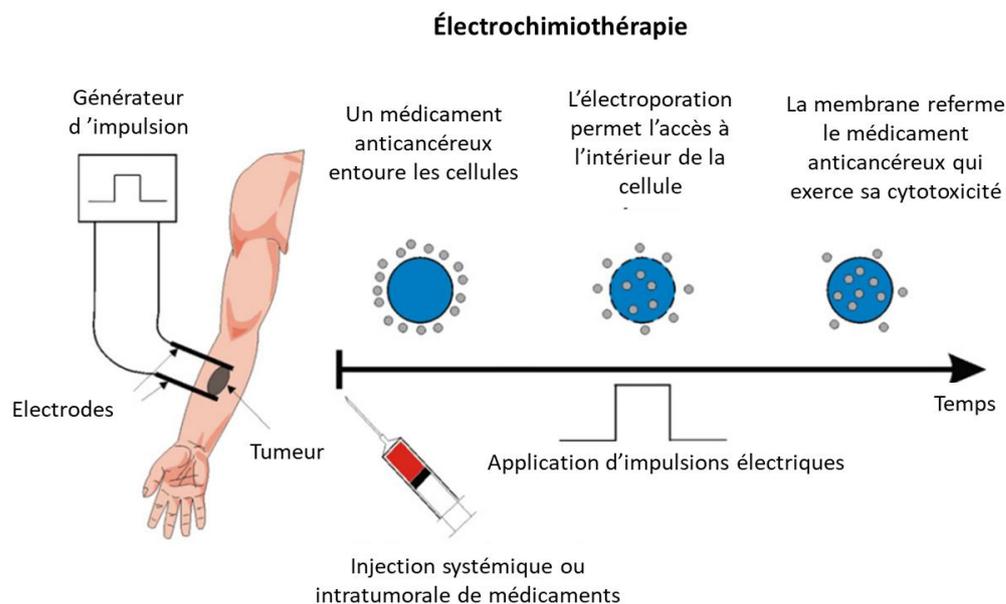


Figure 10 : Principe de l'électrochimiothérapie une application adéquate des pulses électriques améliore la perméabilité des cellules cancéreuses, modifiée de [60].

Dès lors, l'ECT a été utilisée (Figure 11) dans le traitement de lésions sous-cutanées et cutanées et des métastases tumorales, avec des taux de réponse supérieurs à 75 % [60]. L'ECT était également utilisée pour traiter les mélanomes, les sarcomes et d'autres types de cancers de la peau ainsi que le léiomyosarcome du col de l'utérus et le cancer du sein [55], [61], [62].

Dans les études précliniques, la bléomycine, utilisée par Mir et al. [63], [64], et le cisplatine, utilisé par Sersa et al. [65], ont été identifiés comme les médicaments les plus appropriés pour les essais cliniques [55], [63]–[65]. Il convient de noter que l'ECT possède une excellente efficacité thérapeutique, c'est-à-dire que de très faibles concentrations de

chimiothérapies sont nécessaires, ce qui permet d'éviter ou de limiter, d'une manière remarquable, les effets secondaires présents lors d'un traitement par chimiothérapie classique.

Plusieurs études en cours sur l'ECT ciblent les tumeurs superficielles, principalement les mélanomes, mais aussi les récurrences du cancer du sein, de la paroi thoracique [66], [67] et les cancers de la tête et du cou [68]. En outre, la technique a montré une adaptabilité au traitement des tumeurs profondes, telles que les tumeurs colorectales, les sarcomes des tissus mous et les métastases cérébrales, osseuses et hépatiques [53], [69], [70].

Durant l'ECT, des séries de 8 impulsions de 100 μ s sont généralement utilisées avec une fréquence de 1 Hz et une amplitude variable entre 900 V/cm et 1500 V/cm selon le type de cellule exposée [55], [63]–[65].

Pour résumer, L'ECT est une technique relativement récente, très avantageuse et efficace. Elle peut être utilisée lorsque la chirurgie n'est pas envisageable ou pour les lésions résistantes à la chimiothérapie et à la radiothérapie. L'ECT a une efficacité comparable ou supérieure à celle des traitements ablatifs cutanés tels que la thérapie photodynamique, la radiothérapie, et la thérapie intralésionnelle. Cette méthode convient aux patients présentant une comorbidité sévère et/ou aux patients âgés en stade palliatif où elle peut améliorer leur qualité de vie en gérant et en contrôlant diverses tumeurs malignes. En outre, la procédure de l'ECT est facile et rapide à réaliser (25-30 minutes) et s'accompagne d'un court séjour à l'hôpital. Les effets secondaires sont mineurs et la plupart des patients n'ont pas besoin de prendre d'analgésiques. Enfin, contrairement à la radiothérapie, il est possible de répéter plusieurs cycles d'ECT sans pour autant exclure d'autres types de traitements sur le même patient si de nouvelles métastases se développent [62], [71]–[74]. Néanmoins, une étude clinique séparée suggère que pour la résorption des tumeurs de plus de 3 cm de diamètre, il sera nécessaire d'appliquer plusieurs traitements ECT consécutivement [75].

Actuellement, l'ECT est utilisée pour le traitement des métastases et des tumeurs primaires dans plus de 150 centres de cancérologie en Europe et a été acceptée au même titre que d'autres traitements locaux des tumeurs [76]. En outre, l'ECT est également beaucoup utilisée en oncologie vétérinaire pour le traitement des métastases et des tumeurs primaires [77]–[80].

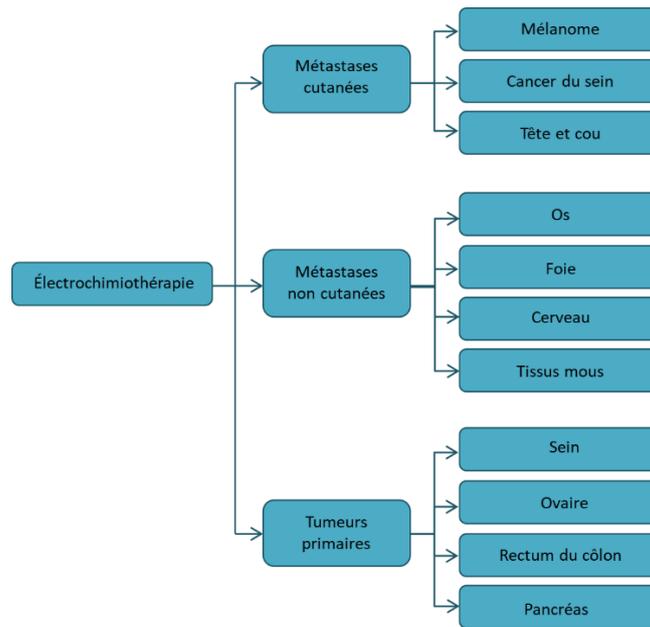


Figure 11 : Applications actuelles et potentielles de l'ECT pour le traitement des tumeurs, adaptée de [70].

Électroporation au calcium

L'électroporation au calcium (Figure 12) est une technique plus récente qui vise à introduire de fortes concentrations de calcium dans les cellules par électroporation. Cette augmentation de l'absorption de calcium dans le milieu intracellulaire entraîne un épuisement rapide de l'ATP, qui est la source d'énergie utilisée par la cellule pour maintenir son fonctionnement et sa viabilité. Une baisse significative du niveau d'ATP conduit à la mort programmée de la cellule, appelée apoptose.

Cette technique a été introduite pour la première fois en 2012 par J. Gehl et al. [81]. Elle a montré des résultats similaires à ceux de l'électrochimiothérapie ce qui pourrait en faire une option plus abordable que l'utilisation de médicaments cytotoxiques coûteux [82]. En outre, une concentration plus élevée de calcium dans l'espace extracellulaire pourrait réduire le champ électrique nécessaire à la réussite du transfert et par la suite à la mort cellulaire [83]. A présent, l'électroporation au calcium est considérée comme une nouvelle approche thérapeutique anticancéreuse sécurisée et fiable.

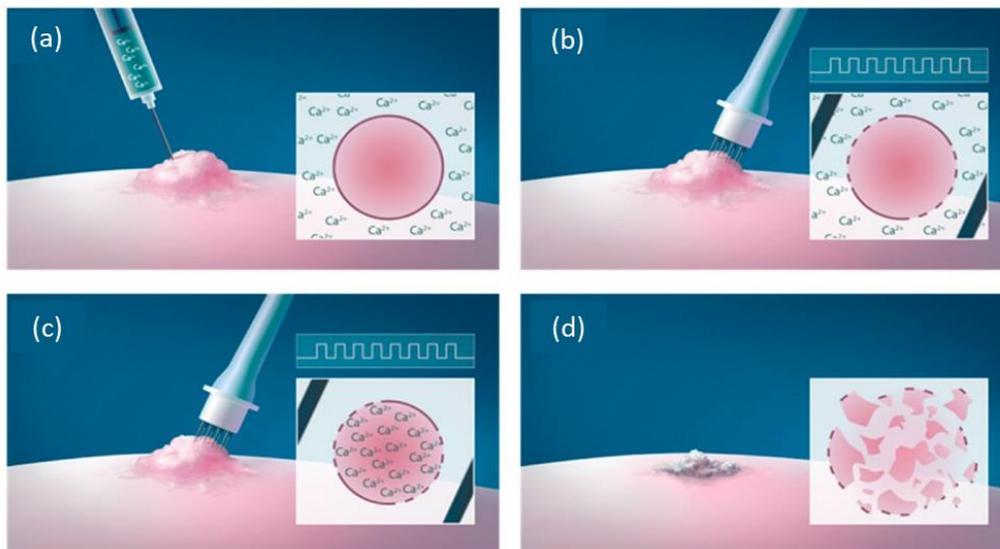


Figure 12 : Électroporation au calcium (a), le calcium est injecté dans la tumeur, ce qui provoque une forte concentration de calcium extracellulaire. (b) Immédiatement après l'injection, la tumeur est électroporée à l'aide d'une électrode (par exemple, une électrode à aiguille), ce qui provoque une perméabilisation transitoire de la membrane cellulaire, permettant au calcium de pénétrer dans la cellule. (c) Le calcium pénètre dans la cellule et provoque la mort des cellules cancéreuses. (d) L'électroporation au calcium provoque la mort des cellules cancéreuses. Extrait de [84].

Applications médicales de l'électroporation irréversible

Ablation non thermique des tissus

L'électroporation irréversible (IRE) est une procédure chirurgicale d'ablation non thermique et peu invasive qui induit la mort cellulaire (par apoptose ou nécrose) des cellules en créant des pores de taille nanométrique dans les membranes cellulaires par l'application d'impulsions électriques de haute tension [85]. Cette méthode ne détruit que les cellules tumorales et n'endommage pas les composants de la matrice extracellulaire qui maintiennent la stabilité des structures sensibles, telles que les vaisseaux sanguins, les nerfs et les cellules nerveuses [85]–[87].

Les premiers travaux sur l'IRE ont été publiés par Davalos et al. en 2005 [4]. À l'aide de modèles mathématiques, les auteurs ont prédit que l'IRE entraînerait l'ablation non thermique de volumes de tissus cliniquement pertinents. Ces travaux théoriques ont ensuite été confirmés par des études expérimentales *in vitro* utilisant des cultures cellulaires [88], des modèles de petits animaux [89] et de gros animaux [90], puis par les premières études cliniques sur des patients humains [91].

Dans [88], 30 impulsions électriques de 1500 V/cm et de 300 μ s ont été appliquées avec une fréquence de 0.1 Hz pour induire une ablation cellulaire complète des cellules humaines de carcinome hépatocellulaire (HepG2).

Dans [89], une impulsion carré de 20 ms et de 1000 V/cm était appliquée pour ablater les tissus du foie d'un rat (Sprague-Dawley male) d'une manière contrôlée, c.à.d. sans causer de dommages thermiques importants. Puis, toujours sur des foies de rats, dans [92], une IRE était réalisée en appliquant 8 impulsions de 1500 V/cm et de 100 μ s, avec une fréquence de 10 Hz.

Dans [93], 90 impulsions de la même durée (100 μ s), et de 1750 V/cm ont été appliquées avec une fréquence de 4 Hz, pour obtenir des artères carotides décellularisées de rat.

L'IRE est également utilisée pour traiter une variété de conditions médicales telles que les tumeurs du pancréas et le cancer de la prostate. L'IRE est également utilisée pour traiter la fibrillation ventriculaire, un trouble du rythme cardiaque courant [94].

Cette technique présente de nombreux avantages par rapport aux techniques traditionnelles d'ablation thermique, notamment la possibilité de traiter des tissus proches de structures vitales, telles que les nerfs ou les vaisseaux sanguins, sans endommager ces structures [95]–[97]. L'IRE est également moins susceptible de provoquer des cicatrices, ce qui en fait une bonne option pour les procédures esthétiques et fonctionnelles.

Actuellement, l'IRE est appliquée expérimentalement et cliniquement dans le traitement d'un large éventail de tissus, y compris le rein, le pancréas, le foie, les muscles et les tissus mous. Néanmoins, il faut tout de même préciser que, selon les propriétés physiques et électriques des cibles, ce processus peut s'avérer plus ou moins efficace [98], [99].

A noter que pour les traitements basés sur l'électroporation réversible tels que l'électrochimiothérapie, l'électrotransfert de gènes et l'électroporation calcique, l'efficacité de l'ablation de la tumeur dépend de l'efficacité de la transmission des molécules assistées par le champ électrique. En revanche, pour l'électroporation irréversible l'efficacité de l'ablation des tumeurs dépend des propriétés du champ électrique appliqué [48].

I.5.2. Applications pour le traitement des aliments

L'électroporation est également considérée comme une technologie de transformation alimentaire non thermique. En raison de sa faible consommation d'énergie, de sa rapidité et du fait qu'elle ne produit aucun résidu chimique dans les aliments traités, l'électroporation est largement utilisée pour améliorer les conditions de conservation des aliments sur une plus longue durée. Contrairement à d'autres méthodes plus classiques, cette technique permet de préserver le goût, la valeur nutritive et la forme des aliments [7]. Cette technique est également une manière efficace pour l'extraction de certains éléments des cellules végétales, tels que le jus de betterave sucrière (à l'aide d'impulsions de champ électrique d'intensité 0.6 kV/cm et de durée 40 ms) [100], la bétanine (1 kV/cm et 10 μ s) [101] et les antioxydants du fenouil (0.6 kV/cm et 100 μ s) [102].

De plus, l'électroporation s'est avérée efficace pour moduler l'activité et la stabilité de nombreuses enzymes, prouvant que les PEF de faible intensité peuvent améliorer l'activité enzymatique. Les enzymes, dont l'activité a été augmentée avec succès grâce à la PEF, sont les suivantes : b-galactosidase, peroxydase, protéase, glucoamylase, invertase, émolase, lysozyme et pepsine [103]–[105].

Pour résumer, l'électroporation réversible des produits alimentaires permet d'introduire des molécules telles que les exhausteurs de goût, les enzymes et les agents antimicrobiens et d'extraire des composés bioactifs, tels que les polyphénols et les caroténoïdes. Cela garantit un meilleur goût et plus de fraîcheur lors du processus de congélation des légumes ou de pressages des produits [106]. Les paramètres des impulsions électriques appliquées dépendent de l'aliment traité, par exemple : dans [107], 20 impulsions électriques de 2 kV/cm et de 4 μ s ont été utilisées pour attribuer une teneur plus élevée en polyphénols et en caroténoïdes à des

prunes. Pour le même but, des tomates ont été exposées à des impulsions de 4 μ s et d'intensité variable entre 0.4 kV/cm et 2 kV/cm dans [108].

L'électroporation irréversible, quant à elle, est utilisée pour améliorer les conditions de conservation des produits alimentaires [109], puisqu'elle permet de se débarrasser de certains micro-organismes, tels que les bactéries et les levures, qui peuvent altérer les aliments et provoquer des maladies d'origine alimentaire. Cependant, certains types de bactéries comme le *E. coli* et le *salmonella typhimurium* (qui peuvent nuire à la santé de l'individu), ne peuvent pas être complètement éliminées [110].

En 2012, Mosqueda-Melgar et al, [111], ont publié une étude sur la prolongation de la durée de conservation des jus de fruits en utilisant l'IRE. Dans cette étude, des jus de pomme, poire, tomate, fraise et orange étaient ciblés par des impulsions électriques de 35 kV/cm et de 4 μ s avec des fréquences de 180 Hz, 215 Hz, 100 Hz, 100 Hz et 235 Hz, respectivement.

Enfin, l'électroporation irréversible peut être également utilisée pour le traitement de la viande, car l'application d'un champ électrique suffisamment fort peut engendrer la rupture des fibres musculaires et ainsi augmenter la tendreté et le goût de la viande [112]. Dans [113], des impulsions électriques de 1.4 kV/cm et de 20 μ s ont été appliquées pour rendre plus tendre des pièces de viande de bœuf (*longissimus thoracis et lumborum*).

I.5.3. Applications environnementales

Traitement surfacique de bactéries

La procédure durant laquelle une couche de bactéries envahit une surface en milieu aqueux s'appelle le biofouling (Figure 13). Cette procédure dépend de l'environnement et du climat du milieu contaminé et peut conduire à l'usure des surfaces atteintes. Exposer les zones de contamination de manière répétitive par des impulsions électriques de haute tension et d'une durée de l'ordre de la microseconde permet d'éliminer les bactéries et d'empêcher leur reproduction d'une manière excessive [8].



Figure 13 : Exemple d'une surface après biofouling à droite et avant à gauche (extrait de [114]).

Décontamination des eaux par IRE

L'étude réalisée en 1898 par G.W. Fuller, intitulée "Report on the investigations into the purification of the Ohio river water at Louisville Kentucky" [115], est potentiellement le premier ouvrage portant sur un phénomène d'électroporation irréversible. Il décrit une étude dans laquelle de nombreuses décharges électriques haute tension ont été appliquées pour éliminer les micro-organismes présents dans un échantillon d'eau. L'effet bactéricide revendiqué par Fuller était très probablement le résultat d'une électroporation irréversible.

L'IRE est actuellement utilisée pour stériliser l'eau et d'autres types de fluides, comme dans [116] où des impulsions électriques de 1 μ s et de 24 kV/cm étaient utilisées pour purifier l'eau en éliminant deux types de bactéries (E.coli et les coliformes fécaux).

I.5.4. Applications militaires

L'électroporation est généralement utilisée dans le domaine militaire pour exposer les bactéries et les microbes collés sur une surface, son utilisation est donc plutôt consacrée à la lutte contre les risques biologiques. La vaccination par ADN via l'électroporation peut être également utilisée pour immuniser les soldats contre les maladies endémiques sur les champs de batailles [117].

I.6. L'électrophorèse

Une autre application non-thermique courante des champs électriques est l'électrophorèse. Cette technique est utilisée dans plusieurs domaines de recherche scientifique, tels que la biologie, la chimie et la biomédecine (laboratoire sur puce, détection et tri des cellules cancéreuses pour un meilleur diagnostic) [118]–[120]. Elle consiste à trier des molécules chargées, telles que les cellules, en fonction de leur taille et de leur charge en les soumettant à un champ électrique [121]. En effet, lorsque des molécules chargées sont soumises à un champ électrique, une force proportionnelle à l'intensité du champ électrique et à la charge des particules est générée. Si l'exposition dure suffisamment longtemps, cette force peut entraîner la migration des particules dans la direction du champ électrique externe. La vitesse de migration est directement liée à la taille de la cellule, à sa charge et à l'intensité du champ électrique externe [121], [122].

La durée et l'intensité des impulsions employées dans le cadre de l'électrophorèse dépendent de la taille et de la nature des cellules à trier [123], [124]. Lorsque le champ électrique est suffisamment puissant, un phénomène d'électroporation peut également se produire et être assisté par l'électrophorèse [125]–[127].

Dans [128], la combinaison de deux phénomènes, l'électroporation et l'électrophorèse, a été utilisée pour améliorer l'efficacité de la transfection de l'ADN dans les cellules. Pour ce faire, deux impulsions électriques de différentes amplitudes et durées ont été utilisées. La première impulsion (6 kV/cm, 10 μ s) a créé des pores de manière efficace, tandis que l'efficacité de transfection (TE) était faible. La deuxième impulsion, d'amplitude beaucoup plus faible mais beaucoup plus longue (0.2 kV/cm, 10 ms), n'a pas provoqué d'électroporation, mais a augmenté l'efficacité de la transfection d'environ un ordre de grandeur. Les auteurs ont observé que l'efficacité de transfection augmentait de manière monotone avec l'augmentation de la durée de la deuxième impulsion.

I.7. Effets des impulsions de durée de l'ordre de la nanoseconde

Comme dans les cas précédents, l'interaction entre les impulsions nanosecondes (ns) et les cellules biologiques affecte leurs membranes externes et peut emmener à la création des nanopores.

Un autre effet de l'exposition cellulaire aux impulsions ns est la perméabilisation de la membrane intracellulaire [129]. L'obtention de l'un de ces deux effets est directement liée aux paramètres des impulsions [130].

En plus, l'application de ce type d'impulsions peut induire l'augmentation de la concentration des ions de Calcium dans la cellule. Ces ions peuvent avoir deux origines différentes : a) le milieu extracellulaire est rentré dans la cellule suite à la création des nanopores dans la membrane cellulaire, et b) la réserve intracellulaire stimulée par les impulsions ns [131], [132].

Ces mécanismes peuvent déclencher l'apoptose et conduire à la mort de la cellule [133].

Enfin, l'application des impulsions ns a montré l'apparition des réponses immunitaires dans certains types de cellules cancéreuses [134], [135]. Néanmoins, ces réponses restent fortement corrélées aux paramètres des impulsions ainsi qu'à la nature des cellules ciblées [136]. Des études supplémentaires sont donc primordiales pour une meilleure compréhension des réponses immunitaires induites par les impulsions ns.

Même si l'application des impulsions ns représente un progrès prometteur dans le domaine biomédical, notamment pour le traitement de certains types de cancers, ce dernier exige généralement, comme dans le cas précédent, d'avoir un contact direct entre la cible et l'applicateur. Une intervention chirurgicale est donc toujours nécessaire pour le traitement des tumeurs profondes.

Sur la Figure 14 sont illustrés les différents domaines d'application des impulsions électriques en fonction de leur énergie pour des durées d'impulsions allant du domaine des millisecondes jusqu'aux nanosecondes. Nous pouvons constater sur cette figure que plus la durée des impulsions est courte, plus leur intensité doit être élevée pour obtenir des effets observables.

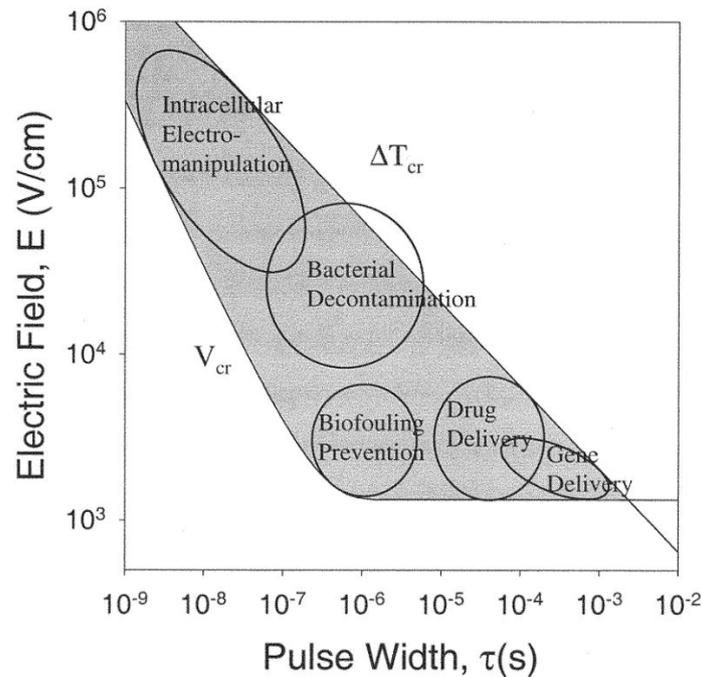


Figure 14 : Différentes applications des impulsions électriques en fonction de leur durée et intensité du champ électrique, d'après [137].

I.7.1. Effets des impulsions ultracourtes (< 2 – 4 ns)

Stimulation du milieu intracellulaire

Lorsque la durée des impulsions diminue en dessous de 2 - 4 ns, les effets sur les organelles et les éléments intracellulaires deviennent plus prononcés. En effet, dans ce cas, le temps des impulsions est plus court que le temps de charge de la membrane plasmique qui est de l'ordre de 50 ns, ce qui signifie que le champ électrique peut franchir cette membrane pour atteindre le cytoplasme [6].

Un autre avantage attribué à l'application des impulsions ultracourtes consisterait dans la possibilité de les transmettre à travers des applicateurs non invasifs. Cela permettrait concrètement de :

- 1- Dans le domaine biomédicale/clinique :
 - a) Exposer des cibles plus profondes qui sont difficiles à atteindre avec des systèmes à aiguilles ou à plaques classiques.
 - b) Éviter l'endommagement des tissus environnants la cible lors de l'insertion de l'applicateur, notamment pour les applications médicales.
- 2- Dans la recherche : Étudier des processus biologiques ultrarapides [138].

L'application d'impulsions sub-nanosecondes d'amplitude suffisamment élevée affecte le fonctionnement et la vitalité des cellules. En effet, dans [139] des impulsions de durée 800 ps et d'intensité 250 kV/cm ont entraîné l'apoptose des cellules de carcinome du col de l'utérus (HeLa) exposées. Des résultats similaires ont été obtenus lors de l'exposition d'une autre lignée cellulaire (cellules ovariennes de hamster chinois CHO-K1) à des impulsions de 500 ps et de 190 kV/cm [140].

I.7.2. Effet de la forme de l'impulsion

La forme de l'impulsion intègre une seconde polarité à l'impulsion unipolaire initiale. Des impulsions bipolaires sont créées si la seconde polarité est de signe opposé à la première, ou paire si les deux polarités sont de même signe [141].

A noter que les effets de la forme varient selon la durée des impulsions appliquées. Deux cas différents seront donc à considérer.

1. Impulsions de l'ordre de la ms et la μ s.
2. Impulsions de l'ordre de la nanoseconde, voir sub-nanoseconde.

Pour des impulsions de l'ordre de la ms et de la μ s, l'application d'une seconde polarité, entraîne des augmentations dans les effets biologiques observés. Concrètement, c'est comme si la cible était exposée à une impulsion de plus longue durée avec une plus forte dose durée-intensité [142]–[144]. Le signe de la seconde polarité de l'impulsion n'influence pas les résultats post exposition [143], [145], [146].

Cependant, pour les impulsions de plus courte durée (ns), l'application d'une seconde polarité inversée (impulsions bipolaire) a montré une atténuation dans les effets biologiques observés. On parle notamment des effets tels que l'échauffement thermique, l'électroporation et l'augmentation de la concentration des ions Calcium après l'exposition. Ce phénomène se nomme « bipolar cancellation » [147]–[150].

D'autres études se sont intéressées aux effets du décalage temporel entre les deux polarités des impulsions bipolaires sur les effets observés. Les chercheurs ont donc montré qu'au-delà d'un certain délai, l'application d'une impulsion bipolaire augmente d'avantage les effets biologiques observés [151]. L'effet de l'intensité de la seconde polarité sur les cibles a été étudié dans [152].

Cependant, les effets de l'introduction d'une seconde polarité positive ou négative et d'intensité variable, restent pour le moment, pas complètement expliqués. C'est l'une des motivations principales qui a conduit à la mise en place de nos propres générateurs permettant de créer des impulsions de durée de l'ordre de la nanoseconde et de la centaine de picosecondes et de formes unipolaire, bipolaire et paire. Ces générateurs permettront également de faire varier l'intensité de la seconde polarité par rapport à la première et de contrôler le délai qui sépare les deux polarités d'une même impulsion.

I.8. Systèmes d'exposition aux impulsions électriques

Comme nous l'avons mentionné précédemment, l'effet du champ sur les cellules est fortement corrélé aux caractères intrinsèques du champ électrique et aux conditions d'exposition. Pour s'assurer de l'obtention des effets désirés à la fin d'une exposition, il faut mettre en place un système d'exposition qui permet de contrôler les paramètres des impulsions simultanément à l'exposition des cibles biologiques.

Un système d'exposition est généralement composé d'un générateur d'impulsions, qui permettra de créer des impulsions électriques ayant une durée, intensité et fréquence de répétition bien définies. Le deuxième élément dans le système d'exposition est l'applicateur qui permettra de transmettre les impulsions générées aux cellules cibles. Le choix de l'applicateur est une étape cruciale dans la mise en place du système, puisque ce dernier assure la liaison entre le générateur et la cible, et doit donc être compatible aux deux autres

éléments, et en même temps adapté pour la transmission des impulsions. Un état de l'art sur les applicateurs ainsi qu'une étude détaillée sur un nouvel applicateur optoélectronique seront présentés dans le chapitre III.

Un système d'imagerie peut être utilisé pour pouvoir observer en direct les effets biologiques induits par les impulsions [153].

Tous les éléments doivent être bien adaptés entre eux pour éviter notamment les pertes dues aux réflexions et à l'incompatibilité électromagnétique des composants.

Plusieurs exemples de générateurs d'impulsions sont disponibles sur le marché [56], [58], [89]. Néanmoins, ces modèles sont généralement limités aux impulsions de durée minimale de l'ordre de la nanoseconde et ne permettent pas le contrôle des paramètres des impulsions. Nous avons donc fait le choix de mettre en place nos propres générateurs d'impulsions, permettant de contrôler tous les paramètres d'exposition tels que la durée, l'intensité, la fréquence de répétition.

Un état de l'art détaillé sur la génération des impulsions ainsi que les principes de fonctionnement, la mise en place et les exemples d'impulsions obtenues par nos générateurs seront présentés dans le chapitre II.

I.9. Méthodes d'imagerie pour l'étude des effets des nsPEF

Nous nous intéressons également aux mécanismes d'imagerie ultrarapide permettant de voir en directe les effets des impulsions courtes (ns) sur les cibles biologiques.

Pour observer les effets des impulsions plus longues sur les cellules, l'imagerie par microscope à fluorescence est souvent utilisée. Cette technique permet d'observer des cellules et des tissus en culture avec une grande sensibilité [141], [150], [154].

Le principal inconvénient de la microscopie à fluorescence est sa faible résolution spatiale (quelques centaines de nanomètres). En raison de cette limitation de résolution, la microscopie à fluorescence ne permet pas d'obtenir d'informations au niveau moléculaire, telles que les distances intermoléculaires et le mouvement moléculaire [155]. Ce qui rend difficile de corréliser les données biophysiques et biochimiques obtenues *in vitro* aux événements se produisant dans les cellules vivantes observées au microscope optique [155]. L'imagerie par microscope à fluorescence n'est donc pas adaptée à la détection des réponses cellulaires rapides produites suite à une exposition à des impulsions de l'ordre des nanosecondes, suite à des limitations de précisions spatiale et temporelle [156].

I.9.1. Microscopie à caméra à balayage SCM (Streak camera microscopy)

La microscopie à caméra à balayage consiste à capturer des événements à grande vitesse avec une résolution temporelle de l'ordre des picosecondes [155], [157], en plaçant une caméra à balayage dans le chemin optique du microscope. Elle fonctionne en détectant les photons émis, réfléchis ou transmis par l'échantillon biologique (préalablement préparés par l'utilisation de marqueurs fluorescents).

Le principe de fonctionnement d'une caméra à balayage d'après [157] est le suivant :

1. Les impulsions optiques émises par l'échantillon biologique sont, dans un premier temps, projetées à travers une fente, sur une surface photosensible appelée la photocathode.

2. Elles sont ensuite converties en électrons de manière séquentielle par la photocathode.
3. Les électrons créés sont accélérés et déviés par une paire d'électrodes de balayage à haute tension.
4. Pendant le balayage, les électrons sont déviés à des angles légèrement différents en fonction de leur temps d'arrivée sur les électrodes.
5. Les électrons sont ensuite multipliés par une plaque à microcanaux (MCP) et reconvertis en photons par un écran au phosphore pour former une image à balayage.
6. Enfin, une caméra CCD haute vitesse est utilisée pour numériser et transférer l'image à balayage vers un ordinateur PC pour le traitement des données.

Le dispositif expérimental d'une microscopie à camera à balayage, utilisé dans [158], ainsi que le principe de fonctionnement de la caméra à balayage (Streak camera) sont illustrés sur les deux partie a) et b) de la Figure 15, respectivement.

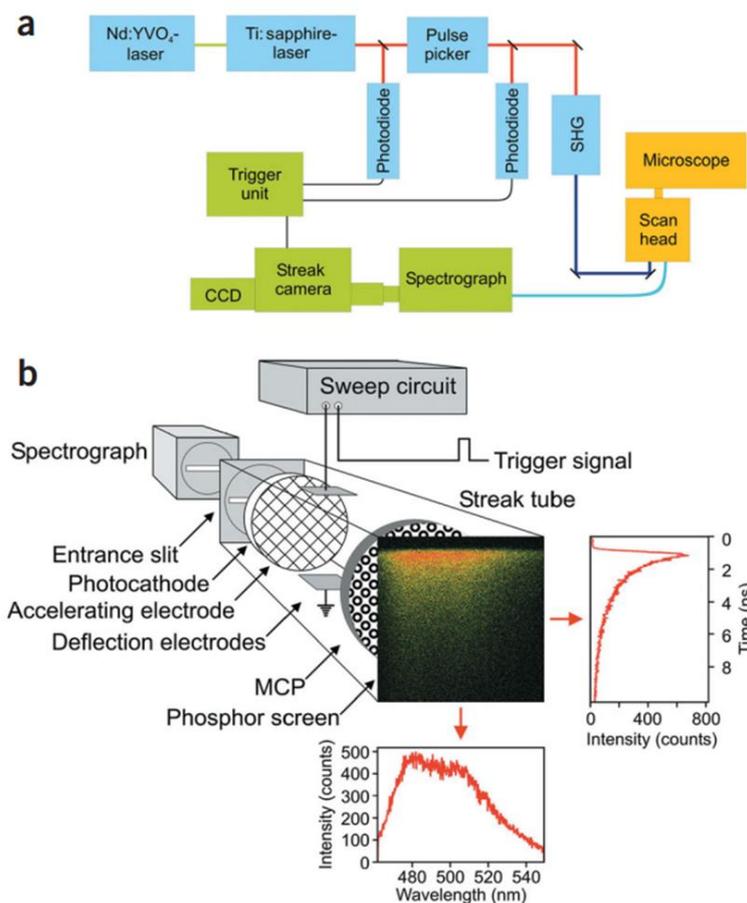


Figure 15 : (a) Dispositif expérimental de la microscopie à camera à balayage. (b) Principes de fonctionnement d'une caméra à balayage d'après [158].

I.9.2. Microscopie stroboscopique (Strobe microscopy)

La microscopie stroboscopique, souvent appelée "stroboscopie" ou "microscopie à stroboscope", est une technique d'imagerie à haute vitesse conçue pour étudier des

étudié, ce qui peut être délicat. En outre, la phototoxicité peut être un problème dans les échantillons biologiques, car l'utilisation d'intensités lumineuses élevées peut endommager les cellules.

I.9.3. Imagerie de phase quantitative IPQ (Quantitative phase imaging)

La principale difficulté dans la génération de contraste intrinsèque à partir d'échantillons optiquement minces (y compris les cellules vivantes) est que, généralement, ils n'absorbent pas ou ne diffusent pas significativement la lumière, c'est-à-dire qu'ils sont transparents.

Dans sa théorie, Abbe [162] a décrit la formation de l'image comme un phénomène d'interférence, ouvrant la voie à la formulation précise du problème du contraste de la même manière qu'en interférométrie. En exploitant ce concept, dans les années 1930, Zernike [163] a développé la microscopie à contraste de phase (PCM), dans laquelle le contraste de l'interférogramme, généré par la lumière diffusée et non diffusée (c'est-à-dire le contraste de l'image) est amélioré en décalant leur phase relative d'un quart d'onde et en adaptant davantage leur puissance relative [163]. La PCM représente une avancée majeure dans l'imagerie à contraste intrinsèque, car elle révèle les détails internes des structures transparentes sans coloration ni marquage. Cependant, l'image de contraste de phase résultante est une distribution d'intensité, dans laquelle l'information de phase est couplée de manière non linéaire et ne peut pas être récupérée quantitativement.

Dans les années 1940, Gabor a compris l'importance de l'information de phase et a proposé l'holographie comme une approche pour l'exploiter à des fins d'imagerie [164].

L'imagerie de phase quantitative (IPQ) combine essentiellement les idées pionnières d'Abbe, Zernike et Gabor. L'image résultante est une carte des décalages des chemins optiques associés à l'échantillon. De manière remarquable, la carte de phase quantitative associée à une cellule vivante fournit des informations sur la densité de masse à sec de la cellule, c'est-à-dire son contenu non aqueux. Ainsi, l'IPQ a la capacité de quantifier la croissance cellulaire avec une sensibilité proche du femtogramme et sans contact [165], [166].

I.10. Conclusion

Dans ce chapitre nous avons présenté en détail les effets des impulsions électriques sur les cellules biologiques. Nous avons commencé par étudier les bases du bioélectromagnétisme et des champs électromagnétiques. Ensuite, nous avons examiné la structure des cellules, en prenant en compte à la fois les deux approches biologiques et physiques.

Nous avons aussi mis en évidence les mécanismes de l'électroporation, qu'elle soit réversible ou irréversible, et nous avons souligné l'importance du couple intensité-durée des impulsions électriques.

De plus, nous avons exploré une variété d'applications de l'électroporation, allant de la médecine au traitement des denrées alimentaires, en passant par des applications environnementales et militaires. Nous avons également abordé les effets des impulsions de très courte durée, les systèmes d'exposition aux impulsions électriques, ainsi que les méthodes d'imagerie employées pour étudier ces phénomènes.

Dans l'ensemble, dans ce chapitre nous avons établi un état de l'art sur les effets des impulsions électriques sur les cellules, ouvrant la voie à de nombreuses applications potentielles.

Le chapitre suivant se concentrera sur la génération d'impulsions électriques.

Génération d'impulsions ultra-courtes hautes- tensions

Chapitre II. Génération d'impulsions ultracourtes hautes tensions

II.1. Introduction et principe de la génération d'impulsions

Pour étudier les effets des impulsions électriques de haute tension et de courte (> 3 ns) et ultracourte (< 3 ns) durée, sur les échantillons biologiques, il est nécessaire de mettre en place des générateurs qui permettent de contrôler les paramètres des impulsions générées et qui sont capables d'assurer leur reproductibilité.

Les paramètres principaux d'une impulsion, illustrés sur la Figure 17, sont :

- 1- L'amplitude maximale ;
- 2- L'énergie totale de l'impulsion ;
- 3- La durée totale d'une impulsion mesurée par sa largeur totale à mi-hauteur ou *Full Width at Half Maximum (FWHM)* en anglais ;
- 4- Le temps de montée ou '*Rise time*' exprimé par le temps de passage de 10% à 90% de l'amplitude maximale de l'impulsion ;
- 5- La période T, à partir de laquelle nous pouvons déduire la fréquence (f) de répétition des impulsions selon la relation :

$$F(\text{Hz}) = \frac{1}{T(\text{s})} \quad (1)$$

Le *Pulse Repetition Rate (PRR)* peut être utilisé également comme paramètre et il indique le nombre d'impulsions générées par unité de temps (seconde).

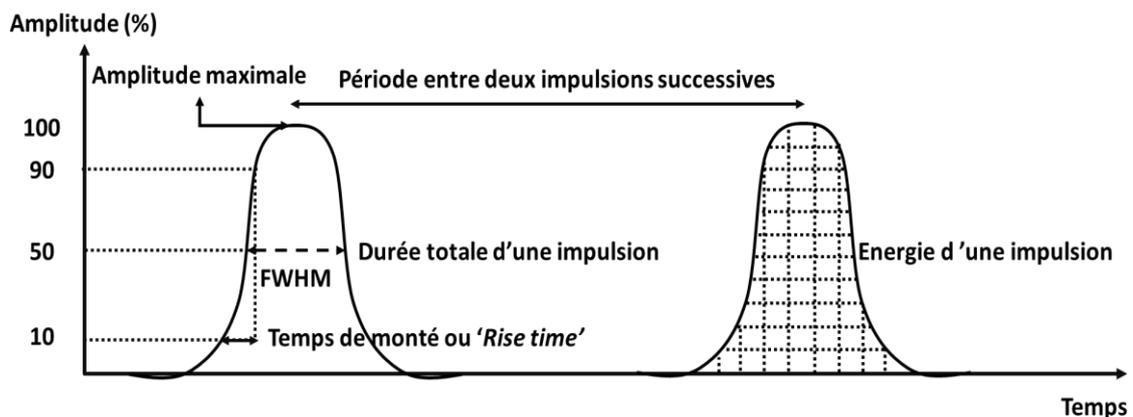


Figure 17 : Illustration des paramètres d'une impulsion électrique : l'amplitude maximale, la durée totale ou (FWHM : Full Width at Half Maximum), le temps de montée ou « rise time », l'énergie totale, et la période.

Dans le chapitre I, les effets des impulsions électriques de différentes durées allant des centaines de millisecondes jusqu'aux durées de l'ordre de la nanoseconde sur les milieux biologiques ont été détaillées. Nous avons pu remarquer que selon la forme, la durée, l'amplitude et même le délai entre les deux polarités d'une impulsion, la réponse cellulaire varie.

Ce chapitre est ainsi dédié à la présentation de la mise en place des générateurs d'impulsions électriques permettant d'étudier les effets des impulsions de l'ordre de la nanoseconde et de quelques centaines de picosecondes.

Les générateurs développés durant cette thèse sont basés sur le principe de l'onde gelée illustré sur la Figure 18. Brièvement, une énergie électrique générée par une source de haute tension est emmagasinée dans un circuit de stockage, avant d'être libérée d'un coup, par l'activation d'un ou plusieurs éléments commutateurs vers une charge en sortie [167].

Plusieurs structures de générateurs ont été décrites dans la littérature présentant typiquement les mêmes éléments fondamentaux à savoir : une source d'énergie, continue ou pulsée, un élément de stockage de l'énergie, un ou plusieurs éléments commutateurs, et finalement la charge vers laquelle les impulsions sont délivrées [167]. En bioélectricité, des expérimentations peuvent être menées *in vitro* et la charge est généralement constituée d'un applicateur contenant des cellules biologiques, adhérentes ou suspendues dans un milieu de culture, ou bien *in vivo* sur des cibles animales. Les applicateurs ou les dispositifs de distribution d'impulsions (*pulse delivery systems en anglais*) seront détaillés dans le chapitre III.

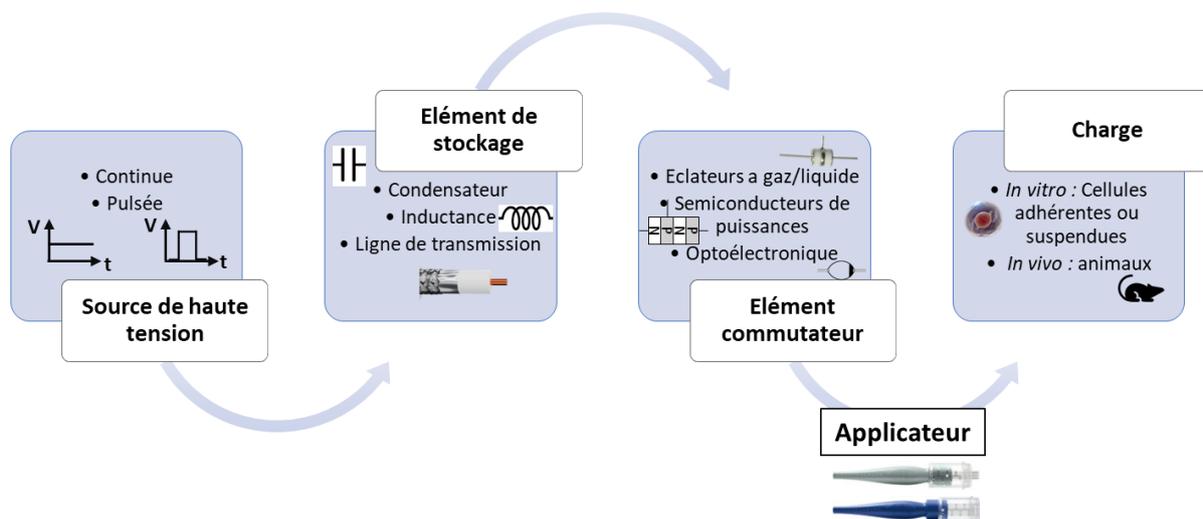


Figure 18 : Principe de fonctionnement d'un générateur d'impulsions électriques à onde gelée et ses éléments principaux : une source de haute tension, un élément de stockage de l'énergie, un ou plusieurs éléments commutateurs, et la charge qui absorbe les impulsions générées.

Dans les sections suivantes, nous présentons l'état de l'art sur les éléments principaux des générateurs de haute tension à savoir le stockage d'énergie et la commutation. Plusieurs exemples de la littérature seront présentés avec une brève explication de leur principe de fonctionnement.

II.2. Stockage de l'énergie

Un générateur d'impulsions fonctionne suivant le principe de charge lente et décharge rapide (Figure 19). Dans un premier temps, une tension continue ou pulsée est transmise de la source de haute tension vers l'élément de stockage d'énergie. Ce dernier peut être :

- un condensateur,
- une inductance,
- une combinaison des deux,
- ou encore une ligne de transmission (PFL : *Pulse Forming Line* en anglais).

Une fois la phase de charge terminée, la fermeture d'un commutateur libère l'énergie stockée vers la charge. Du point de vue quantitatif, la différence entre le temps de charge et le temps de décharge peut être de deux à trois ordres de grandeur. Par exemple, pour un condensateur, l'étape de la charge peut prendre jusqu'à 1 ms alors que la décharge pourra s'effectuer en 1 μ s. Ce passage entre le régime long et court permet un gain de courant ou de tension tout en conservant l'énergie totale du système [168], [169].

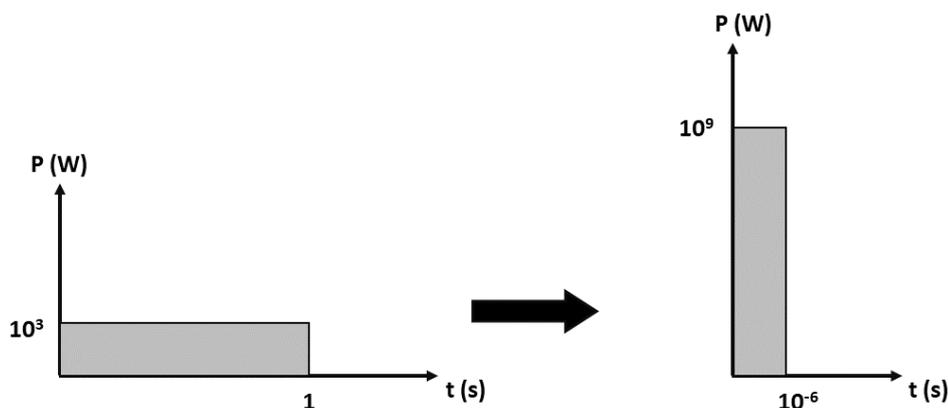


Figure 19 : Passage du régime long en régime court. L'énergie totale de l'impulsion est conservée alors que sa durée devient beaucoup plus courte et son amplitude maximale devient plus élevée.

II.2.1. Circuit à condensateur ou inductance

La Figure 20 illustre le principe d'un circuit de stockage à base d'un condensateur (C) ou d'une bobine (L).

Lorsque l'énergie est stockée dans un condensateur, l'amplitude de l'impulsion augmente presque instantanément et décroît exponentiellement avec une durée régie par une constante de temps déterminée par le produit RC (R : la résistance de la charge, C : la capacité du condensateur) [170]. Si l'énergie est emmagasinée dans une inductance, une forme d'onde similaire est générée et l'amplitude décroît avec une constante de temps, L/R ou L est l'inductance de la bobine. Les constantes de temps correspondent à la durée nécessaire pour passer de la valeur totale de la tension de la charge à 36.8% soit (1/e) de cette valeur. La durée totale d'une impulsion peut être obtenue à partir de ces constantes. Le temps de montée d'une impulsion issue d'un système de stockage inductif peut varier entre 0.5 ns et 2 ns. Pour un système capacitif, le temps de montée d'une impulsion est idéalement nul. Cependant, les inductance parasites du condensateur, du commutateur, de la charge et des câbles augmentent le temps de montée [169], [171].

Un système de stockage inductif assure une fine gestion du courant et représente une structure compacte. Quant au système capacitif, la tension de sortie est mieux contrôlée, et la mise en œuvre est moins compliquée. L'amplitude maximale en tension des impulsions produites par un stockage capacitif est théoriquement égale à la tension de polarisation V_0 . En revanche, pour un stockage inductif la tension maximale atteinte en sortie est dépendante de la résistance interne de la bobine et elle sera toujours inférieure à V_0 . Néanmoins, ces deux types de stockage ne permettent pas de définir la forme des impulsions en sortie, et la seule forme d'impulsion obtenue est à décroissance exponentielle.

En revanche, lorsque l'élément de stockage d'énergie est une combinaison de condensateur(s) et d'inductance(s), une forme d'onde oscillatoire ou carrée est générée en fonction des paramètres du circuit comme illustrée dans la section suivante.

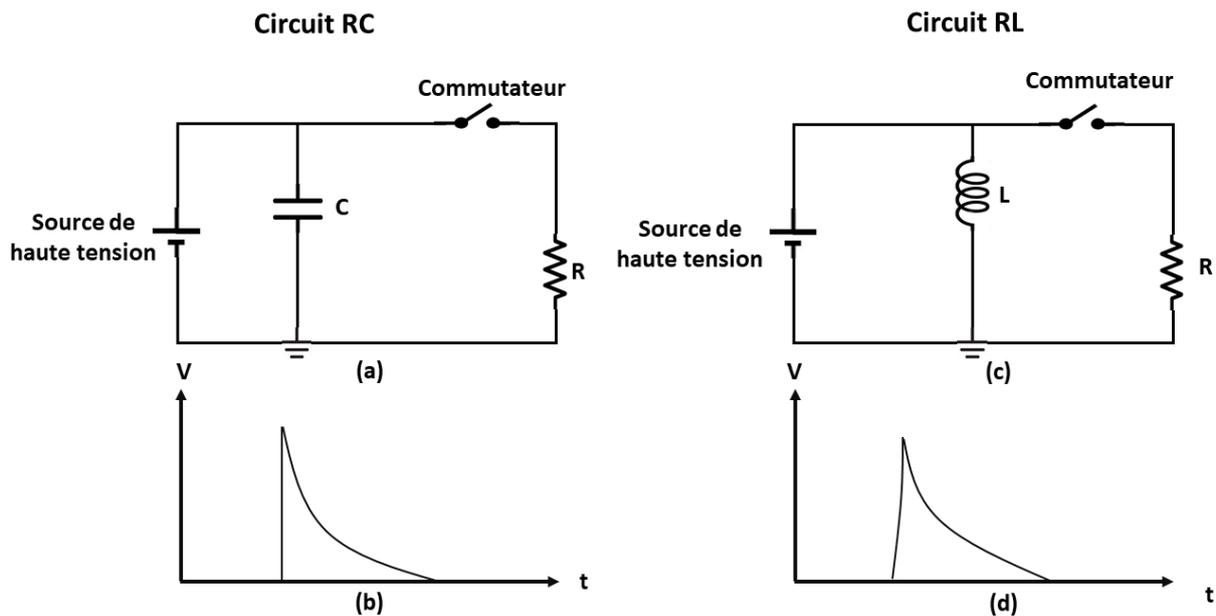


Figure 20 : (a) : Circuit équivalent d'un générateur à stockage capacitif composé d'une source de haute tension, d'un condensateur (C), d'un commutateur, et d'une charge (R) ; (b) : Exemple d'impulsions générées avec ce type de générateur ; (c) : Circuit équivalent d'un générateur à stockage inductif composé d'une source de haute tension, d'une inductance (L), d'un commutateur, et d'une charge (R); (d) : Exemple d'impulsions générées par (c).

II.2.2. Circuit à condensateur et inductance (circuit RLC)

Les circuits RLC (Figure 21) avec un élément commutateur sont les plus couramment développés dans les systèmes pulsés à haute énergie. Les paramètres du circuit (R, L, et C) déterminent le régime d'amortissement du système et ce dernier imposera la forme de l'impulsion [172] :

- 1- Régime à amortissement fort : l'impulsion en sortie décroît comme une impulsion produite par un système RC.
- 2- Amortissement critique : l'impulsion produite décroît proportionnellement à l'exponentielle $(-R/2L)$.

- 3- Régime sous-amorti : le mouvement produit est oscillatoire, périodique, et amorti. Les impulsions générées dans ce cas sont de nature bipolaire (ayant deux polarités de signe opposé).

La tension maximale de l'impulsion produite dépend du régime oscillatoire appliqué, mais elle ne pourra, dans aucun des cas, atteindre la valeur totale de la tension de charge V_0 , à cause de la résistance interne de la bobine et de R .

En utilisant un commutateur qu'on peut entièrement contrôler à la fermeture ou à l'ouverture, et en respectant des conditions spécifiques dans le choix des valeurs associées à R , L et C une forme d'onde carrée peut être générée avec un générateur basé sur ce type de circuit [173].

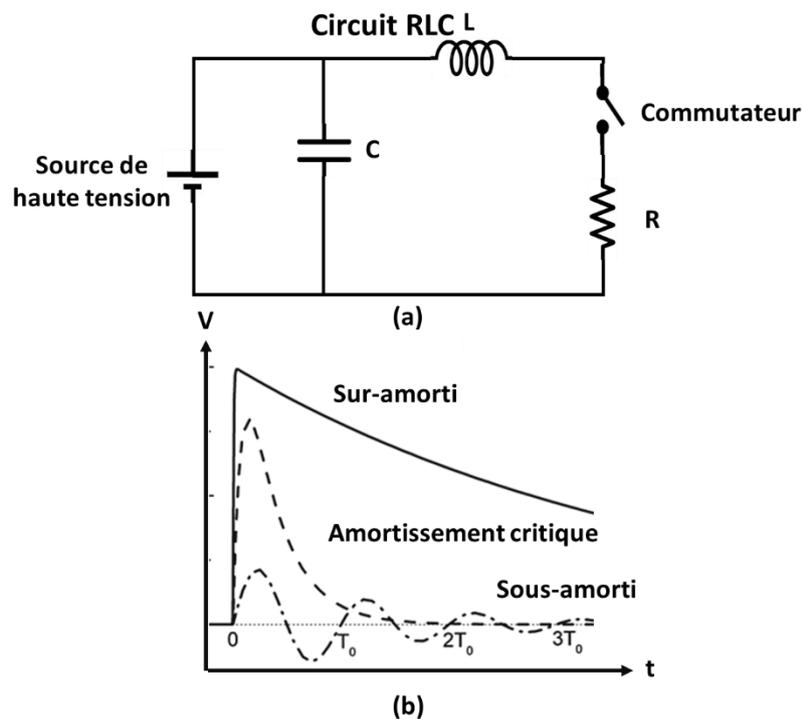


Figure 21 : a) Circuit RLC et ses éléments : une source de haute tension, un condensateur (C) une inductance (L), un commutateur, et une résistance (R). b) Illustration des 3 régimes d'amortissement, source [167].

II.2.3. Ligne de transmission pour la mise en forme de l'impulsion

Une ligne de mise en forme d'impulsion nommée Pulse Forming Line (PFL) en anglais est une autre technique courante de stockage d'énergie dans les générateurs des impulsions de courte durée et de haute tension. Un générateur PFL (Figure 22) est composé d'une source de haute tension, d'une ligne de transmission qui sera l'élément de stockage de l'énergie, d'un ou plusieurs commutateurs, le tout connecté à une charge d'impédance R_c [149], [174]. Une résistance de valeur importante (\sim MOhm) est placée entre la source de haute tension et la ligne de transmission pour limiter le courant I .

Le principe de fonctionnement d'un générateur PFL consiste à charger la ligne de transmission principale avec une source continue de haute tension, puis la décharger en fermant l'élément commutateur. Quand le commutateur est fermé, deux ondes d'amplitude

égales à $V_0/2$, une incidente et une réfléchie, se propagent successivement vers la charge, comme illustré sur la Figure 22.

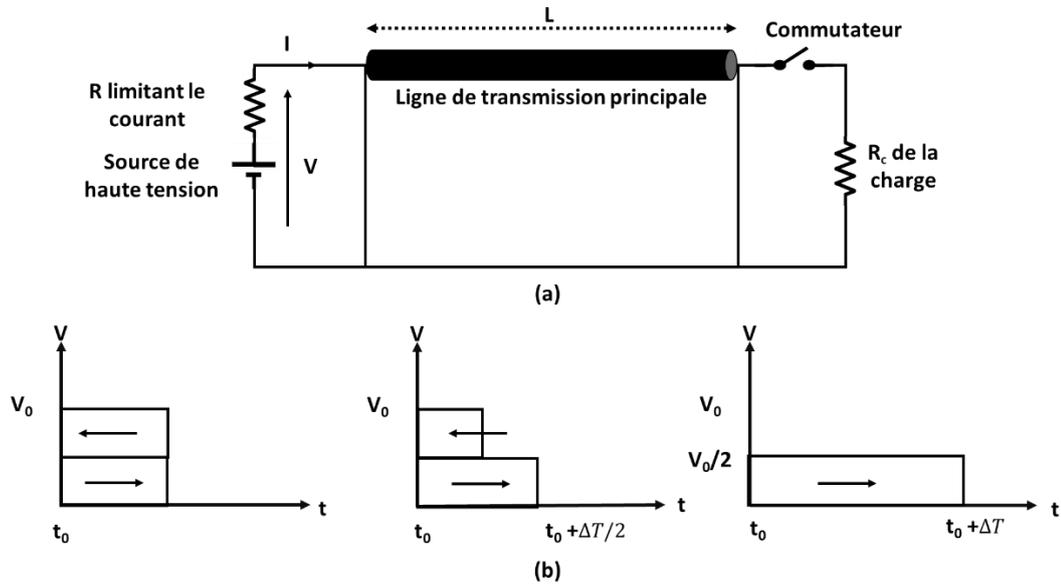


Figure 22 : a) Circuit d'un générateur à ligne de transmission. b) Illustration des étapes de formation des impulsions générées (adapté de [175]).

Une impulsion rectangulaire est donc formée, et sa durée ΔT est égale à deux fois le temps de propagation d'une onde dans une ligne de transmission de longueur L selon l'équation :

$$\Delta T(s) = \frac{2L(m)}{v_p(m/s)} \quad (2)$$

Où v_p est la vitesse de propagation de l'onde dans la ligne désignée par :

$$v_p(m/s) = \frac{c(m/s)}{\sqrt{\epsilon_r}} \quad (3)$$

Avec $c (= 3 \times 10^8 m/s)$ est la célérité de la lumière dans le vide et ϵ_r la permittivité relative de la ligne de transmission.

Pour limiter le courant, une résistance de valeur élevée (quelques centaines d'Ohms) est généralement placée entre la ligne de transmission et la source de tension continue. La tension de l'impulsion formée à la sortie du générateur est typiquement égale à la moitié de la tension de polarisation, et sa forme peut être unipolaire ou bipolaire [149]. Pour ce type de générateur, le temps de fermeture des éléments commutateurs doit être inférieur à la durée de l'impulsion générée afin de pouvoir bien définir le temps de montée ainsi que la durée des impulsions à la sortie. Il est clair que le temps de commutation doit être le plus faible possible afin d'obtenir des durées d'impulsions dans la gamme des nanosecondes, voir sub-nanosecondes, en tenant compte du caractère haute tension des grandeurs à commuter.

La ligne de transmission peut être une structure microruban [176], [177] ou un câble coaxial standard d'impédance typique 50 Ohms [178] comme illustré dans les sections suivantes.

II.2.3.1. Ligne microruban

Une ligne microruban est composée de deux couches minces de conducteur (métal) séparées par une couche de diélectrique (Figure 23). La couche de métal inférieure correspond au plan de masse. L'impédance de la ligne est obtenue à partir des dimensions des couches et de la permittivité relative du diélectrique. L'avantage majeur de ce type de générateur réside dans sa simplicité de mise en place et dans le fait que tous les éléments du circuit sont visibles et accessibles. Un autre atout est l'impédance contrôlable de la ligne qui peut être variée en changeant la dimension de la couche supérieure du métal [179]. Les lignes microrubans peuvent donc être conçues avec des impédances caractéristiques spécifiques selon les applications. Par exemple, des générateurs avec une impédance interne de 50 Ohms et de 10 Ohms sont créés [180]. Une des limitations de la technique microruban vient des pertes significatives qu'elle peut présenter en particulier pour les impulsions de très courtes durées, présentant un spectre haute fréquence [181], [182]. Des impulsions de quelques nanosecondes, voire des centaines de picosecondes ont été générées avec cette technologie. Cependant, l'amplitude maximum des impulsions reste limitée à une tension de l'ordre de 4-5 kV [183].

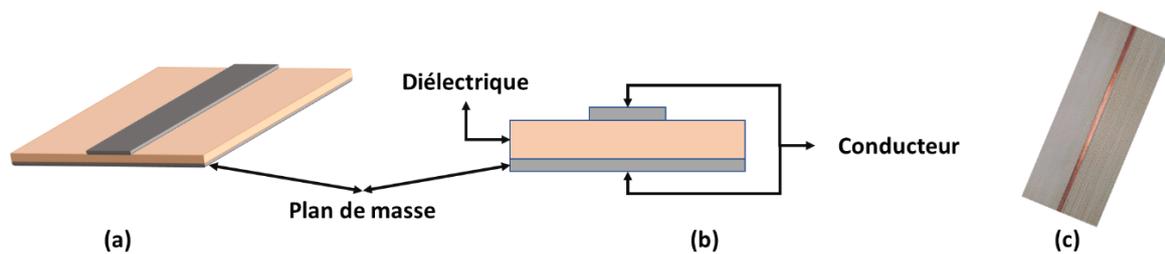


Figure 23 : Ligne microruban 3D (a), vue de face 2D (b) et photographie extraite de [184] (c).

II.2.3.2. Ligne de transmission coaxiale

Pour générer des impulsions avec des tensions plus élevées, un câble coaxial classique, d'impédance caractéristique 50 Ohms est utilisé. Contrairement au cas précédent, l'impédance d'un câble coaxial est plus difficile à contrôler et sa valeur standard est de 50 Ohms imposée par le diamètre du conducteur central, également appelée l'âme, et celui du diélectrique l'entourant (Figure 24). L'utilisation d'un câble coaxial donne plus de souplesse dans le choix de la longueur de la structure, ouvrant la possibilité d'ajuster la durée des impulsions [174]. De plus, les câbles coaxiaux permettent de générer des impulsions de tension plus élevée (4 kV à 10 kV typiquement) [141], [178].

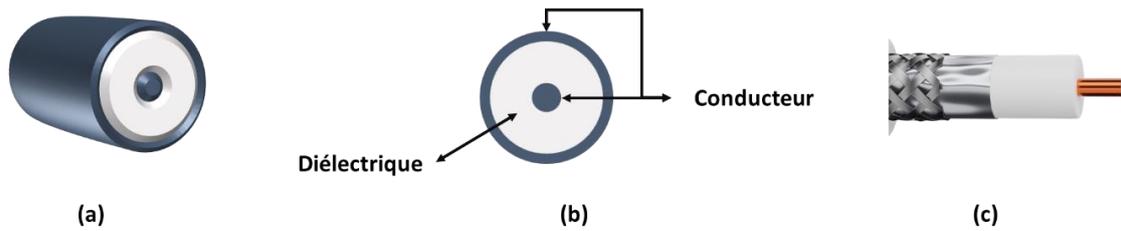


Figure 24 : Cable coaxial composé de 3 couches : un conducteur central, une couche diélectrique enrobée par une deuxième couche conductrice, le tout enrobé par un diélectrique isolant. Représentation 3D (a), en coupe 2D (b) et photographie extraite de [185] (c).

II.2.4. Réseaux de ligne de transmission

Afin d'augmenter la valeur de la tension en sortie d'un générateur d'impulsions, des réseaux de mise en forme des impulsions ou Pulse Forming Networks (PFN), en anglais, sont utilisés. Les PFN sont des circuits multiplicateurs permettant d'amplifier la tension de sortie des impulsions. Les générateurs PFN les plus connus sont les générateurs de Marx et Blumlein.

II.2.4.1. Générateur Marx

Un générateur de « Marx » est un type de multiplicateur de tension inventé par Marx en 1923 [186]. Le concept de base du générateur Marx, illustré sur la Figure 25, est de charger des condensateurs à une tension de polarisation V_0 en parallèle et de les commuter ou décharger ensuite en série. Ce processus augmente effectivement la tension de polarisation à V_0N , où N est le nombre de condensateurs ou d'étages du générateur. Lorsque tous les interrupteurs sont ouverts, on dit que le Marx est monté et son circuit équivalent est simplement résumé par un condensateur, avec une capacité chargée à V_0N .

L'amplitude maximale et la durée d'une impulsion issue d'un générateur Marx sont directement corrélées à la dimension du générateur, et plus précisément au nombre d'étages qu'il contient. Des impulsions de quelques mégajoules et de dizaine de ns peuvent être produites par une large structure Marx (la taille d'une grande pièce par exemple). Cependant, pour les structures de taille compacte (typiquement un bureau) la tension maximale délivrée est de quelques centaines de kV, avec un taux de répétition de l'ordre du kHz [187], [188]. Généralement, les impulsions à la sortie d'un générateur Marx ont la même forme que celles à la sortie d'un générateur RLC, illustrée sur la Figure 21. Néanmoins, des impulsions rectangulaires peuvent être également produites en modifiant la structure d'un générateur Marx [189], [190]. Les changements qui seront effectués dans ce cas consistent à remplacer chaque condensateur par un circuit constitué d'un ou plusieurs condensateurs et bobines connectés dans une configuration semblable à celle d'un générateur Marx classique.

Les impulsions générées à la sortie d'une structure Marx standard sont constituées d'une seule polarité qui peut être positive ou négative. Cependant, des générateurs plus récents combinant deux [191] ou plusieurs [192] structures Marx modifiées ont été utilisés pour la génération d'impulsions bipolaires.

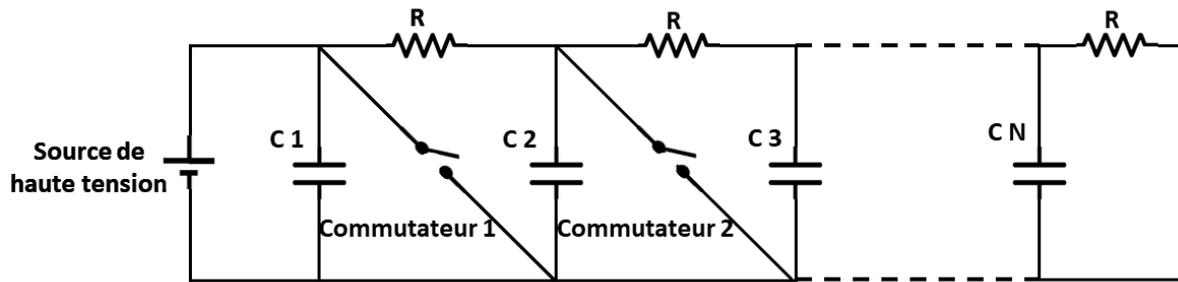


Figure 25 : Structure d'un générateur Marx à N étages c.à.d. contenant N condensateurs, N résistances identiques pour limiter les problèmes de compatibilité électromagnétique et N commutateurs (adapté de [169]).

II.2.4.2. Générateur Blumlein

La structure d'un générateur « Blumlein » est présentée sur la Figure 26. Elle est constituée de deux lignes de transmission identiques, d'une source de haute tension, d'un commutateur, et d'une charge. Un générateur Blumlein consiste à emmagasiner l'énergie dans les deux lignes de transmission principales en les chargeant en parallèle. Elles sont ensuite déchargées en série. Cette technique surmonte l'inconvénient d'une PFL qui ne transmet que la moitié de la tension de polarisation ($V_0/2$) et permet ainsi de générer des impulsions ayant une amplitude égale à la totalité de la tension de charge (V_0) [193].

A la sortie d'un générateur Blumlein, les impulsions produites sont de forme carrée. Leur durée est directement liée à la longueur L des deux lignes de transmission (i.e., $2L$ comme expliqué dans la session II.2.3) et leur tension maximale est égale à la tension de polarisation V_0 . Le temps de montée d'une impulsion est imposé par le temps de commutation des interrupteurs.

Les générateurs Blumlein sont largement utilisés dans plusieurs domaines notamment les radars [194], les lasers [195], et les applications biomédicales [196], [196], [197].

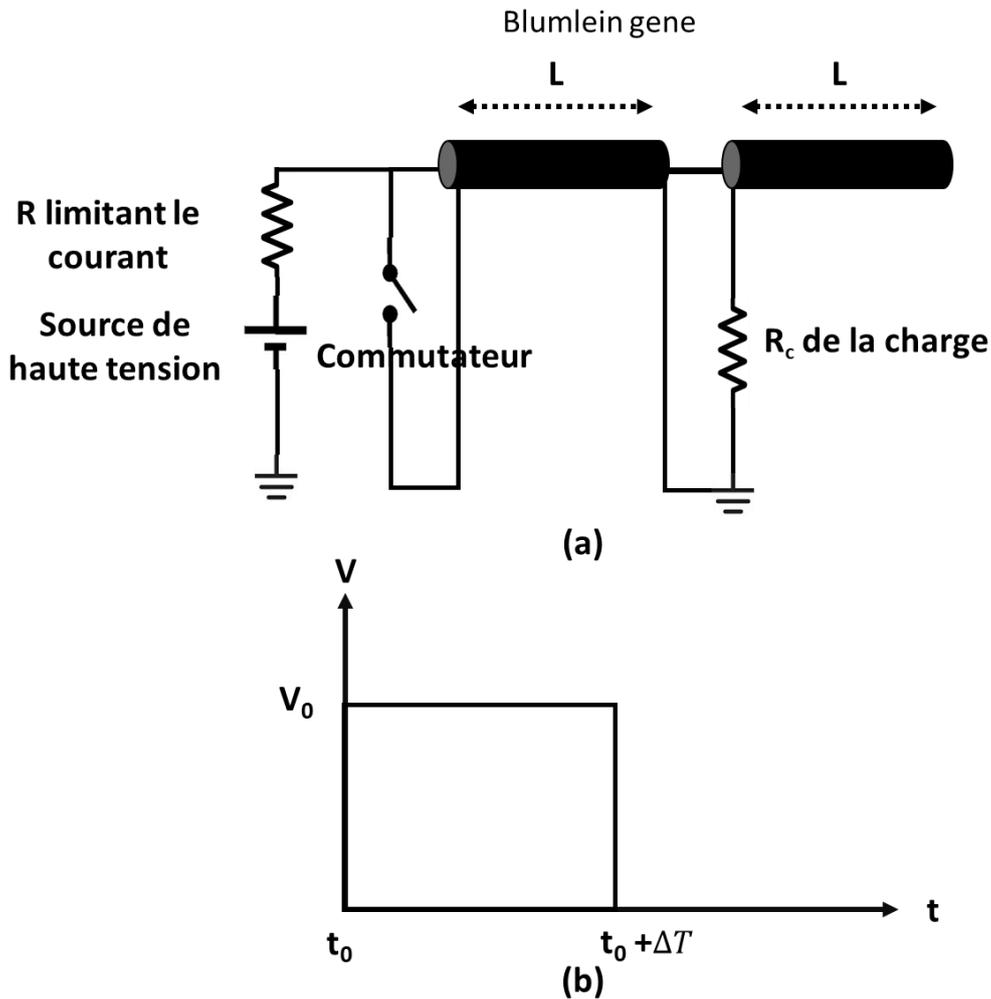


Figure 26 : a) Schéma d'un circuit équivalent d'un générateur Blumlein. b) Exemple d'impulsions générées par ce type de générateur. Adapté de [167].

II.2.5. Transformateur piézoélectrique de type Rosen

Un transformateur piézoélectrique (TP) ou *Piezoelectric Transformer* en anglais, peut également être utilisé pour augmenter l'amplitude des impulsions électriques à la sortie d'un générateur de haute énergie [198], [199]. Le principe de fonctionnement d'un TP est relativement simple et se base sur des transformations entre deux types d'énergies : électrique et mécanique. En effet, au départ, une impulsion électrique est délivrée au TP par une source de haute tension, ce qui engendre un mouvement vibrationnel dans le TP. Lorsque la fréquence de l'impulsion électrique correspond à la fréquence de résonance interne du TP, le mouvement vibrationnel atteint un maximum et une impulsion électrique amplifiée est produite [199]. La différence entre un TP de type Rosen et un TP normal est la façon dont l'énergie est transférée. Dans un transformateur de type Rosen, l'énergie électrique est transférée par l'intermédiaire d'une couche conductrice collée aux éléments piézoélectriques, alors que, dans un TP normal, l'énergie est transférée par un champ électromagnétique.

Le montage d'un circuit TP est représenté sur la Figure 27 où un TP de type Rosen, alimenté par une source de haute tension, est connecté à un commutateur et à une charge R_c , qui absorbera les impulsions produites.

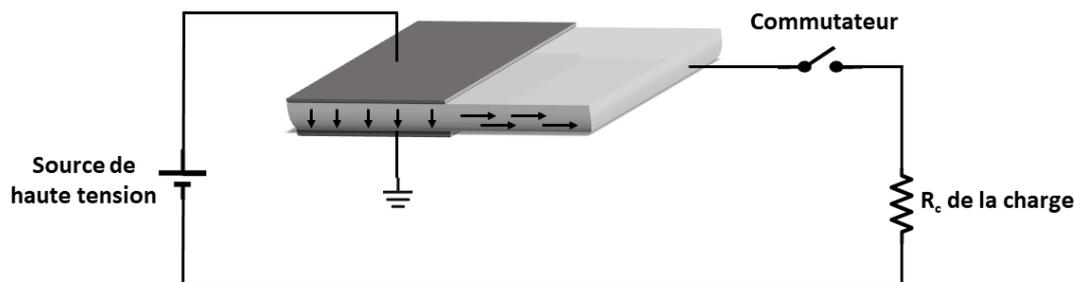


Figure 27 : Circuit basé sur un transformateur piézoélectrique (adapté de [200]).

Les transformateurs piézoélectriques sont légers, compacts et insensibles au bruit électrique [201]. Ils sont également démagnétisés ce qui les rend adaptés pour certaines procédures médicales comme l'imagerie par résonance magnétique IRM. Néanmoins, les TP ne sont pas aussi largement utilisés que les structures Blumlein ou Marx et cela est dû à plusieurs facteurs dont :

- 1- La limitation à quelques kV de la tension en sortie. En effet la tension de polarisation ne doit pas excéder les limites d'endommagement des éléments du TP [202].
- 2- L'augmentation par effet Joule de la température du TP conduit à sa destruction et se manifeste par une déformation dans l'amplitude et la forme des impulsions en sortie [203].
- 3- Les processus de transformation entre les deux formes d'énergies peuvent engendrer des pertes importantes au niveau de la tension.

Nous venons de présenter les principaux types d'éléments de stockage utilisés pour générer des impulsions électriques courtes et ultracourtes. À présent, nous allons aborder le troisième élément des générateurs : les commutateurs.

II.3. Éléments commutateurs

Quel que soit le type de stockage d'énergie, l'élément commutateur joue un rôle critique dans la mise en place du générateur. En fonction de la rapidité de commutation et de la tension maximale que peuvent soutenir les commutateurs, ces derniers vont jouer un rôle prépondérant dans la forme de l'impulsion produite.

Selon les caractéristiques des impulsions recherchées, différents types de commutateurs peuvent être utilisés pour concevoir les générateurs, à savoir : i) commutateurs à gaz [204]–[206], ii) commutateurs liquides [207], ou encore iii) des commutateurs à l'état solide comme les semi-conducteurs (MOSFET, transistor à avalanche, thyristors, des diodes ou même des commutateurs optoélectroniques) [208], [209]. Un état de l'art des différents types de commutateurs est présenté ci-après.

II.3.1. Commutateurs d'éclateur à gaz

Les éclateurs sont constitués de deux électrodes séparées par un gap (Figure 28). Ce gap est normalement rempli d'air à la pression atmosphérique pour les éclateurs à gaz et du

liquide pour les éclateurs à base de liquide. Le processus de commutation est déclenché par des électrons libres émis par la cathode ou par une source externe. Ces électrons seront ensuite accélérés par le champ électrique dans le gap séparant les électrodes. Suite à cette accélération, ils auront suffisamment d'énergie pour provoquer l'ionisation par collision des molécules ou d'atomes de gaz/liquide. De nouvelles paires d'électrons-ions sont donc créées, dans un processus nommé l'avalanche de Townsend (ou premier processus de Townsend) [210]. Lors de ce processus le nombre d'électrons dans le gap augmente exponentiellement.

Outre l'ionisation par collision, la photo-ionisation et l'ionisation thermique, contribuent également à l'augmentation du nombre global d'électrons. Néanmoins, cette augmentation peut être contrariée par des processus de recombinaison qui se produisent également dans le gaz. Si le champ électrique dure suffisamment longtemps, les ions positifs atteindront la cathode et provoqueront l'émission d'un plus grand nombre d'électrons dans le gap entre les électrodes par bombardement ionique. Ce processus est connu sous le nom de Townsend secondaire [210]. Cette émission secondaire d'électrons marque le déclenchement du claquage ou l'effondrement du gap. Le nombre d'électrons augmente, ce qui entraîne une augmentation de la température par effet Joule dans le canal gazeux. Cela conduit à l'augmentation de la pression et du rayon du canal. Dès que la tension entre les électrodes s'effondre complètement, une étincelle se forme et le gap se ferme entièrement. Le canal dilaté agit comme un piston sur le gaz restant et produit un choc dans le gaz [211].

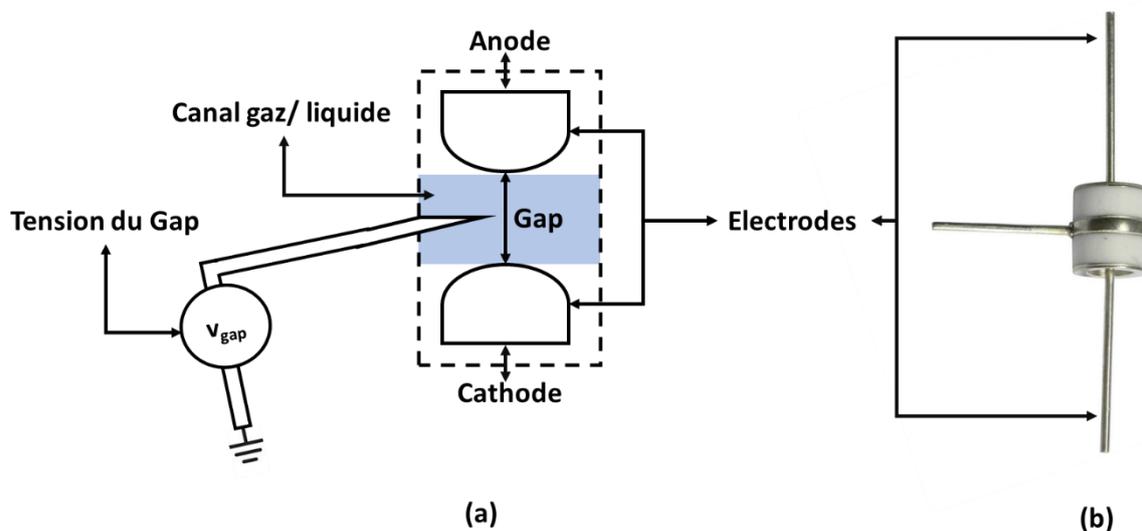


Figure 28 : a) Commutateur à éclateur constitué de deux électrodes séparées par un gap qui peut être rempli de gaz ou de liquide (inspiré de [212]) et b) photographie d'un éclateur à gaz [213].

En tant que tel, le claquage est associé à un délai temporel, qui comprend le temps de multiplication des électrons par collisions et l'émission d'électrons à la cathode par impact d'ions positifs [205]. Le temps exact du processus de commutation reste donc difficile à définir. De ce fait, l'utilisation des éclateurs en tant que commutateurs entraîne une gigue temporelle importante [214] et le processus de génération des impulsions électriques ne peut pas être couplé avec d'autres mécanismes ultrarapides utilisés comme par exemple pour la microscopie tel que le M-CARS ou '*Multiple coherent anti-Stokes Raman scattering*' [215].

La fréquence de répétition d'un éclateur à gaz varie de 1 Hz à plusieurs kHz. Elle dépend du temps de relaxation du gaz, ou plus concrètement de la vitesse de refroidissement du canal après un événement de commutation. Les gaz, tels que l'hydrogène, qui ont une forte diffusivité thermique ont tendance à avoir un temps de récupération rapide. Il a été démontré qu'un éclateur à hydrogène présentait un temps de récupération de 100 μ s [216], ce qui suggère une fréquence de répétition potentielle de 10 kHz.

Les éclateurs à gaz sont souvent les commutateurs les plus utilisés dans une structure Marx avec des tensions élevées (quelques centaines de kV) [187].

II.3.2. Commutateurs liquides

Les commutateurs liquides ont le même principe de fonctionnement que les commutateurs à gaz sauf que le gap est généralement rempli d'eau ou d'huile (Figure 28). La performance du commutateur dépend des conditions et de la polarité des électrodes ainsi que de la nature et la pureté du liquide.

Comme les commutateurs à gaz, ceux à l'état liquide peuvent être utilisés pour la génération d'impulsions de très courte durée (ns) et de très haute tension (centaine de kV) [217]. A titre d'exemple, des impulsions gaussiennes de 2 ns avec une tension de 650 kV ont été créés par un générateur Blumlein utilisant des commutateurs liquides à l'huile [218]. Selon cette étude, ce générateur peut être utilisé dans plusieurs applications tels que : la technologie des plasmas de décharge, la photographie au flash à haute vitesse d'objets en mouvement, le traitement des gaz et des eaux usées et la technologie d'isolation haute tension.

Cependant, suite à la valeur importante de la gigue temporelle, les générateurs utilisant ces deux types de commutateurs ne peuvent pas être synchronisés avec d'autres systèmes ultrarapides en imagerie par exemple. L'autre inconvénient de ce type de commutateurs réside dans leur durée de vie relativement courte (10^5 opérations), due à la forte érosion des électrodes [219].

II.3.3. Commutateurs solides

Les commutateurs solides sont tous des semi-conducteurs de puissance comme les transistors (par exemple MOSFET [220]), thyristors [208], diodes à ouverture [221]. Ces commutateurs peuvent être plus ou moins commandés, selon leur type mais ils possèdent tous une faible teneur en tension (de l'ordre de 1 kV [222]). Un commutateur peut être actionné lorsqu'il est possible de contrôler son passage de l'état isolant à l'état passant et vice versa. Pour surmonter la faible tenue en tension ou en courant, les commutateurs solides sont souvent branchés à plusieurs en série ou en parallèle [223]. Une autre solution consiste à utiliser les commutateurs optoélectroniques à semi-conducteurs qui peuvent tenir quelques dizaines voire centaines de kV en tension [176], [224].

II.3.3.1. Transistors

II.3.3.1.1. MOSFET

Un MOSFET ou *Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor* est un transistor à effet de champ à grille isolée. Il a été conçu théoriquement en 1920 par Lilienfeld et Heil et pratiquement en 1960 par Atalla et Kahng [225]. Ce dispositif est constitué de deux zones dopées P séparées par une zone dopée N, (ou de deux zones dopées N séparées par une zone dopée P). Deux des contacts du MOSFET, le drain et la source sont attachés à chacune

des deux régions P (N), tandis que la grille est attachée à la région intermédiaire dopée N (P) à travers une couche d'oxyde (Figure 29). La tension appliquée à la grille impose, par effet de champ, la densité des porteurs et donc module la conductivité entre la source et le drain.

Les MOSFET peuvent assurer un temps de commutation de l'ordre de quelques ns [226]. En revanche, la tenue en tension d'un MOSFET reste relativement faible (autour de 1 kV). Pour surmonter ce problème, plusieurs MOSFET peuvent être branchés en série [227].

Les interrupteurs MOSFET sont largement utilisés pour générer des impulsions rectangulaires de durée variable entre quelques nanosecondes [228] et quelques microsecondes [220]. Les amplitudes de ces impulsions peuvent également prendre des valeurs variées entre 0.3 kV [197] et 8 kV [229]. Des impulsions gaussiennes de quelques dizaines de nanosecondes et avec des taux de répétition allant jusqu'à 200 kHz peuvent être également générées avec les commutateurs de ce type [230], [231].

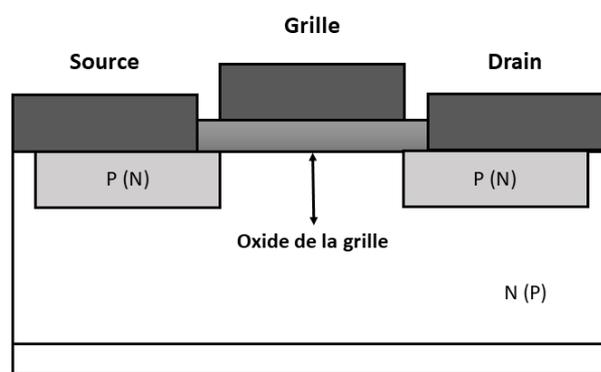


Figure 29 : Structure d'un MOSFET, avec ses 4 zones principales : la source, le drain reliés aux deux zones de dopage identique P -ou N), la grille reliée à la zone N (ou P) à travers l'oxyde de la grille (adapté de [167]).

II.3.3.1.2. Transistor à avalanche

Un transistor à avalanche (NPN ou PNP), crée un processus d'avalanche dans la zone de déplétion entre la base et le collecteur. Cette zone est aussi nommée zone de charge d'espace (ZCE) et elle est polarisée en sens inverse. Quand la tension de claquage du transistor est atteinte, la ZCE présente un champ élevé ce qui facilite l'ionisation par impact. Lorsque les électrons injectés depuis l'émetteur se déplacent vers le collecteur, ils entrent en collision avec le matériau et forment de nouvelles paires électrons-trous. Ce processus d'ionisation par impact produit une multiplication ultrarapide des porteurs de charge. Par la suite, le transistor est rapidement activé (~100 ps) [232] et peut donc être utilisé pour générer des impulsions nanosecondes voire sub-nanosecondes.

Des impulsions de 2.5 kV et de durée égale à 6 ns avec une fréquence de répétition de 10 kHz ont été produites avec des générateurs à base de transistors à avalanche [233]. D'autres impulsions de plus courte durée (1 ns) et d'amplitude plus élevée (4 kV) ont également été générées avec cette technique [234].

II.3.3.1.3. Thyristors

Les thyristors au silicium, aussi appelés redresseurs contrôlés, sont les commutateurs solides les plus connus. Commercialisé depuis 1956, le thyristor est composé de quatre

couches de silicium alternativement dopées N et P (N P N P ou P N P N) et possède trois bornes : l'anode, la cathode et la grille qui sert à commander le thyristor [235]. Un thyristor agit comme deux transistors bipolaires connectés (Figure 30). Les deux jonctions externes P et N sont reliées à l'anode et à la cathode respectivement. La grille est reliée à la jonction P du milieu. Pour que le thyristor se mette en mode passant, il faut que la tension appliquée entre l'anode et la cathode soit supérieure à la tension seuil de la grille. Un courant pourra donc circuler de l'anode vers la cathode en traversant le thyristor. Lorsque la valeur du courant n'est pas inférieure au 'courant de maintien', le thyristor reste dans son état conducteur.

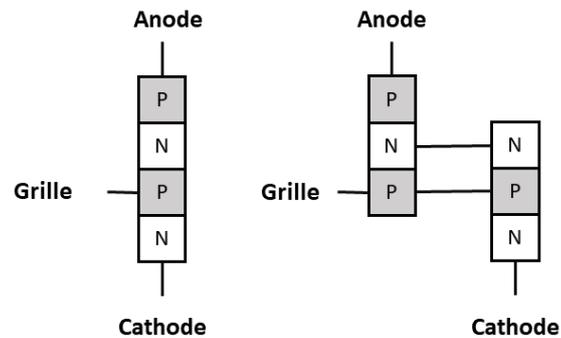


Figure 30 : a) Structure d'un thyristor a quatre jonctions P, N, P, et N alternativement. Les deux jonctions extrêmes sont liées à l'anode et à la cathode respectivement. La zone P intermédiaire est reliée à la grille. b) Équivalence d'un thyristor avec deux transistors bipolaires.

Ce type de commutateur peut supporter une tension de l'ordre de quelques kV, mais ne peut être utilisé que dans la génération d'impulsions relativement longues (ms et μ s) à cause de son temps de commutation de l'ordre de 25 à 50 μ s. De plus, les taux de répétition du processus de commutation des thyristors restent faibles comparés au MOSFET [236]. A titre d'exemple, dans [237] des commutateurs thyristors ont été utilisés pour générer des impulsions de forme carrée de 30 kV d'amplitude, de temps de montée égal à 1.5 μ s, de durée totale de 10 μ s et de taux de répétition de 1 kHz.

II.3.3.2. Diodes

Une diode à temps de récupération ou *step recovery diode* (SRD) a un profil de dopage spécial de sorte que les porteurs injectés sont proches de la jonction PN [238], [239]. Cela entraîne un blocage rapide en cas de polarisation inverse. Sous une polarisation directe, les porteurs minoritaires sont stockés dans la couche de déplétion PN. Sous une polarisation inverse, les porteurs minoritaires sont entièrement drainés, ce qui provoque l'interruption rapide du courant inverse et forme une transition rapide. La SRD fonctionne lorsqu'elle est commutée de la polarisation directe vers la polarisation inverse.

Les SRD peuvent être utilisées dans la génération d'impulsions aussi courtes que 125 ps, mais à faible tension (26 V) et également pour des applications liées aux radars [240].

II.3.3.3. Commutateurs optoélectroniques à semi-conducteurs

Les commutateurs optoélectroniques sont généralement des photodiodes semi-conductrices ou *photo-conductive semiconductor switches*, PCSS en anglais [176]–[178],

[241]. Les PCSS passent à l'état conducteur après illumination par faisceau optique. L'énergie optique nécessaire pour illuminer un PCSS dépend de sa tenue en tension. Par exemple, pour un PCSS ayant une tenue en tension de 4 kV, l'énergie optique nécessaire est de l'ordre de quelques dizaines de μJ (typiquement autour de 40 à 50 μJ) [224]. En revanche, pour un PCSS de 20 kV, quelques mJ d'énergie optique sont nécessaires pour atteindre l'efficacité maximale de commutation [178]. Il faut noter que même pour une efficacité maximale de commutation, les PCSS ne deviennent pas des conducteurs parfaits, et une valeur résiduelle mais non nulle ($< 5 \text{ Ohms}$) de résistance restera présente dans les PCSS [178], [224].

Un PCSS peut être utilisé sous deux modes de fonctionnement : linéaire ou avalanche. En mode linéaire, un photon excite un électron tandis qu'en mode avalanche un photon peut conduire à l'émission de plusieurs électrons par un effet de cascade qui peut engendrer la destruction progressive du semi-conducteur. L'utilisation du PCSS en mode linéaire exige plus d'énergie optique mais assure une plus longue durée de vie du PCSS et une gigue temporelle moins importante (de quelques ps) [174], [242] comparé au mode avalanche [243], [244]. L'efficacité de commutation d'un PCSS dépend également de la tension de polarisation appliquée. En effet, la bande d'absorption d'un semi-conducteur peut se décaler vers des longueurs d'onde supérieures lorsque ce dernier est soumis à un champ électrique externe [245]. Cet effet, découvert par les deux physiciens Franz et Keldysh [246], se traduit par une variation du coefficient d'absorption d'un semi-conducteur sous l'effet d'un champ électrique extérieur. Cela se manifeste dans un PCSS par une diminution progressive de son efficacité de commutation lorsque la tension de polarisation à laquelle il est soumis augmente. Pour compenser cet effet, il faut alors augmenter l'énergie optique sachant que lorsque la tension de polarisation augmente l'effet Franz – Keldysh devient de plus en plus important.

Le temps de commutation d'un PCSS peut atteindre quelques dizaines de femtosecondes et son taux de répétition, qui est également lié à la fréquence du faisceau laser, peut atteindre les MHz. L'utilisation des commutateurs optoélectroniques est considéré comme un bon compromis entre une tenue en tension élevée et une courte durée de commutation.

A titre d'exemple dans [141], un générateur à deux commutateurs optoélectroniques a été conçu à l'aide de structures coaxiales et a permis la génération d'impulsions de 10 ns de durée, d'amplitude allant jusqu' à 10 kV et de taux de répétition de 20 Hz lié à la cadence de la source laser. Dans [247], des impulsions de durée 9 ns, amplitude 20 kV ont été générées à partir d'une structure Blumlein commutée par un PCSS.

II.4. Conclusion sur la génération impulsionnelle de tension

Dans cette partie, nous avons introduit les principes généraux de la génération d'impulsions de haute tension et courte durée. Nous avons donc expliqué le principe de fonctionnement des générateurs à onde gelée, qui consiste à emmagasiner l'énergie dans un élément du circuit et de la libérer rapidement afin d'obtenir des impulsions de courte durée et de haute énergie.

Nous avons présenté un focus sur l'état de l'art sur deux composants principaux d'un générateur à savoir l'élément de stockage et l'élément commutateur.

Il en ressort que dans nos applications, l'utilisation d'une ligne de transmission pour le stockage de l'énergie est un choix pertinent, offrant plus de flexibilité sur la tension délivrée et

la durée des impulsions engendrées. Il s'agit également d'un choix économique qui est relativement simple à instaurer dans le circuit du générateur.

En ce qui concerne l'élément de commutation, les commutateurs optoélectroniques représentent ainsi un bon compromis entre leur teneur en tension suffisamment élevée, leur durée de vie très longue si utilisé en mode linéaire et une faible gigue temporelle, permettant à terme de coupler le générateur avec des processus d'imagerie ultrarapide.

Après avoir justifié les choix technologiques effectués, nous présentons dans la section suivante la mise en place des générateurs d'impulsions de 1 ns, 500 ps et de ~ 100 ps utilisant des lignes de transmission et des PCSSs comme éléments principaux.

II.5. Mise en place d'un générateur optoélectronique

La Figure 31 illustre le principe des générateurs optoélectroniques que nous avons développés. Ils sont constitués d'une ligne de transmission et intègrent deux commutateurs optoélectroniques, de type photodiode de haute tension (PCSS) (voir section II.3.3.3). Les commutateurs sont connectés à une terminaison permettant la mise en forme des impulsions et à une charge de sortie. La ligne de transmission, typiquement d'impédance caractéristique égale à 50 Ohms, constitue l'élément de stockage de l'énergie. Il est important que l'impédance de la ligne de transmission soit adaptée à l'impédance de la charge de sortie pour éviter ou restreindre les réflexions électromagnétiques avec le générateur. Une source de haute tension est connectée à l'élément de stockage de l'énergie entre les deux commutateurs. Cette source peut délivrer soit la tension $V_0/2$, soit la tension de polarisation noté V_0 . Pour des raisons de simplicité, nous appellerons PCSS1 et PCSS2 les commutateurs reliés à la charge de sortie et à la terminaison de mise en forme des impulsions, respectivement.

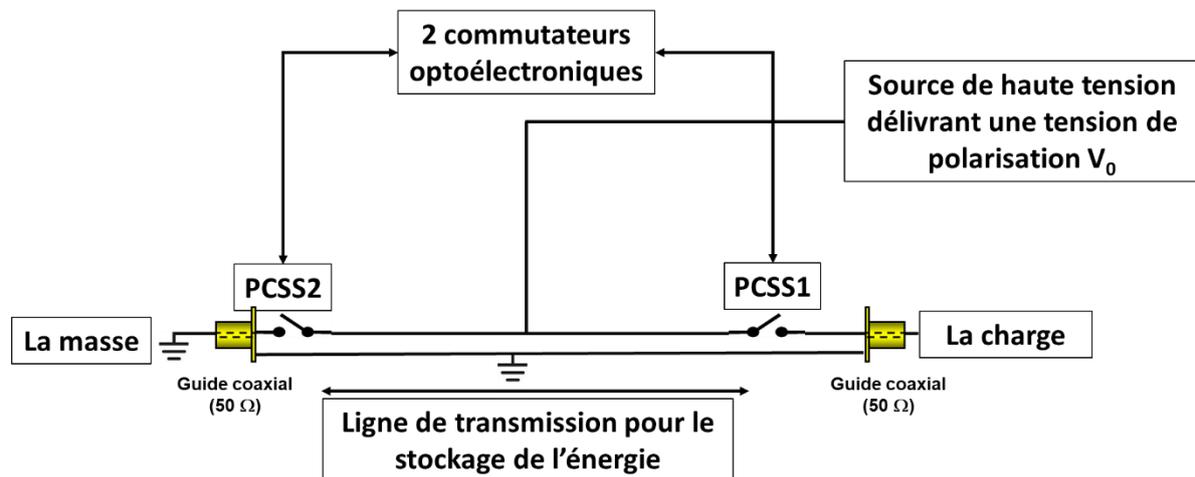


Figure 31 : Schéma d'un générateur à onde gelée composé de 2 commutateurs optoélectroniques (PCSS1 et PCSS2) et d'une ligne de transmission utilisée pour le stockage de l'énergie, alimenté par une source de haute tension. La ligne de transmission est délimitée par les deux PCSS connectés à une terminaison de mise en forme de l'impulsion (PCSS2) et à une charge de sortie (PCSS1).

On peut distinguer deux phases principales de fonctionnement du générateur :

- La phase statique : la ligne de transmission principale est chargée et les deux commutateurs sont ouverts. Lors de la charge de la ligne, une onde stationnaire est alors produite par les deux ondes contra-propagatrices circulantes dans la ligne et bloquées par les deux commutateurs ouverts.
- La phase dynamique : les deux commutateurs sont désormais fermés. Lors de la commutation, une onde se propage dans les directions des commutateurs PCSS1 et PCSS2. Selon la terminaison de mise en forme placée après le commutateur PCSS2, ainsi que l'ordre et le délai de commutation des deux PCSSs, des impulsions unipolaires, paires, bipolaires équilibrées ou bipolaires déséquilibrées peuvent être générées comme illustré dans les prochaines sections.

II.5.1. Impulsions unipolaires

La Figure 32 illustre le principe de mise en forme des impulsions.

PCSS1 fermé et PCSS2 ouvert

Prenons le cas où le commutateur PCSS2 est ouvert (PCSS à l'état isolant) et le commutateur PCSS1 est fermé (PCSS à l'état passant ou conducteur). L'onde progressive se propage vers la charge de sortie et l'onde régressive vers le commutateur PCSS2. De point de vue électrique, le commutateur PCSS2 est équivalent à un circuit ouvert. L'onde régressive sera alors réfléchiée avec un coefficient de réflexion $\Gamma=+1$, donc avec une amplitude positive. A la sortie, une impulsion unipolaire de durée égale à deux fois le temps de propagation de l'onde dans la ligne de transmission et d'amplitude égale à la moitié de la tension de polarisation ($V_0/2$) est produite. L'impulsion unipolaire finale générée (Figure 32 a) est formée de la concaténation de deux impulsions de polarité positive correspondant aux ondes progressive et régressive (voir II.2.3).

PCSS1 fermé et PCSS2 fermé et connecté sur une charge de mise en forme 50 ohms

Dans le cas où les deux commutateurs PCSS2 et PCSS1 sont fermés et déclenchés simultanément, les deux ondes régressive et progressive vont se propager vers la charge de mise en forme de PCSS2 et la charge de sortie de PCSS1.

Prenons maintenant le cas où le commutateur PCSS2 est fermé et relié à une charge de mise en forme d'impédance égale à 50 Ohms (le PCSS1 est toujours fermé). Comme dans le cas précédent, les deux ondes progressive et régressive vont se diriger vers la charge de la sortie et la charge connectée au commutateur PCSS2, respectivement. Dans ce cas, l'onde régressive sera absorbée par la charge de mise en forme. L'impulsion unipolaire finale générée est formée d'une seule impulsion de polarité positive correspondant à l'onde progressive et la durée de cette impulsion correspond à la moitié de la durée de l'impulsion produite dans le cas précédent.

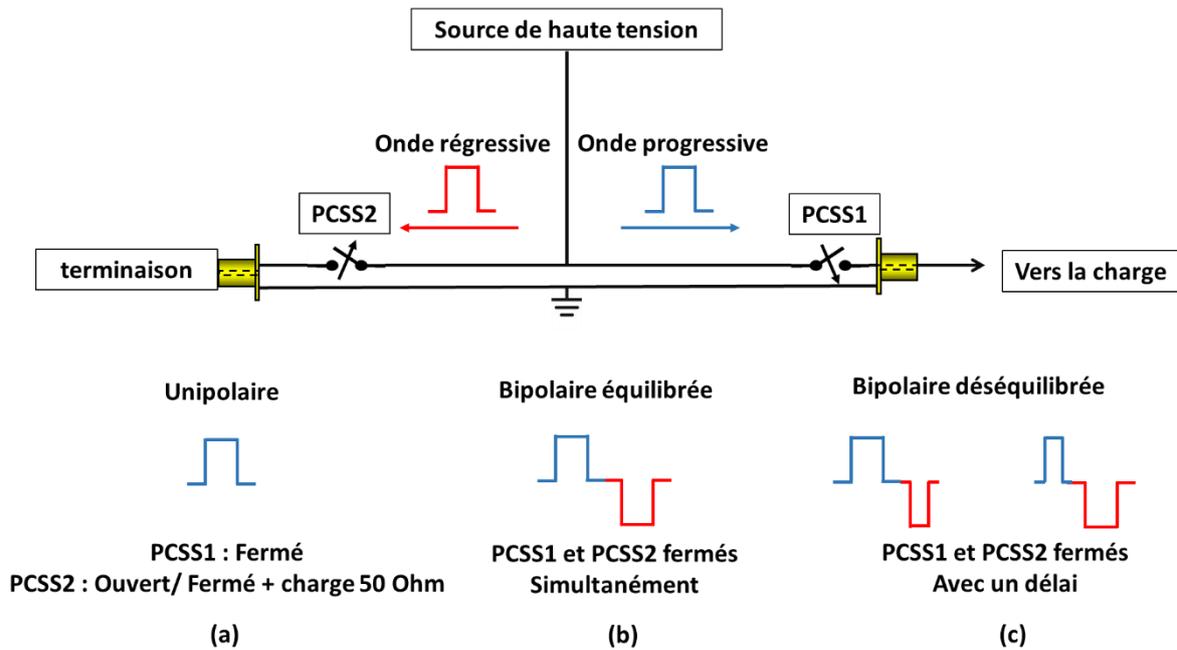


Figure 32 : Générations d'impulsions a) unipolaire, b) bipolaire et c) bipolaire déséquilibrée en contrôlant la fermeture des deux PCSS.

II.5.2. Impulsions bipolaires

Considérons le cas où les deux commutateurs PCSS2 et PCSS1 sont fermés et le PCSS2 est connecté à un court-circuit. L'onde régressive sera alors réfléchiée avec $\Gamma = -1$, une polarité négative est donc générée. L'impulsion bipolaire finale générée est formée de la concaténation de deux impulsions de polarités positive et négative correspondant aux ondes progressive et régressive. L'impulsion finale obtenue est de forme bipolaire de durée totale correspondant aux durées des ondes progressive et régressive soit deux fois le temps de propagation d'une onde dans une ligne de transmission de longueur L (équation (2)). Son amplitude crête-à-crête est au maximum égale à la tension de polarisation V_0 .

II.5.3. Impulsions bipolaires déséquilibrée

Pour obtenir une impulsion bipolaire déséquilibrée, il suffit d'introduire un délai lors du déclenchement de deux commutateurs comme illustré sur la Figure 32 c).

Un exemple de ce type d'impulsion est illustré sur la Figure 33. Cette figure est extraite de [176], où un générateur à onde gelée contenant deux PCSSs est mis en place (Figure 33 a)), pour la mise en forme des impulsions bipolaires déséquilibrées (Pulse shaping).

Pour obtenir les résultats illustrés sur les graphes de la Figure 33 b) les auteurs ont illuminé les deux PCSSs du générateur avec une énergie optique de $500 \mu\text{s}$ et avec des délais de 0 ps , 250 ps et 320 ps respectivement.

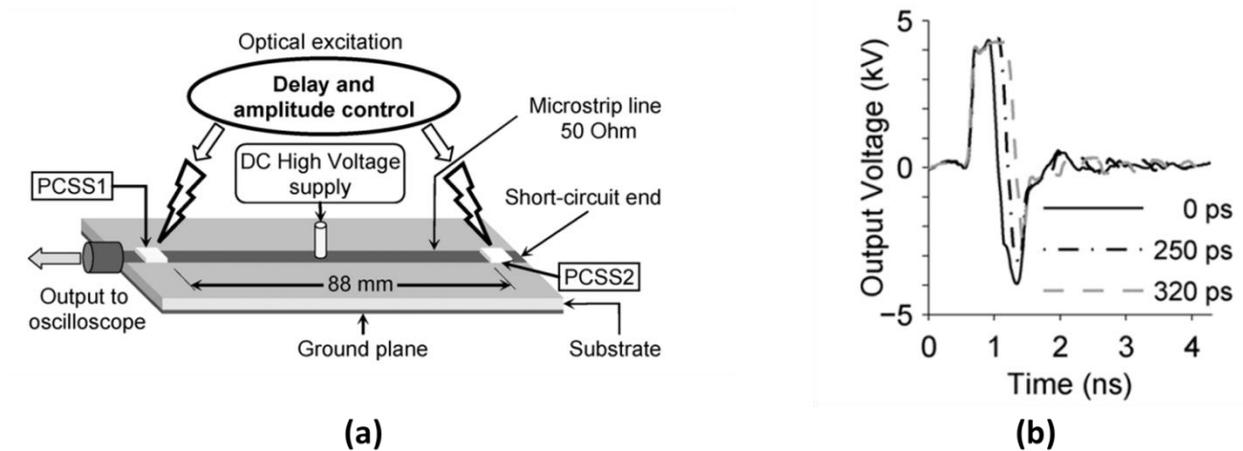


Figure 33 : a) Aperçu du générateur d'impulsions et b) profils des impulsions obtenues par l'activation des deux PCSSs avec des délais de 0 ps, 250 ps et 320 ps respectivement. Extrait de [176].

II.5.4. Impulsions paires décalées

Nous traitons le cas où la terminaison et le PCSS2 sont séparés par une ligne de transmission. La deuxième polarité sera donc retardée et l'impulsion finale sera produite avec deux polarités séparées par un délai temporel de valeur proportionnelle à la longueur de la ligne placée entre la terminaison et le commutateur (PCSS2).

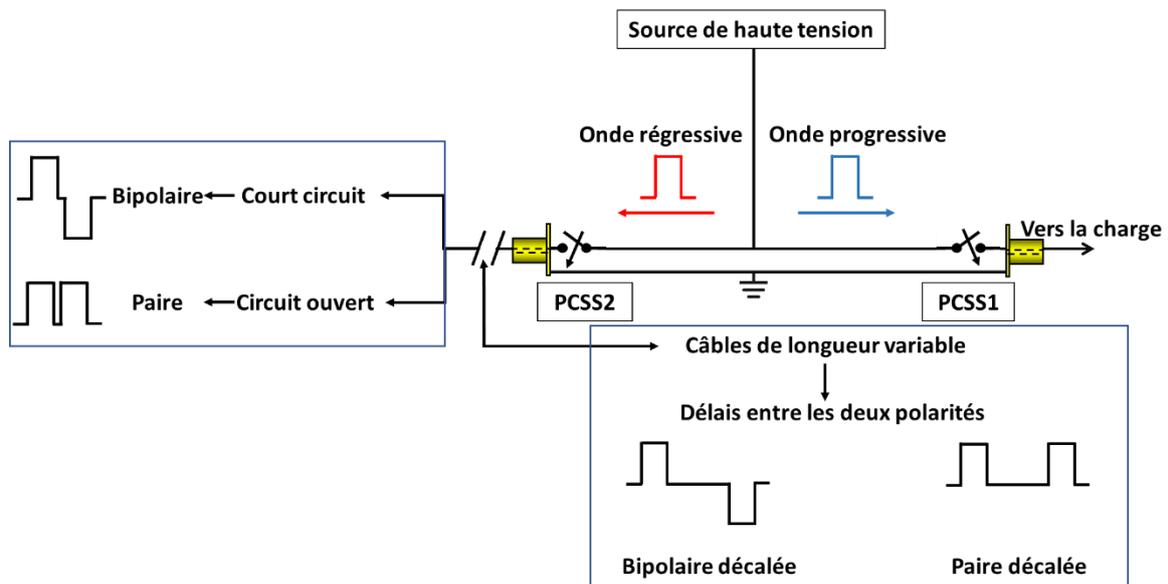


Figure 34 : Illustration des formes d'impulsions générées selon la terminaison connecté au PCSS2 : bipolaire et paire, pour un court-circuit et un circuit ouvert, respectivement. Le délai entre les deux polarités est engendré par l'introduction d'un câble entre le PCSS2 et la terminaison du circuit.

Le générateur PEF de haute tension de 1 ns développé dans le cadre de mes travaux de thèse et qui est basé sur le principe à onde gelée sera présenté dans la partie suivante.

II.6. Générateur d'impulsions de durée de l'ordre de la ns

II.6.1. Mise en place du générateur

Présentation de l'expérimentation

Historiquement, des générateurs ont été développés sur la base de deux boîtiers de commutation intégrant un PCSS chacun relié par un câble coaxial. Le choix de la longueur de ce dernier jouant directement sur la durée des impulsions générées. Pour obtenir des impulsions de quelques nanosecondes et sub-nanosecondes, cette architecture présente deux limites à savoir l'utilisation de connecteurs haute tension limités en bande passante et les dimensions des différents composants. C'est la raison pour laquelle une architecture monobloc a été privilégiée pour générer des impulsions ultracourtes.

La structure du générateur est présentée sur la Figure 35. Les deux PCSSs et la ligne de transmission principale sont placés dans une seule structure métallique coaxiale à 3 ports. Le boîtier métallique contenant les PCSSs est relié par le port 1 à un oscilloscope (DSO, TDS6124C, Tektronix, USA) à travers une chaîne d'atténuation de 82 dB (Barth Electronics Technology, USA). L'oscilloscope correspond à la charge de sortie lors de l'étape de caractérisation temporelle des impulsions générées. Le port 2 est connecté à l'une des trois terminaisons possibles du circuit : court-circuit, circuit ouvert ou charge 50 Ohms permettant de générer les différentes formes d'impulsions bipolaire, paire et unipolaire. Pour éviter les décharges électriques, le boîtier est rempli d'huile végétale de colza. Cette étape permet également d'assurer une meilleure stabilité électrique du boîtier, comme nous le montrerons dans la partie II.6.2. Le port 3 est connecté à travers une résistance de 1 MOhm à une source de haute tension DC (SR20kV-300W, Technix, France) qui permet la charge de la ligne de transmission principale avec une tension de polarisation réglable.

Déclenchement par laser

Les PCSSs sont déclenchés simultanément par deux faisceaux optiques générés par un laser Nd :Yag haute énergie (PL2241A, Ekspla, Lituanie). Le laser utilisé (Figure 35) émet dans le domaine des infrarouges avec une longueur d'onde de 1064 nm, une fréquence de répétition de 20 Hz et une durée totale d'impulsion optique égale à 35 ps. L'énergie optique sera divisée en deux par un diviseur de faisceaux (*beam splitter en anglais*) placé à la sortie du laser. Les deux nouveaux faisceaux traversent deux chemins optiques de longueurs identiques et arrivent aux PCSSs en même temps après focalisation par deux lentilles convergentes. Pour éviter la destruction progressive dans le temps des PCSSs, ces derniers sont utilisés dans leur régime de fonctionnement linéaire, cela permet également d'éliminer la gigue temporelle lors de la commutation. Une commutation optimale des deux PCSSs nécessite un niveau d'énergie optique délivrée par le laser important (> à 12 mJ, soit 6 mJ par PCSS). Pour contrôler le nombre d'impulsions générées, un obturateur (*shutter en anglais*) (SH05, Thorlabs Inc., USA) est installé entre la sortie du laser et le diviseur du faisceau optique. Cela permet de bloquer le faisceau laser après un intervalle de temps bien déterminé et donc d'imposer le nombre d'impulsions envoyées vers les PCSS.

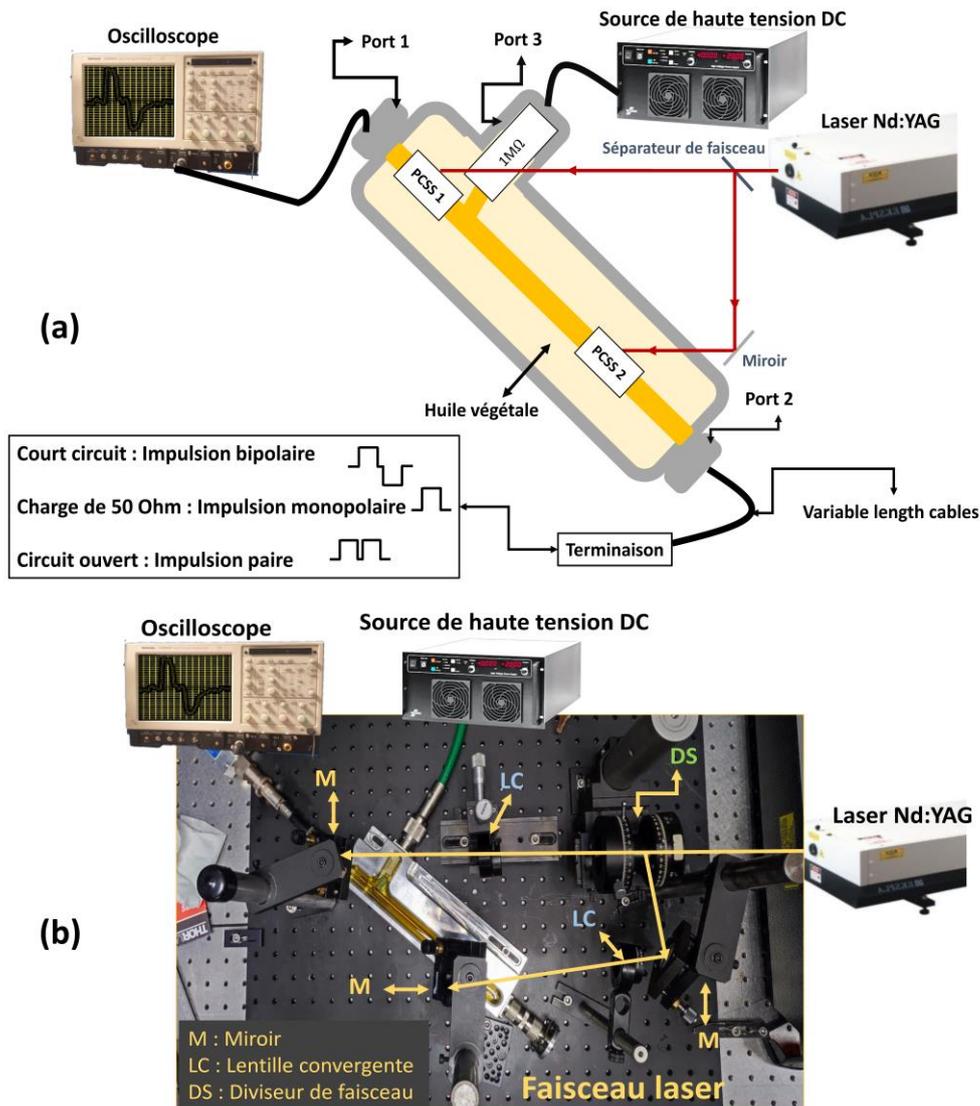


Figure 35 : (a) Schéma illustrant le générateur d'impulsions de 0.9 ns. Nous pouvons y distinguer les éléments principaux : les commutateurs PCSSs, la ligne de transmission reliant les PCSS, la source de haute tension, la terminaison, et l'oscilloscope de visualisation remplaçant la charge. (b) Photo du montage expérimental.

PCSS

Les deux commutateurs optoélectroniques (PCSS) utilisés sont des diodes de redressement haute tension (Figure 36), packagées dans une couche de céramique diffusante, supportant pour le modèle utilisé jusqu'à 20 kV DC (X200FG, VMI, USA). Les PCSS sont intégrés dans un boîtier métallique à 3 ports (Figure 37). Placer les deux commutateurs dans le même boîtier permet de diminuer le nombre de connecteurs réduisant les réflexions et les atténuations et permettant d'obtenir une structure plus compacte et plus simple à manipuler.

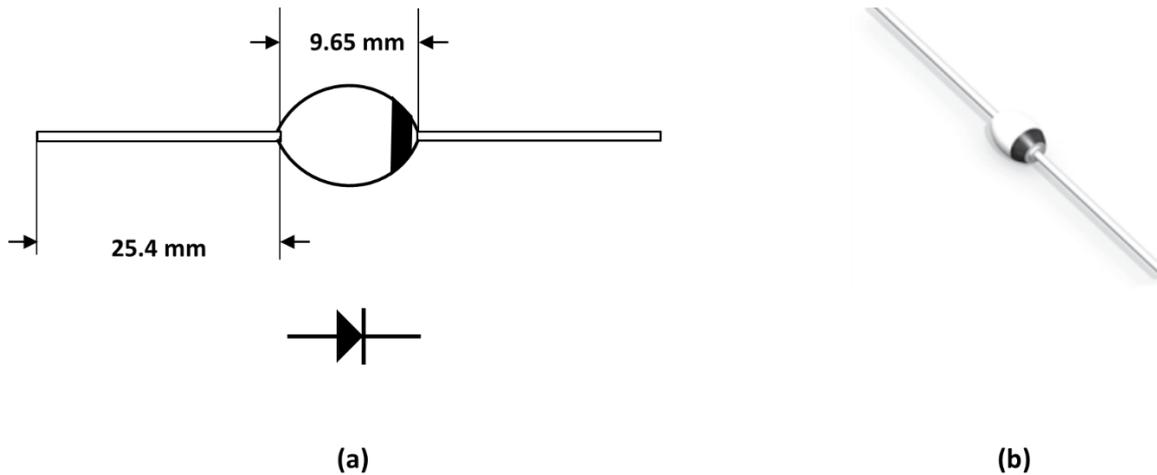


Figure 36 : PCSS (X200FG, VMI, USA). a) Schéma présentant la structure, b) Photo [248].

Ligne de transmission

Les PCSSs sont reliés entre eux par une ligne de transmission, formée dans notre cas d'une tige métallique (Figure 37). La longueur de la tige et donc du boîtier définit la durée des impulsions générées, son diamètre est choisi pour obtenir une impédance de 50 Ohms avec le boîtier rempli d'huile. Pour des impulsions de 0.9 ns, une tige métallique reliant les deux commutateurs de 160 mm a été intégrée dans le boîtier de longueur totale égale à 230 mm. A noter que dans le calcul de la longueur de la ligne de transmission entre les deux PCSS, il faut également prendre en compte la moitié de la longueur de chaque PCSS qui est de 9.56 mm (Figure 36). Cette mesure vient du fait que la position exacte du point d'illumination d'un PCSS ne peut pas être connue, on estime donc qu'elle est au milieu de ce dernier.

La durée totale d'une impulsion ΔT est calculée, selon l'équation (2), à :

$$\Delta T = \frac{2L}{\frac{c}{\sqrt{\epsilon_r}}} = \frac{2 \times (160 + 9.65) \times 10^{-3}}{\frac{3 \times 10^8}{\sqrt{2.25}}} = 1.7 \text{ ns} \quad (4)$$

Avec $c (= 3 \times 10^8 \text{ m/s})$ est la célérité de la lumière dans le vide $\epsilon_r = 2.25$, la permittivité relative de la ligne de transmission de longueur L .

La durée d'une polarité ΔT_p vaut :

$$\Delta T_p = \frac{\Delta T}{2} = \frac{1.7}{2} \sim 0.85 \text{ ns} \quad (5)$$

Pour créer un décalage temporel entre les deux polarités d'une même impulsion (bipolaire ou paire), nous introduisons des câbles de longueurs variables entre le port 2 et la terminaison du circuit. L'onde réfléchie sera donc décalée et visualisée sur l'oscilloscope avec un délai correspondant à la longueur du câble inséré. Chaque mètre de câble engendre 10 ns de délai ΔT_{1m} calculé en se référant à l'équation :

$$\Delta T_{1m} = \frac{2L}{v_p} = \frac{2 \times 1}{\frac{3 \times 10^8}{\sqrt{2.25}}} = 1 \times 10^{-8} \text{ s} = 10 \text{ ns} \quad (6)$$

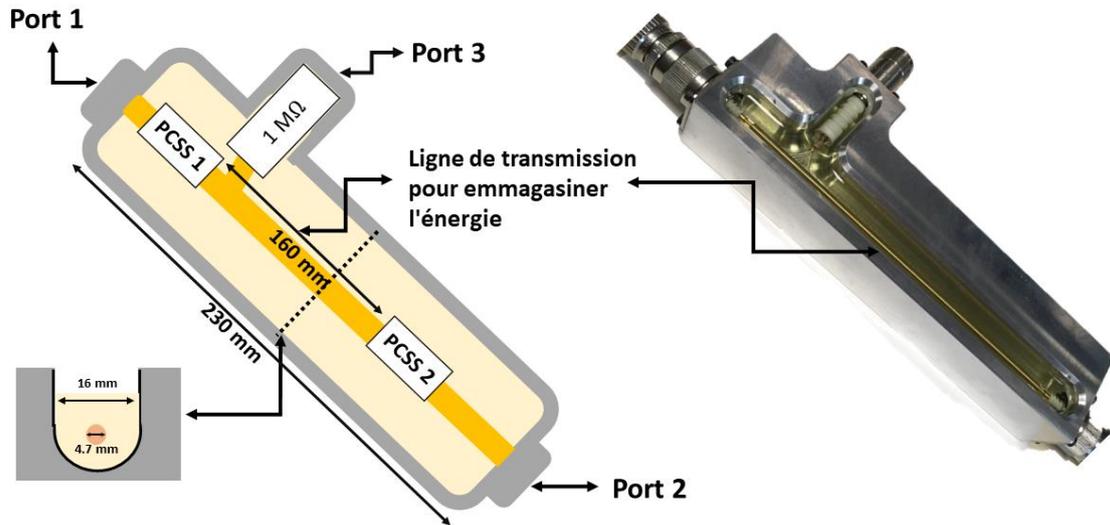


Figure 37 : Boîtier métallique coaxial à 3 ports. a) Schéma, b) Photo du boîtier réalisé.

II.6.2. Caractérisation du générateur

II.6.2.1. Caractérisation fréquentielle du boîtier métallique à 3 ports

Avant de générer les impulsions, il faut s'assurer de la capacité du générateur à les transmettre. En effet, la présence des incompatibilités d'impédance sur la ligne de propagation d'une onde électromagnétique peut engendrer des réflexions au niveau des connecteurs et transitions ainsi qu'une atténuation de la transmission. Une caractérisation fréquentielle du boîtier métallique a donc été réalisée à l'aide de la mesure des paramètres de réflexion et de transmission ou paramètres S (*scattering parameters*) du boîtier entre 10 kHz et 3 GHz.

Le montage de mesure fréquentielle est présenté sur la Figure 38. Les deux ports 1 et 2 du boîtier ont été connectés à un analyseur de réseau vectoriel ou *Vector Network Analyser* (VNA, 8753E, HP, USA) ayant une impédance interne de 50 Ohms. Pour ces mesures, les deux PCSS ont été remplacés par des tiges métalliques. Le port 3 n'est pas connecté dans cette configuration. En amont, une calibration du VNA a été réalisée dans une bande de fréquence située entre 10 kHz et 3 GHz. Nous avons effectué ces mesures pour deux configurations du boîtier : vide et rempli d'huile.

La haute tension est apportée par un connecteur coaxial type THT20 de Radiall, qui supporte des tensions continues de 20 kV. Les connecteurs sur les ports 1 et 2 sont choisis pour supporter les impulsions de tension et courant de forte intensité, mais également pour présenter des bandes passantes élevées (DC-3 GHz). Il s'agit de connecteur de type HN (R176404000, Flange receptacle).

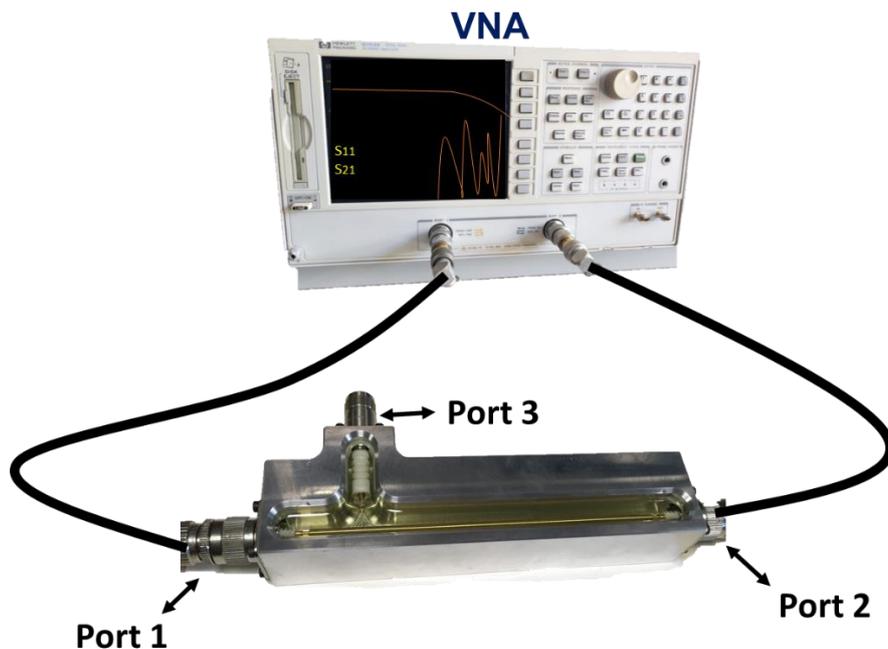


Figure 38 : Montage de mesure des paramètres S du boîtier métallique coaxial à 3 ports avec un Vector Network Analyser (VNA).

Les paramètres S mesurés sont illustrés sur les Figure 39 et Figure 40 pour le boîtier vide et avec huile, respectivement. Comme nous pouvons le constater, les coefficients S_{11} et S_{22} et les coefficients S_{21} et S_{12} sont quasi identiques. Ces similarités sont dues au fait que le boîtier est symétrique et réciproque d'un point de vue électromagnétique entre les ports 1 et 2.

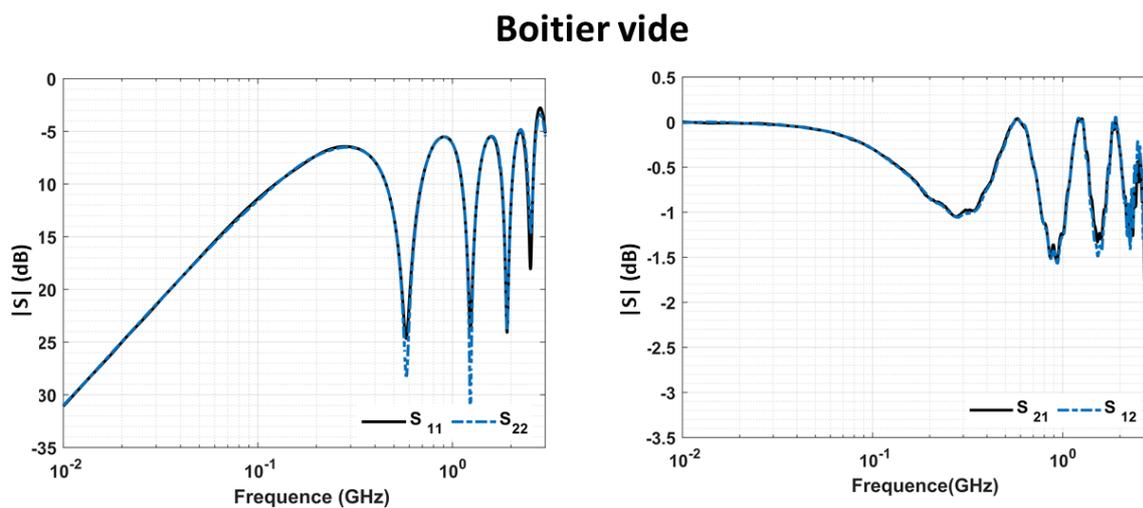


Figure 39 : Comparaison des éléments diagonaux a) S_{11} avec S_{22} et b) S_{21} avec S_{12} du boîtier métallique vide pour les fréquences entre 10 kHz et 3 GHz.

Boitier rempli d'huile

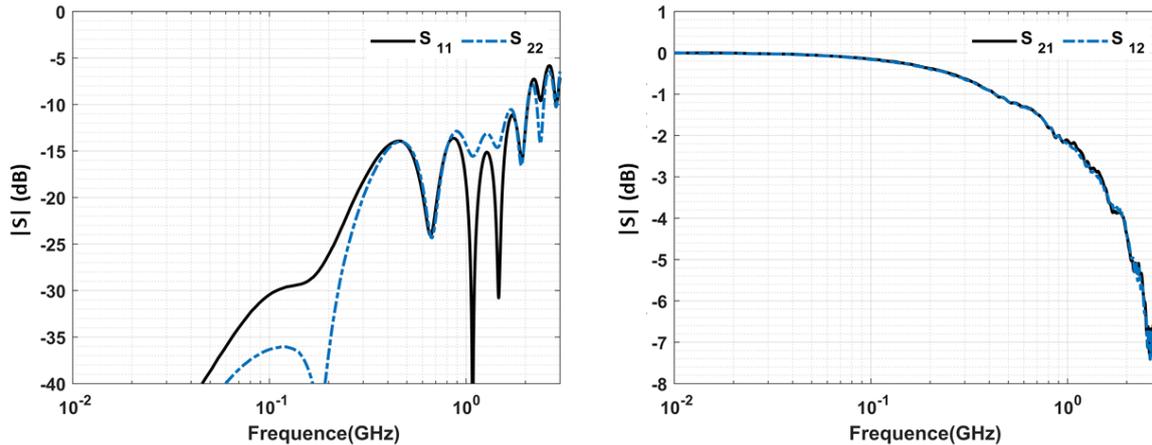


Figure 40 : Comparaison des éléments diagonaux a) S_{11} avec S_{22} et b) S_{21} avec S_{12} du boîtier métallique rempli d'huile pour les fréquences entre 10 kHz et 3 GHz.

Une comparaison entre les deux cas (boîtier vide et boîtier rempli d'huile) est illustrée sur la Figure 41. Si le boîtier est vide, nous remarquons que le coefficient de réflexion S_{11} (ou S_{22}) augmente avec la fréquence et atteint -10 dB à 110 MHz. Cette valeur délimite la bande passante en réflexion du boîtier, i.e., 10% de la puissance incidente est réfléchi par le port 1 du boîtier. Le coefficient de transmission S_{21} (ou S_{12}) reste supérieur à -1 dB pour les fréquences inférieures à 250 MHz. Le seuil de -1 dB délimite la bande passante en transmission et correspond à 90 % de la puissance transmise du port 1 au port 2.

A noter que le boîtier sera toujours capable de transmettre des impulsions de plus hautes fréquences mais avec moins de fiabilité (si la transmission est moins bonne comparée à 90% de puissance transmise, l'amplitude des impulsions à contenu spectral HF sera plus atténuée). Si le boîtier est rempli d'huile, nous pouvons voir que S_{11} atteint le seuil de -10 dB à 2 GHz, beaucoup plus haut en fréquence que le boîtier vide. Cette bande passante est compatible avec la génération d'impulsions de durées de l'ordre de 500 ps à 1 ns correspondant à un spectre de l'ordre de 2 à 1 GHz. Concernant la transmission, S_{21} atteint -1 dB à une fréquence de 500 MHz et -2 dB à 1 GHz. De plus, on observe moins d'oscillations à hautes fréquences lorsque le boîtier est rempli d'huile par rapport au cas vide.

Pour résumer, la configuration où le boîtier est rempli d'huile présente des caractéristiques fréquentielles compatibles avec la génération d'impulsions de l'ordre de la nanoseconde.

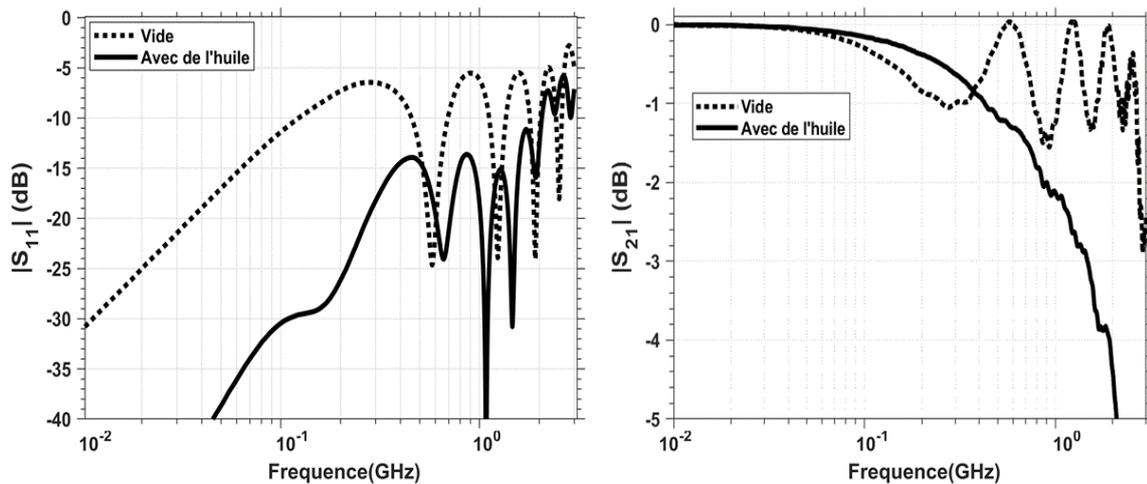


Figure 41 : Comparaison des paramètres a) S_{11} et b) S_{21} du boîtier métallique vide (pointillé) et rempli d'huile (trait continu) pour les fréquences entre 10 kHz et 3 GHz.

II.6.2.2. Caractérisation temporelle du générateur

Nous avons ensuite testé la capacité du générateur conçu à générer des impulsions d'amplitudes et formes modulables. L'amplitude des impulsions est dictée par la tension de polarisation que nous avons fait varier entre 2 kV et 10 kV. Nous avons également introduit des délais variables entre les deux polarités d'une même impulsion. Dans cette partie, nous présentons les impulsions générées.

Modulation de la forme des impulsions générées

La forme de l'impulsion est définie par la terminaison du circuit comme expliqué précédemment dans la section II.5.4. Pour rappel, si la terminaison est un court-circuit, l'impulsion produite est de forme bipolaire, si la terminaison est un circuit ouvert, l'impulsion générée est de forme unipolaire paire, et si la terminaison est une charge de 50 Ohms, l'impulsion obtenue est de type unipolaire.

La Figure 42 montre les 3 formes d'impulsions générées pour une tension de polarisation de 4 kV. Sur cette figure nous présentons plusieurs impulsions complètes, et on peut observer la première polarité de l'impulsion dont la durée est caractérisée par la largeur totale à mi-hauteur ou en anglais « Full width at half maximum » (FWHM). Cette durée de 0.9 ns est la même pour les trois formes d'impulsion. A partir de ces mesures, nous avons également estimé le temps de montée « Rise time » des impulsions. Ce temps représente la durée pour que l'impulsion passe de 10% à 90% de son amplitude maximale. Le temps de montée est égal à 125 ps et on observe qu'il est indépendant de la forme de l'impulsion. Il est directement relié à la commutation de la diode et des caractéristiques de l'impulsion laser, à savoir sa durée et son intensité. Avec des temps de commutations aussi courts, les mesures sont également tributaires des bandes passantes de la chaîne d'acquisition et des éléments constituant le boîtier, en particulier les connecteurs.

Nous pouvons constater qu'un court décalage est présent entre les deux polarités des impulsions bipolaire et paire. Ce décalage est dû à la structure du boîtier et à la distance entre le PCSS2 et la terminaison du circuit relié au port 2 (Figure 42.b). Cette distance est égale à 4 cm et engendre par la suite 0.8 ns de décalage (8 cm aller-retour) entre les deux polarités d'une impulsion émise par le générateur. Ces valeurs sont en accord avec la relation :

$$\Delta T = \frac{2L}{v_p} = \frac{2 \times 4 \times 10^{-2}}{\frac{3 \times 10^8}{\sqrt{2.25}}} = 0.8 \text{ ns} \quad (7)$$

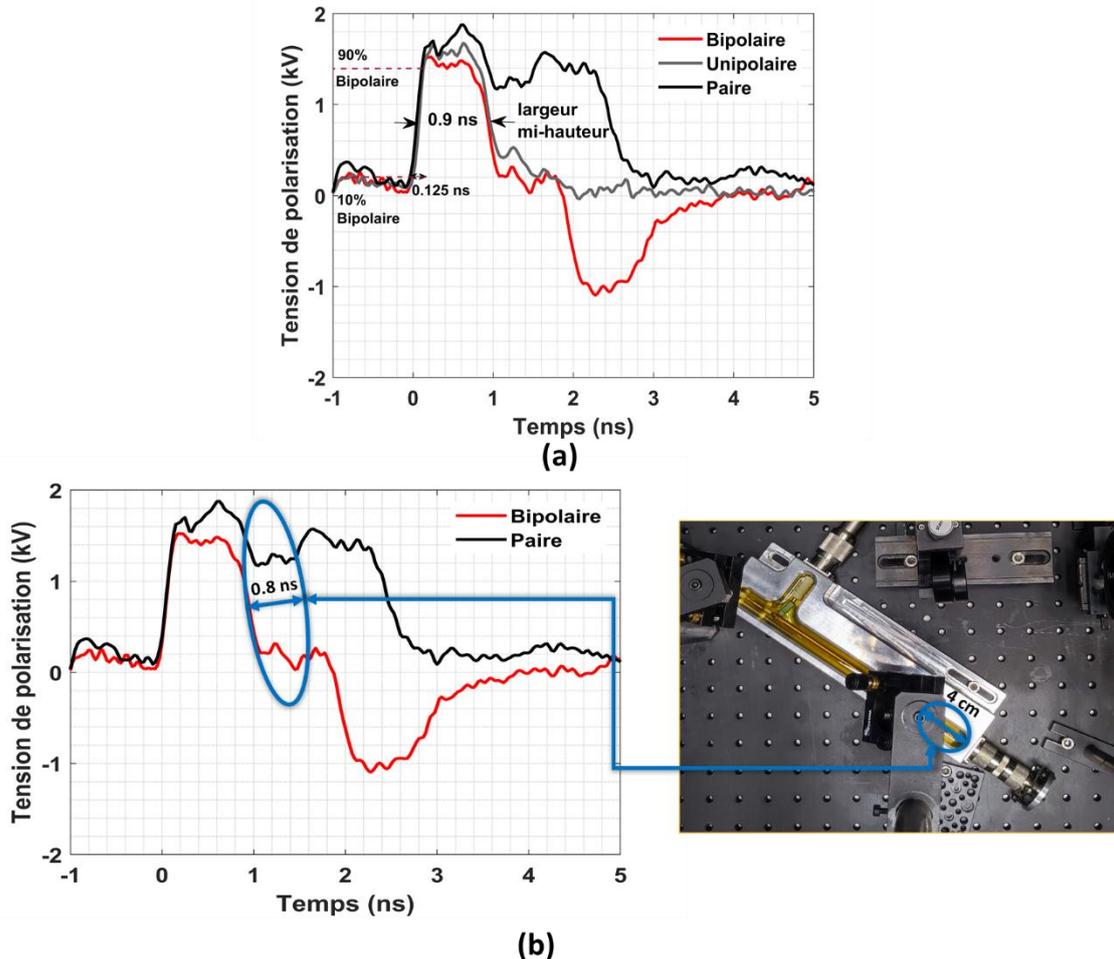


Figure 42 : (a) Formes des impulsions générées ainsi que leur temps de montée et la durée totale d'une impulsion. (b) Délai temporel entre les deux polarités dû à la distance entre le PCSS2 et la terminaison du circuit relié au port 2.

La durée des polarités et leur temps de montée sont similaires puisque ces deux grandeurs sont imposées par la structure du générateur et le type de commutateur utilisé. Nous pouvons observer un petit écart (± 0.12 kV soit 7.05 %) entre les amplitudes maximales des premières polarités mesurées à 1.47 kV, 1.58 kV, et 1.7 kV pour les impulsions bipolaire, unipolaire et paire, respectivement. Pour comprendre l'origine de cet écart nous avons tracé les deux impulsions, paire et bipolaire, pour la même tension de polarisation (4 kV), en séparant les deux polarités de 5 ns (Figure 43). Sur cette figure, les premières polarités des deux impulsions ont des amplitudes maximales assez similaires, de valeur ~ 1.6 kV. Nous pouvons distinguer sur ces tracés, des petites réflexions en amont de la deuxième polarité et en aval de la première, dues à l'adaptation imparfaite du système et aux pertes dans les connecteurs et les commutateurs, ces réflexions sont illustrées par un cadre rouge. Ces

réflexions peuvent créer une interférence destructive (impulsions bipolaires) ou constructive (impulsion paire). Ces interférences seront à l'origine de l'écart dans les valeurs maximales de l'amplitude des premières polarités des deux impulsions bipolaire et paire par comparaison à l'impulsion unipolaire qui n'est pas composée de polarité due à l'onde réfléchie ce qui induit moins de pertes dues aux connecteurs ou à la résistance résiduelle des PCSS). La partie de l'impulsion avant le pic principal (ici avant 0 ns) est essentiellement due au laser impulsionnel, elle est encadrée par un rectangle bleu clair sur la Figure 43.

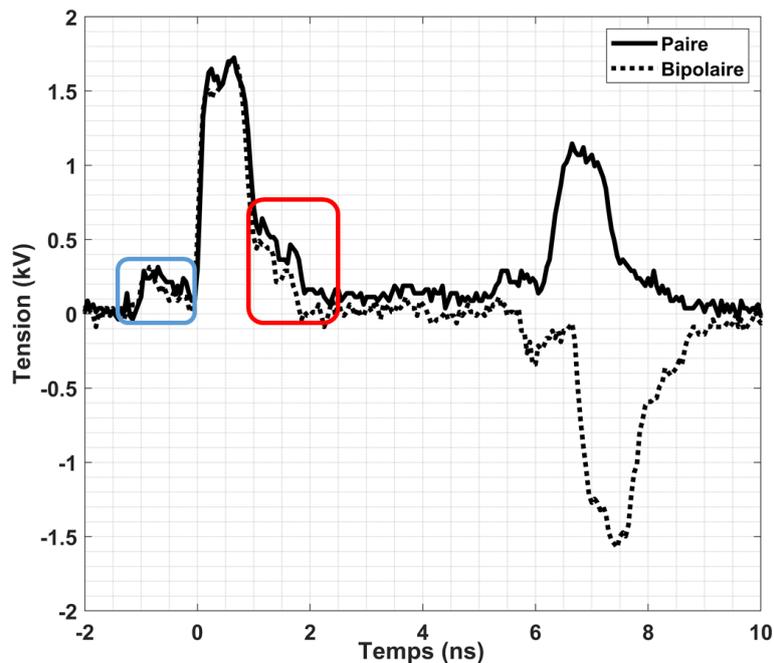


Figure 43 : Impulsions bipolaire et paire pour une tension de polarisation de 4 kV et un délai de 5 ns, mise en évidence des interférences par un rectangle rouge, et la partie de l'impulsion due au laser impulsionnel par un rectangle bleu.

Effet de la tension de polarisation

L'amplitude des impulsions générées est directement liée à la tension de polarisation délivrée par la source de haute tension DC. La Figure 44, la Figure 45 et la Figure 46 présentent les impulsions unipolaires, paires et bipolaires générées pour des tensions de polarisation variables jusqu'à 10 kV.

Sur les trois types d'impulsions nous remarquons que la durée totale d'une impulsion garde sa valeur quelle que soit la tension de polarisation ou l'amplitude de l'impulsion générée. Le temps de montée n'est pas affecté par la tension de polarisation et garde une valeur de $150 \text{ ps} \pm 25 \text{ ps}$.

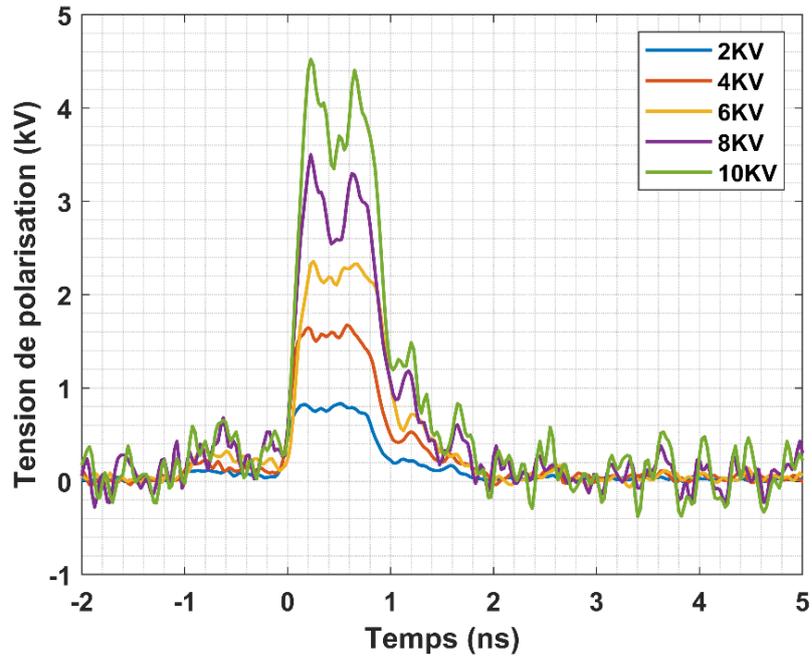


Figure 44 : Impulsions unipolaires générées avec des tensions de polarisation variables entre 2 et 10 kV.

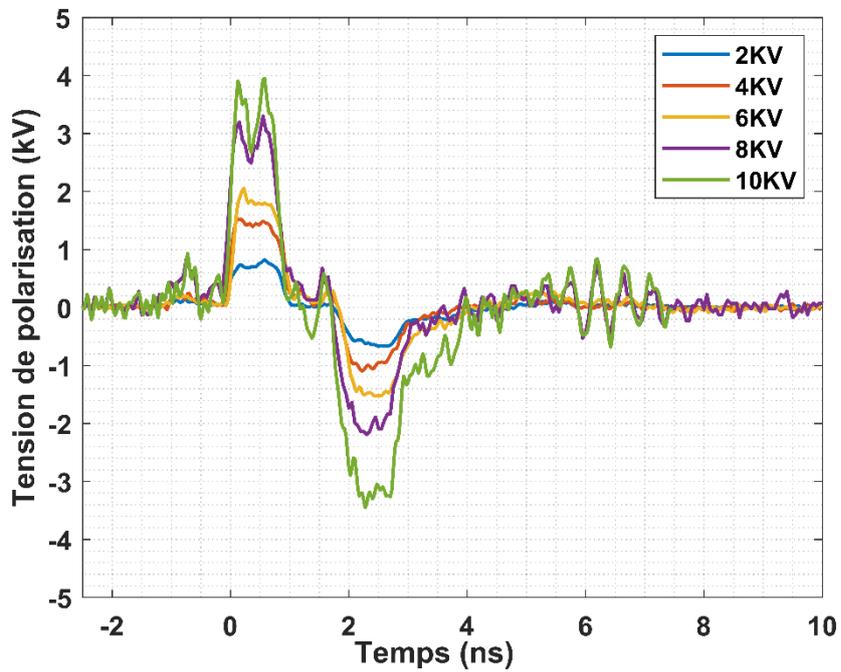


Figure 45 : Impulsions bipolaires générées avec des tensions de polarisation variables entre 2 et 10 kV.

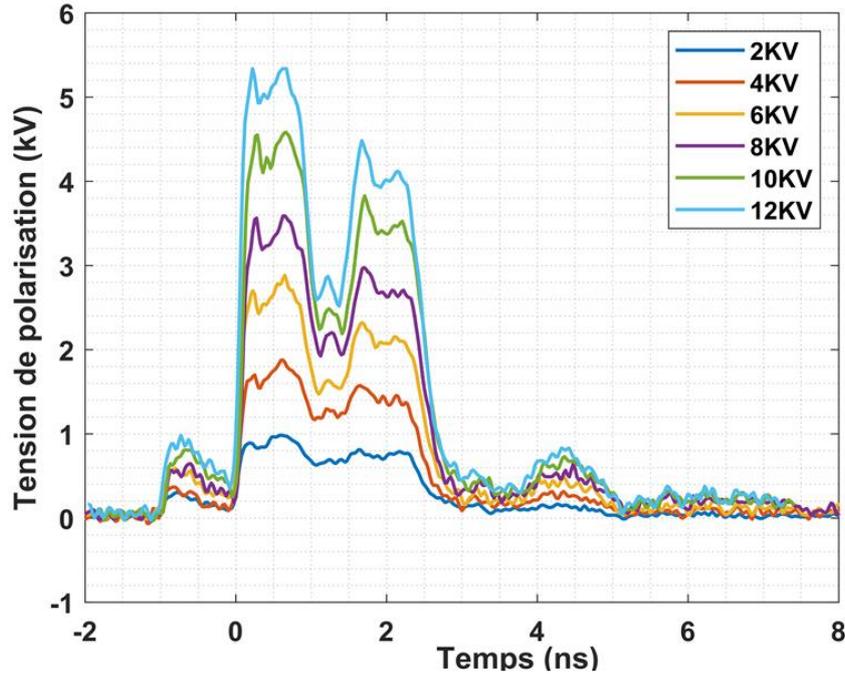


Figure 46 : Impulsions paires générées avec des tensions de polarisation variables entre 2 et 12 kV.

Notons que les amplitudes maximales des impulsions générées sont plus faibles que les valeurs théoriques attendues pour ce type de générateur à ondes gelées avec :

- La tension de polarisation V_0 pour l'amplitude crête-à-crête pour des impulsions bipolaires
- $V_0/2$ pour les impulsions unipolaires et paires.

Nous pouvons également constater une différence entre les amplitudes des deux polarités d'une même impulsion. Ces différences sont dues aux différentes pertes liées à la résistance résiduelle lors du passage de la seconde polarité dans les deux PCSSs et les connecteurs comme indiqués précédemment.

Pour caractériser plus précisément ces différences, nous avons tracé la variation de l'amplitude maximale crête-à-crête des impulsions bipolaires en fonction de la tension de polarisation (Figure 47). Une régression linéaire est calculée et également tracés sur la même figure pour comparaison. Le coefficient de détermination (ou la variance) R^2 de la régression par rapport aux valeurs mesurées est calculé par la relation :

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2} \quad (8)$$

où N est le nombre total des données mesurées, y_i et \hat{y}_i les valeurs des tensions crête-à-crête mesurées et prédites par la régression pour une tension de polarisation donnée et \bar{y} la valeur moyenne des tensions crête-à-crête calculée par la relation :

$$\bar{y} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N y_i \quad (9)$$

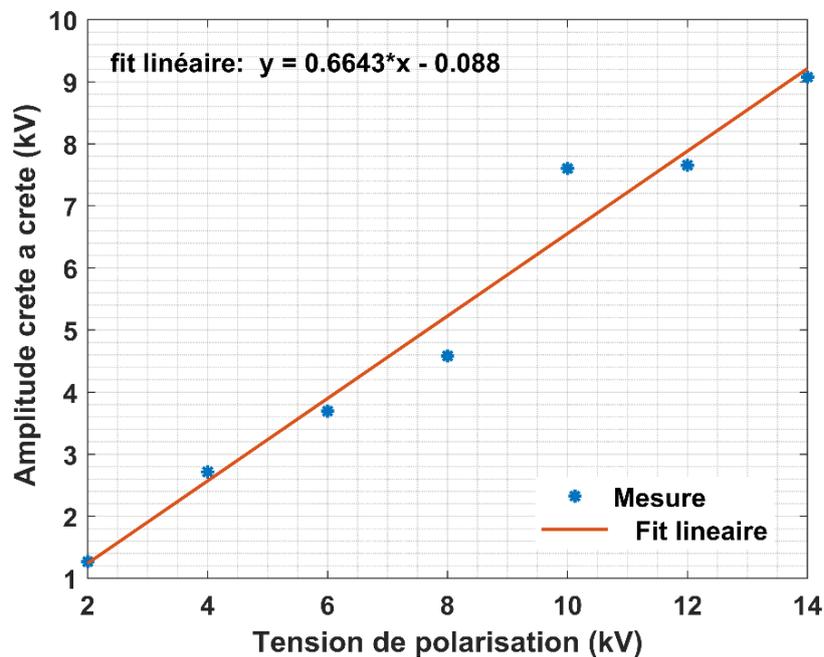


Figure 47 : Variation de l'amplitude crête à crête des impulsions bipolaires mesurées en fonction de la tension de polarisation. Les valeurs mesurées sont présentées en point bleu, et une régression linéaire reliant les points est tracée en trait plain rouge.

La valeur obtenue de R^2 vaut 0.996, une valeur très proche de 1, ce qui montre la fiabilité de la régression linéaire. La pente de la droite désignée par la régression vaut 0.664, i.e., le coefficient reliant l'amplitude de l'impulsion générée à la tension de polarisation. Cette modélisation indique que 66% de la tension est donc transmise et 34 %, soit un tiers, de la tension de polarisation est donc perdue dans le circuit (PCSSs, l'adaptation non-parfaite du boîtier et des connecteurs pour des impulsions de haute fréquence). Pour rappel, la caractérisation électromagnétique du boîtier du générateur donnait, comme valeur du paramètre S_{21} , -2 dB pour une fréquence de 1.1 GHz (spectre d'une impulsion de 0.9 ns). Cette valeur correspond à environ 80% de tension transmise et 20 % de tension perdue. A noter que les mesures fréquentielles ne prennent pas en compte les résistances résiduelles des PCSSs ce qui peut expliquer les différences de quelques % avec les mesures temporelles sur les tensions transmises et perdues. Par ailleurs, la linéarité de la courbe montre que le même pourcentage de la tension de polarisation est transmis quel que soit sa valeur. Le taux de transmission est donc indépendant de la tension de polarisation initiale ce qui indique une absence de l'effet Franz – Keldysh. Cet effet est présenté dans la section II.3.3.3, et il provoque une diminution progressive de l'efficacité de commutation d'un PCSS lorsque la tension de polarisation augmente.

II.6.3. Génération d'impulsions avec deuxième polarité décalée

Nous avons ensuite généré des impulsions bipolaires et paires avec une seconde polarité décalée d'un délai variable allant de 5 ns jusqu'à 200 ns. Les valeurs de ces délais, typiquement 5 ns, 50 ns, 100 ns, 150 ns sont très élevées par rapport à la durée d'impulsion qui est de l'ordre de 1 ns.

Différentes longueurs de câbles ont été connectées entre le port numéro 2 et la terminaison du circuit pour produire ces délais selon le principe décrit précédemment et illustré dans la Figure 34. Le Tableau 1 montre les associations de câbles utilisées pour créer chacun des délais cités.

Délai (ns)	Longueur de câbles (m)	Combinaison de câbles (m)
5	0.5	0.5
50	5	5
100	10	4 + 4 + 2
150	15	(4 + 4 + 2) + 3 + 1 + 1
200	20	5 + 4 + 4 + 2 + 3 + 1 + 1

Tableau 1 : Délais (ns) appliqués entre les deux polarités d'une impulsion et les câbles utilisés pour introduire ces délais.

II.6.4. Caractérisation fréquentielle des câbles coaxiaux

Comme expliqué précédemment, il est très important de caractériser le plus précisément possible tous les éléments du circuit du générateur. Ainsi, avant d'introduire les câbles dans le circuit du générateur, il faut s'assurer de leur capacité à transmettre les impulsions générées. Une caractérisation fréquentielle, avec le VNA, des paramètres S propres à chacun des câbles de longueur 0.5 à 5 m ainsi que des combinaisons des cables qui forment les lignes de 10 m, 15 m et 20 m a été effectuée. Les résultats sont tracés sur les Figure 48 et Figure 49 pour la bande de fréquences allant de 0 à 3 GHz.

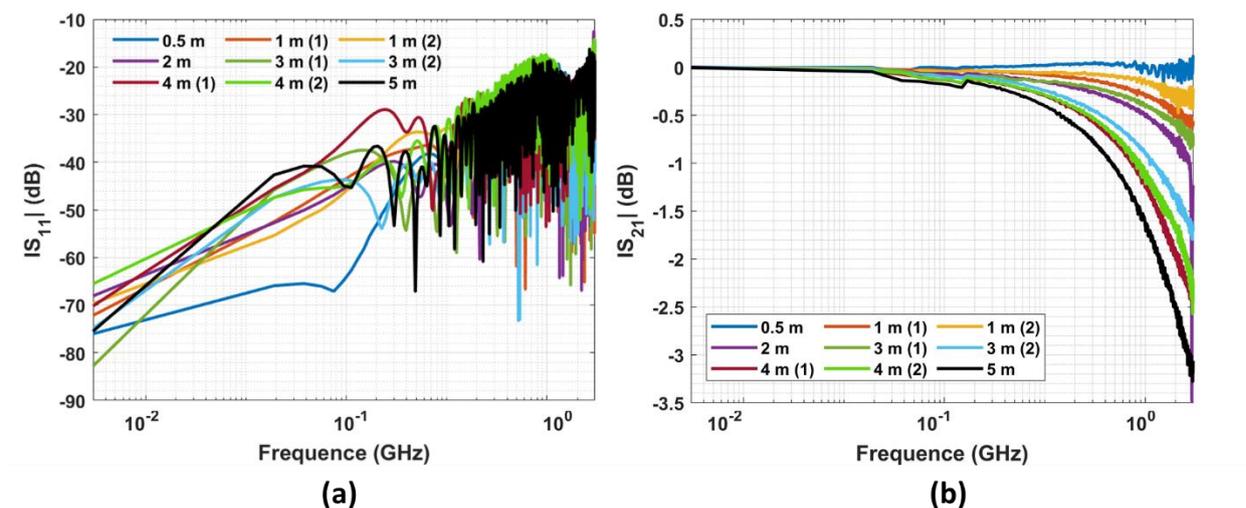


Figure 48 : Les coefficients a) de réflexion S_{11} et b) de transmission S_{21} pour chacun des câbles utilisés pour la génération des impulsions décalées.

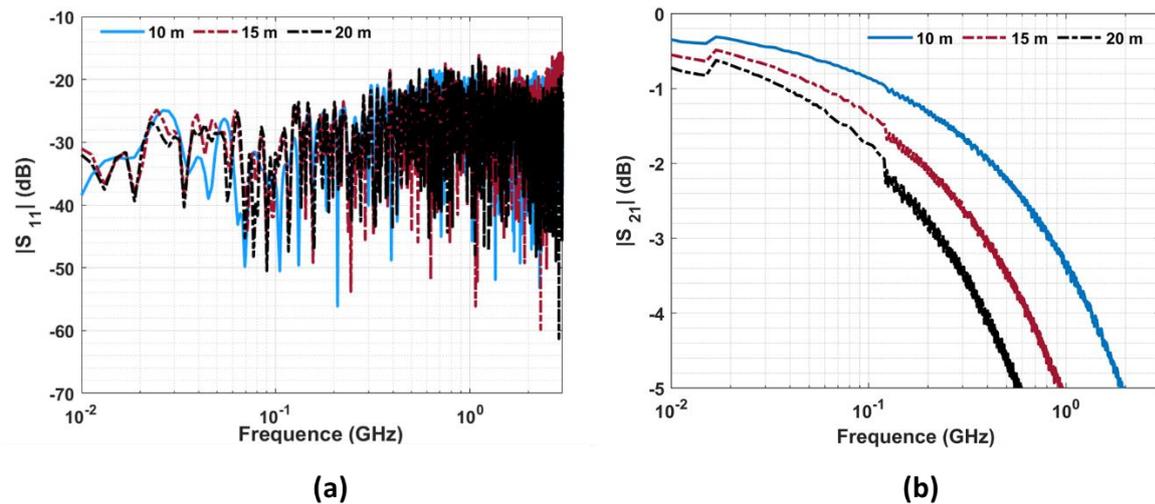


Figure 49 : Les coefficients a) de réflexion S_{11} et b) de transmission S_{21} pour les combinaisons de câbles de longueurs égales à 10 m, 15 m et 20 m, respectivement.

On peut constater que les câbles sont bien adaptés quelle que soit la longueur avec des coefficients de réflexion < -10 dB (Figure 48 a) et Figure 49 a)) sur toute la bande jusqu'à 2 GHz.

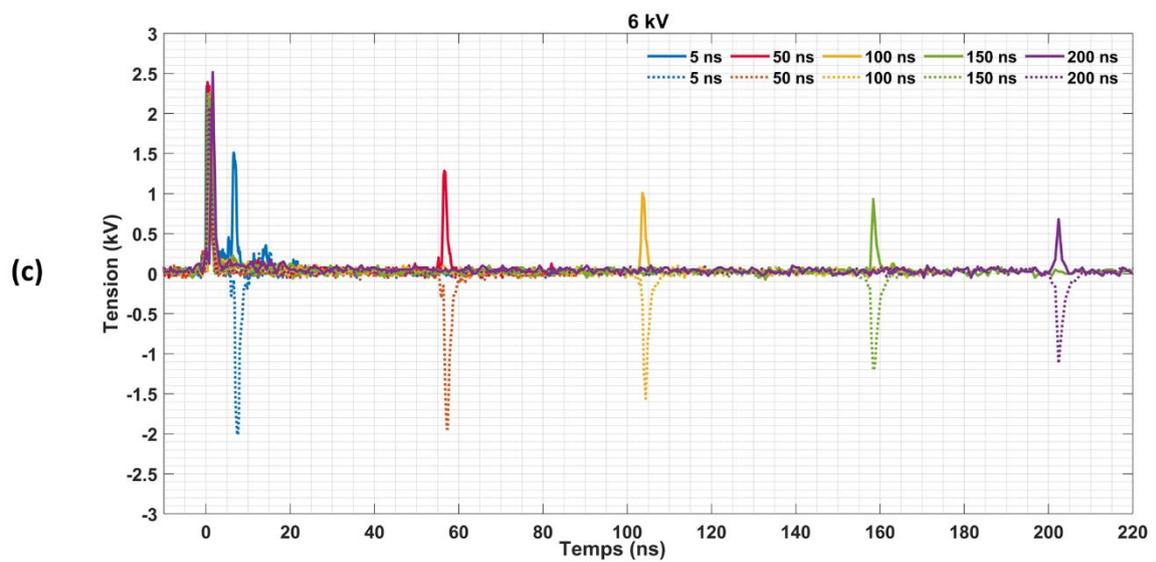
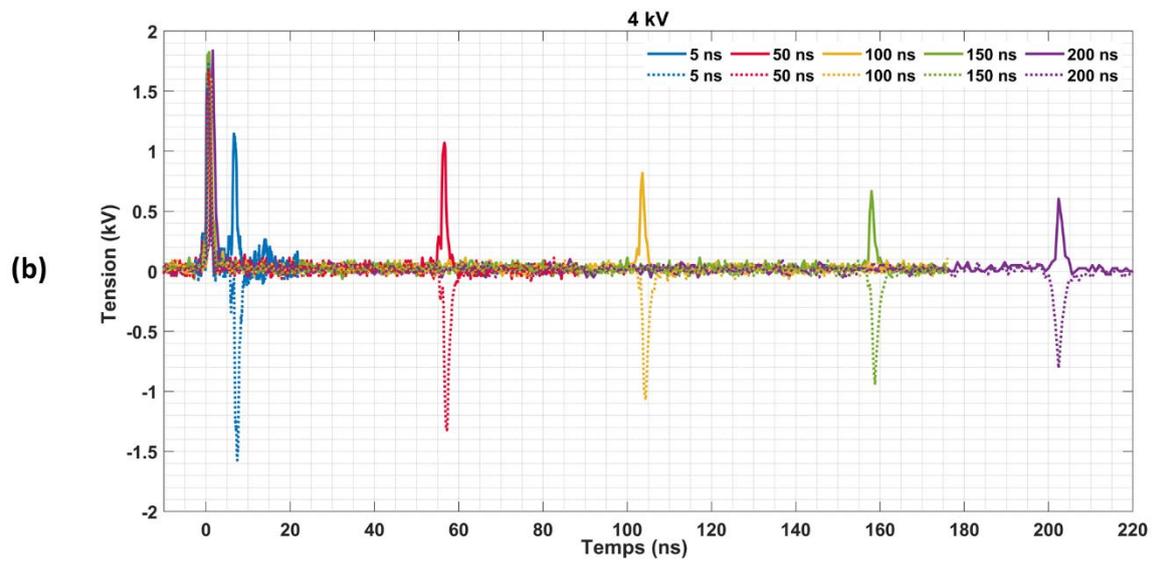
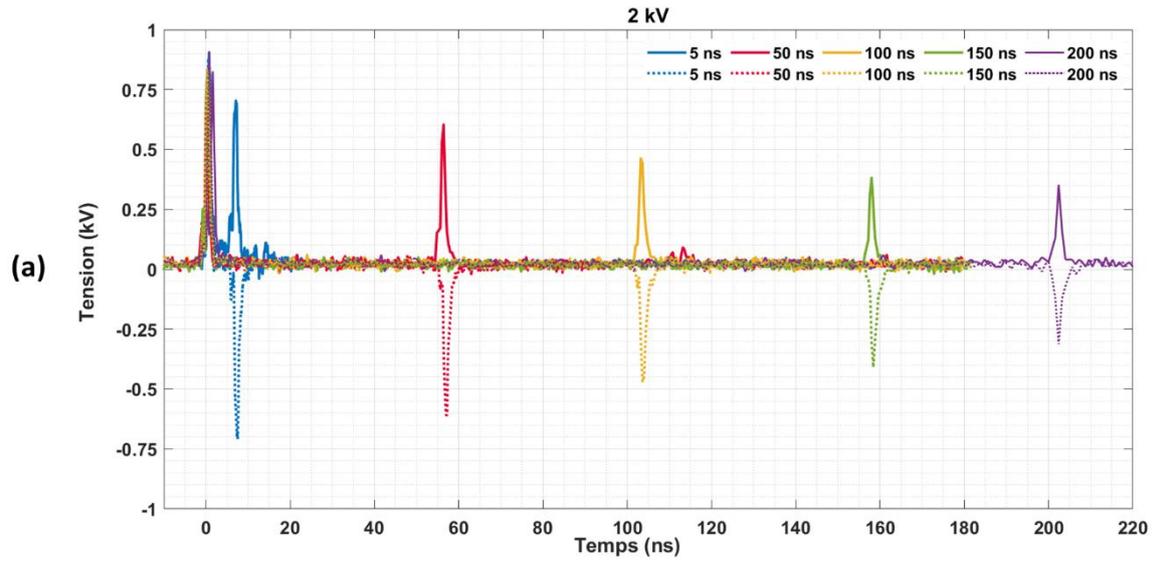
En observant les coefficients de transmission (Figure 48 b et Figure 49 b), nous pouvons constater que l'atténuation introduite par les câbles augmente avec leur longueur. Ainsi à 1 GHz, le niveau de S_{21} atteint $-1,7$ dB avec un câble de 5 m et -5 dB pour un câble de 15 m.

L'atténuation est liée à l'augmentation des pertes avec la longueur (-0.34 dB/m à 1 GHz et -1.02 dB/m à 3 GHz) associées à la désadaptation due à la variation des valeurs d'impédances des câbles avec la montée en fréquence. On peut s'attendre donc à avoir des secondes polarités plus faibles comparés aux premières polarités après l'ajout de ces câbles à la structure du générateur.

Le comportement fréquentiel des câbles étant quantifié, nous pouvons désormais les utiliser dans la génération des impulsions électriques décalées.

II.6.5. Impulsions générées

Nous avons généré des impulsions pour des tensions de polarisation allant de 2 kV à 10 kV avec des délais allant jusqu'à 200 ns. Les impulsions créées, de formes paire et bipolaire, sont présentées sur la Figure 50.



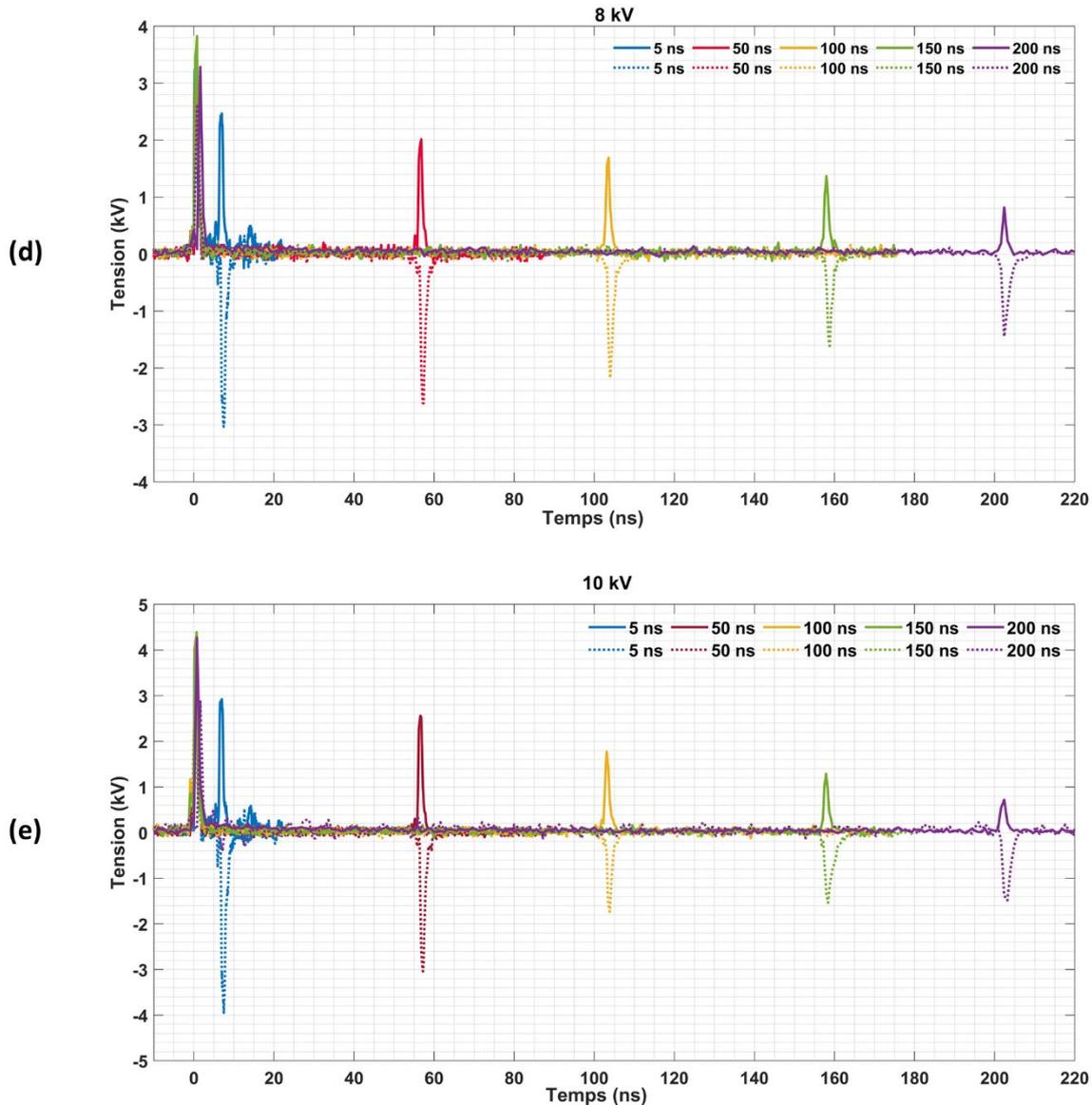


Figure 50 : Impulsions bipolaires et paires produites pour des délais de 5 ns, 50 ns, 100 ns, 150 ns, et 200 ns et pour les tensions de polarisation de a) 2 kV, b) 4 kV, c) 6 kV, d) 8 kV et e) 10 kV.

Sur toutes les impulsions nous remarquons un comportement similaire vis-à-vis de l'augmentation du délai instauré entre les deux polarités. En effet, entre une polarité et sa voisine de même signe nous observons une atténuation de l'amplitude qui est d'autant plus importante que le délai augmente. Pour quantifier ces atténuations, nous avons calculé pour chaque délai le taux de diminution d'amplitude des polarités par rapport à la première polarité de l'impulsion en appliquant la relation suivante :

$$A_x(\%) = \frac{M_0 - M_x}{M_0} \quad (10)$$

où A_x est le pourcentage d'atténuation pour un délai de x ns d'une impulsion, M_0 est l'amplitude maximale de la première polarité de cette même impulsion, et M_x l'amplitude maximale de la polarité pour une valeur x de délai.

Le Tableau 2 montre les valeurs d'atténuation calculées pour toutes les impulsions bipolaire et paire, tensions de polarisation (2-10 kV) et selon les différents délais (5-200 ns). Pour chaque délai, la moyenne des atténuations est également calculée et désignée par \bar{A} dans le tableau.

En analysant les valeurs de la dernière ligne du tableau, nous pouvons remarquer que l'atténuation est proportionnelle au délai. Cette corrélation peut être expliquée par le phénomène de recombinaison des charges, ce qui conduit à l'ouverture partielle des PCSSs avec le temps. Pour contrarier cet effet, un second faisceau laser pourrait être utilisé pour illuminer les PCSSs après un délai temporel, permettant à ces derniers de rester dans leur état passant le temps que la deuxième polarité passe.

L'atténuation est globalement indépendante de la tension de polarisation. En revanche, nous avons remarqué que les valeurs de l'atténuation sont plus importantes dans le cas des impulsions paires comparé au cas des impulsions bipolaires, avec des valeurs moyennes 28 %, 37 %, 51 % et 61 % contre 13 %, 24 %, 42 % et 50 % pour les impulsions bipolaires pour des délais de 5 ns, 50 ns, 100 ns et 150 ns respectivement. Cette différence est liée aux pertes dans les terminaisons. En effet, les pertes par rayonnement sont plus importantes dans un circuit ouvert que dans un court-circuit, et donc la deuxième polarité d'une impulsion paire sera moins énergétique comparée à celle d'une impulsion bipolaire.

Forme d'impulsion	Atténuation (%)							
	Bipolaire				Paire			
	Délai (ns)				Délai (ns)			
Amplitude (kV)	5	50	100	150	5	50	100	150
2	20	28	44	51	22	25	43	55
4	7	20	45	39	32	37	48	63
6	13	19	30	46	32	47	53	57
8	15	21	34	54	28	40	53	62
10	8	30	56	59	28	37	57	68
\bar{A}	13	24	42	50	28	37	51	61

Tableau 2 : Tableau montrant les valeurs de l'atténuation (%) en fonction de la forme des impulsions, de la tension de polarisation (amplitude), et du délai introduit entre les deux polarités d'une même impulsion.

II.6.6. Conclusion sur les performances du générateur 1 ns

Nous avons mis en place un générateur d'impulsions à haute tension avec une durée totale d'environ une nanoseconde. Ce générateur est basé sur le principe de l'onde gelée et est constitué d'une source de haute tension, d'une ligne de transmission pour le stockage de l'énergie, de deux commutateurs optoélectroniques (PCSS), et de trois terminaisons différentes permettant de définir la forme des impulsions générées. Les PCSSs et la ligne de

transmission principale sont placés dans une structure métallique coaxiale à trois ports. L'utilisation de la structure métallique rend le générateur compact.

Avec ce générateur, trois formes d'impulsions différentes ont été créées : bipolaire, paire et unipolaire en variant la terminaison connectée au PCSS2, entre un court-circuit, un circuit ouvert et une charge adaptée de 50 Ohms respectivement. Des impulsions avec une seconde polarité décalée d'une durée variable entre 0 ns et 200 ns ont été également générées, en introduisant des câbles coaxiaux de différentes longueurs entre le port2 et la terminaison : circuit ouvert ou court-circuit pour les impulsions paire et bipolaire décalées respectivement, 1 m de câble engendre un décalage de 10 ns.

La tension de polarisation délivrée par la source de haute tension DC variait entre 2 kV et 10 kV ; l'effet du changement de la tension de polarisation sur l'amplitude, la durée et le temps de montée des impulsions a été étudié. Nous avons trouvé que cette grandeur n'affecte ni la durée d'une polarité ni le temps de montée des impulsions qui restaient égale à 0.9 ns et ~150 ps respectivement.

L'effet du décalage sur les amplitudes des secondes polarités des impulsions a été également analysé et interprété dans cette partie du chapitre avec des atténuations, par rapport à la première polarité, comprises entre 13 et 60 % pour les cas extrêmes.

La génération des impulsions présentées permettra d'étudier plus profondément les effets des délais inter-polarités sur les réponses biologiques des milieux cellulaires étudiés.

Pour améliorer les performances du générateur, nous pouvons étudier la création d'un boîtier plus adapté pour les hautes fréquences notamment en intégrant d'autres types de connecteurs avec des bandes passantes plus grandes.

II.7. Générateur d'impulsions de durée de quelques centaines de ps

II.7.1. Mise en place du générateur

Ce générateur est basé sur le même principe que le générateur détaillé dans la section précédente. Il sera donc également constitué d'une ligne de transmission principale pour le stockage de l'énergie et de deux PCSSs pour la commutation. Cependant, la différence principale entre les deux générateurs réside dans la longueur de la ligne de transmission principale. En effet, la durée des impulsions électriques générées est dictée par la distance de séparation entre les deux PCSSs. Diminuer cette distance revient donc à générer des impulsions électriques plus courtes.

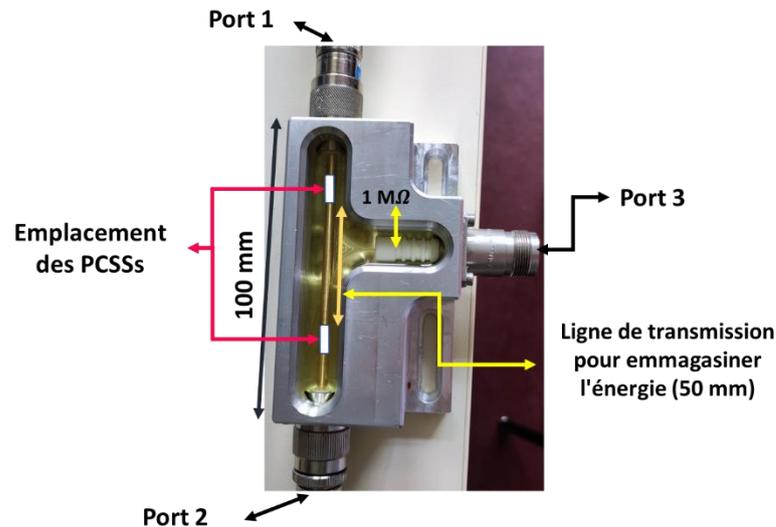


Figure 51 : Boitier métallique utilisé pour la mise en place du générateur d'impulsions de 500 ps.

Pour ce générateur (Figure 51), les PCSSs sont placés dans un boitier métallique coaxial à 3 ports de longueur totale égale à 10 cm et ils sont liés entre eux par une tige métallique de 5 cm.

La durée totale d'une impulsion ΔT est calculé, selon l'équation (2), à :

$$\Delta T = \frac{2L}{v_p} = \frac{2 \times (50 + 9.65) \times 10^{-3}}{\frac{3 \times 10^8}{\sqrt{2.25}}} \sim 600 \text{ ps} \quad (11)$$

La photo du montage est présentée sur la Figure 52. Les éléments principaux du générateur sont :

1. Une source de haute tension DC ;
2. Le boitier métallique contenant la ligne de transmission de stockage et les deux PCSSs de commutation ;
3. La terminaison du circuit qui permettra de définir la forme des impulsions générées ;
4. L'oscilloscope remplaçant la charge et utilisé pour la visualisation des impulsions produites.

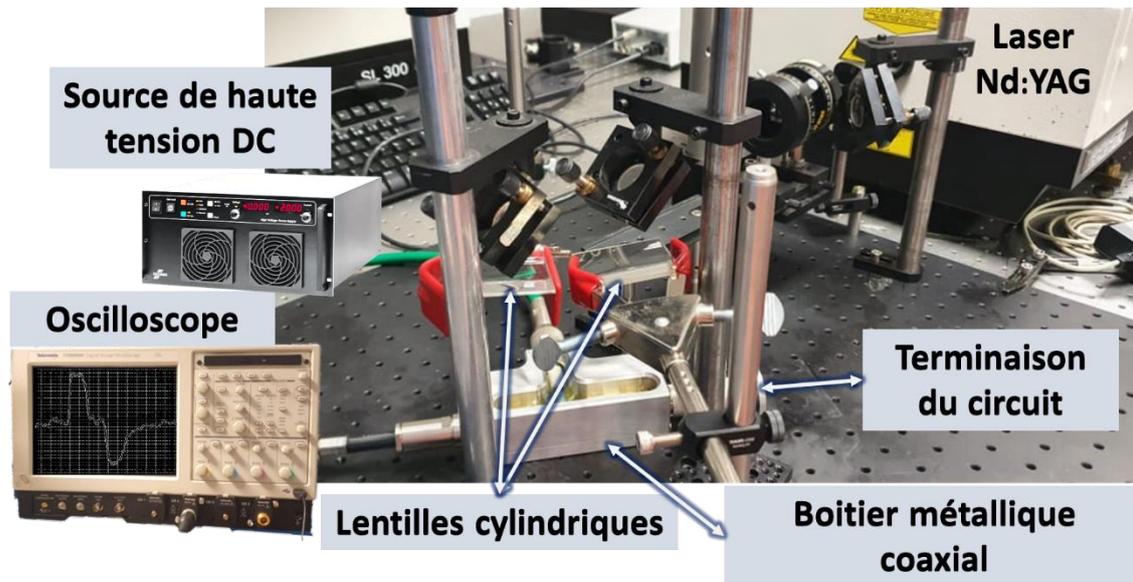


Figure 52 : Expérimentation liée au générateur d'impulsions de 500 ps. Les PCSSs sont placés dans un boîtier métallique connecté à : l'oscilloscope de visualisation, la source de haute tension DC et la terminaison de mise en forme des impulsions. Un laser Nd : YAG illumine les 2 PCSSs à travers deux lentilles convergentes cylindriques.

Les 3 ports du boîtier sont connectés dans la même configuration que la générateur 1 ns : le port 1 à l'oscilloscope de visualisation, le port 2 à la terminaison du circuit et le port 3 à la source de haute tension continue. Le boîtier est également rempli d'huile végétale de colza pour éviter les décharges électriques parasites.

Les PCSSs sont toujours utilisés sous leur mode de fonctionnement linéaire et ils sont illuminés par le même laser que pour le générateur précédent (35ps @ 1064 nm). Cependant, dans ce générateur, les deux faisceaux optiques sont focalisés lors de leur passage dans deux lentilles cylindriques convergentes. Les lentilles cylindriques convergentes sont courbées dans une seule direction, ce qui les rend capables de concentrer la lumière principalement le long de l'axe du cylindre. Ce changement assure une meilleure illumination des PCSSs, car le faisceau obtenu à la sortie des lentilles couvrira désormais la totalité de leur longueur (6 mm).

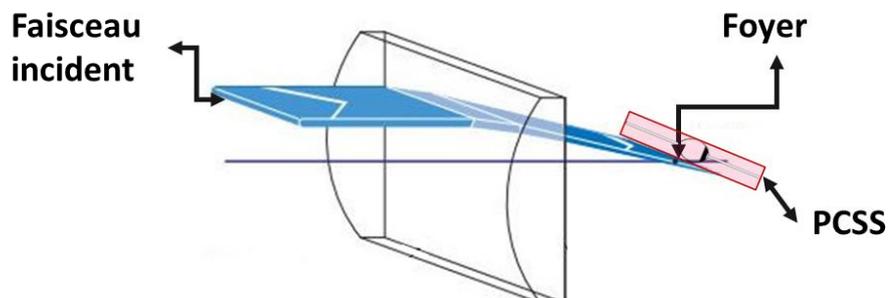


Figure 53 : Illustration de l'illumination d'un PCSS par une lentille cylindrique convergente (adaptée de [249]).

II.7.2. Caractérisation fréquentielle du boîtier métallique

Comme dans le cas précédent, avant de générer les impulsions électriques, il faut caractériser la capacité du circuit à les transmettre. Une caractérisation fréquentielle avec un analyseur de réseau vectoriel, entre 10 kHz et 3 GHz, a donc été effectuée pour le boîtier métallique coaxial, vide et rempli d'huile. Le montage est présenté sur la Figure 54.

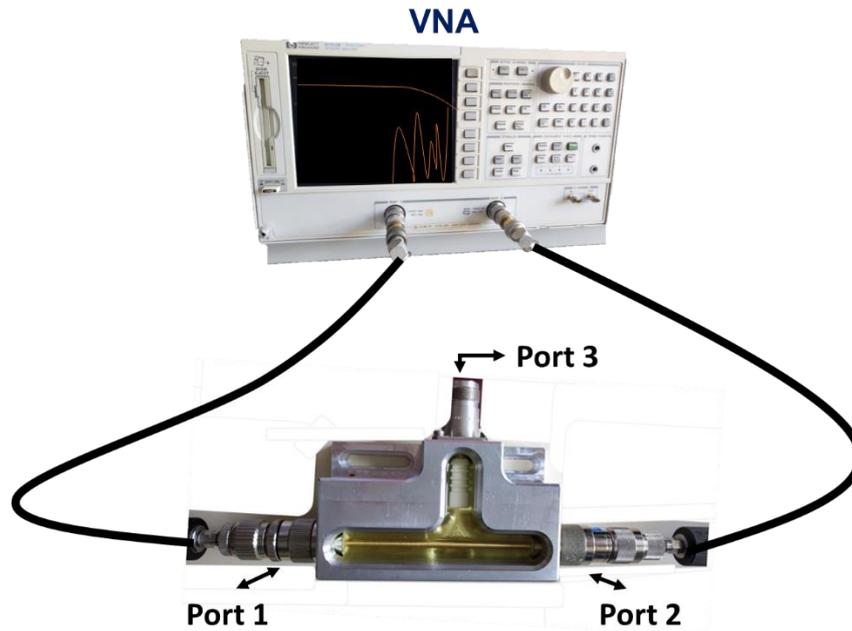


Figure 54 : Montage de la caractérisation fréquentielle du boîtier utilisé pour la génération d'impulsions de 500 ps.

Les résultats de la caractérisation fréquentielle du boîtier sont montrés sur la Figure 55. Nous présentons une comparaison entre les deux coefficients de réflexion S_{11} (a) et de transmission S_{21} (b) pour le boîtier vide et le boîtier rempli d'huile. Nous remarquons qu'en réflexion (S_{11}) le boîtier vide est bien adapté ($S_{11} < -10$ dB) jusqu'à 300 MHz alors que le boîtier rempli d'huile est bien adapté sur toute la bande de fréquence jusqu'à 3 GHz. En ce qui concerne la transmission (S_{21}), le boîtier est bien adapté (> -1 dB soit 90 % d'amplitude de tension transmise) dans les deux cas pour les fréquences inférieures à environ 1 GHz. En revanche, pour les fréquences les plus élevées, l'atténuation du boîtier rempli d'huile augmente atteignant -3 dB à 3 GHz (70 % d'amplitude de tension transmise).

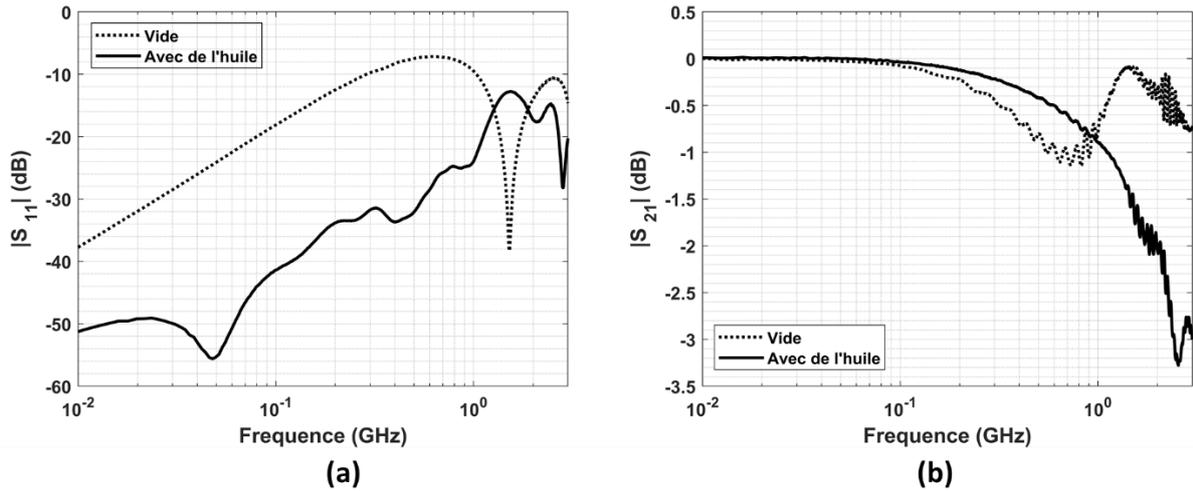


Figure 55 : Paramètres S_{11} a) et S_{21} b) du boîtier vide et rempli d'huile pour des fréquences entre 10 kHz et 3 GHz.

II.7.3. Caractérisation temporelle préliminaire du générateur

Un exemple d'impulsion bipolaire générée avec ce générateur est présenté sur la Figure 56. La tension de polarisation est de 4 kV et une énergie optique de 3 mJ est appliquée sur les PCSSs. Une perte d'énergie de l'impulsion laser a été constatée limitant l'énergie appliquée sur les PCSSs à quelques mJ.

Le but de cette caractérisation préliminaire est de générer une impulsion type et de mesurer ses caractéristiques telles que la durée, le temps de montée et la durée d'une polarité pour des tensions de polarisation faibles. En effet, des fortes amplitudes ne peuvent pas être atteintes avec l'énergie limitée du laser.

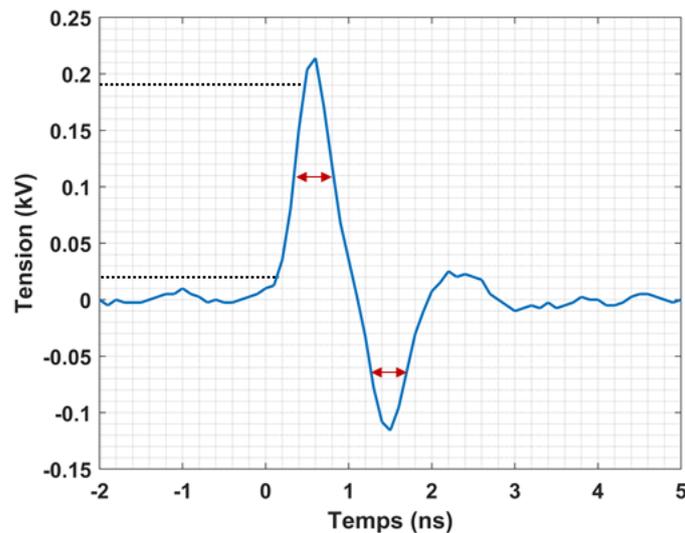


Figure 56 : Impulsion bipolaire produite par le générateur d'impulsions de 500 ps.

Sur la Figure 56, nous pouvons mesurer, pour la première polarité positive, la durée à mi-hauteur et le temps de montée de l'impulsion qui valent 489 ps et 315 ps respectivement. Pour la seconde polarité (négative), cette valeur vaut 470 ps.

Les valeurs mesurées diffèrent des prédictions théoriques car l'impulsion générée a été mesurée avec un oscilloscope avec une largeur de bande limitée (1 GHz) pour ce genre d'impulsions. Les impulsions mesurées ont donc, une durée plus longue et une amplitude plus faible que les impulsions réelles suite au filtrage de l'oscilloscope.

Cette caractérisation devrait être complétée avec des mesures obtenues avec un nouveau laser en attendant la réparation de l'ancien ainsi qu'un oscilloscope plus large bande et plus adapté pour ce type d'impulsions.

II.8. Génération d'impulsions de l'ordre de 100 ps et spectroscopie micro-ondes mono-coup

Le même principe d'onde gelée est appliqué encore une fois pour une troisième architecture de générateur qui permettra de créer des impulsions unipolaire, bipolaire équilibrée, déséquilibrée, de l'ordre de quelques centaines de picosecondes. Contrairement aux deux générateurs précédents qui emploient des tiges métalliques intégrées dans une structure coaxiale, ce générateur utilise une ligne de transmission microruban pour l'élément de stockage de l'énergie. Ce générateur, dont la mise en place et les types d'impulsions délivrées sont brièvement introduites par la suite, a été développé dans le cadre de la thèse de Sahar Wehbi [250]. Ce générateur servira à délivrer des impulsions picoseconde (psPEF) pour une application à la spectroscopie micro-ondes mono-coup. Ma contribution principale a ainsi porté sur la dosimétrie électromagnétique numérique et expérimentale d'un système de propagation micro-ondes (cellule TEM) utilisé pour des caractérisations avec la spectroscopie micro-ondes mono-coup des pics de résonances d'un résonateur diélectrique passif.

II.8.1. Mise en place du générateur

Expérimentation mise en place

Le générateur est principalement constitué de 2 PCSSs (GP02-40, Vishay, USA) supportant jusqu'à 4 kV de tension de polarisation, connectés par une ligne microruban d'impédance 50 Ohms (Figure 57). Pour augmenter la tension supportée par les éléments commutateurs, deux PCSSs identiques sont branchés en série et formeront par la suite un seul commutateur supportant théoriquement une tension de 8 kV. Cependant, pour réaliser cette étape, il faut s'assurer de la synchronisation temporelle parfaite lors de la fermeture des PCSSs, pour éviter la destruction du PCSS fermé en premier. En effet, si l'un des 2 PCSSs est fermé avant l'autre, la totalité de la tension de polarisation lui sera transmise ; et étant donné que cette tension est deux fois plus élevée que la tension maximale supportée par chaque PCSS (8 kV de polarisation contre 4 kV de tension maximale/ PCSS), cela amènera à la destruction du PCSS.

Le circuit du générateur est délimité, d'un côté, par une ligne de transmission connectée à la masse, et d'un autre par une chaîne d'atténuation de 86 dB (Barth Electronics, model 2051, USA) reliée à un oscilloscope (DPO7000SX Series, Tektronix, USA). Une source de haute tension DC (HCP 700-20000, FuG Elektronik GmbH, Germany), est connectée à la ligne de transmission principale afin de la charger. Les PCSSs sont illuminés par un laser de

haute énergie (Tangerine HP, Amplitude system, France). Des lames $\lambda/2$ et des séparateurs de faisceaux sont placés sur les chemins optiques qui passent par les PCSSs pour contrôler le taux d'énergie optique. En variant le temps de commutations et les énergies optiques attribuées à chacun des deux commutateurs, la génération d'impulsions de types et d'amplitudes variés est possible. Il est important de noter que la source laser utilisée émet des impulsions de 350 fs à 1030 nm.

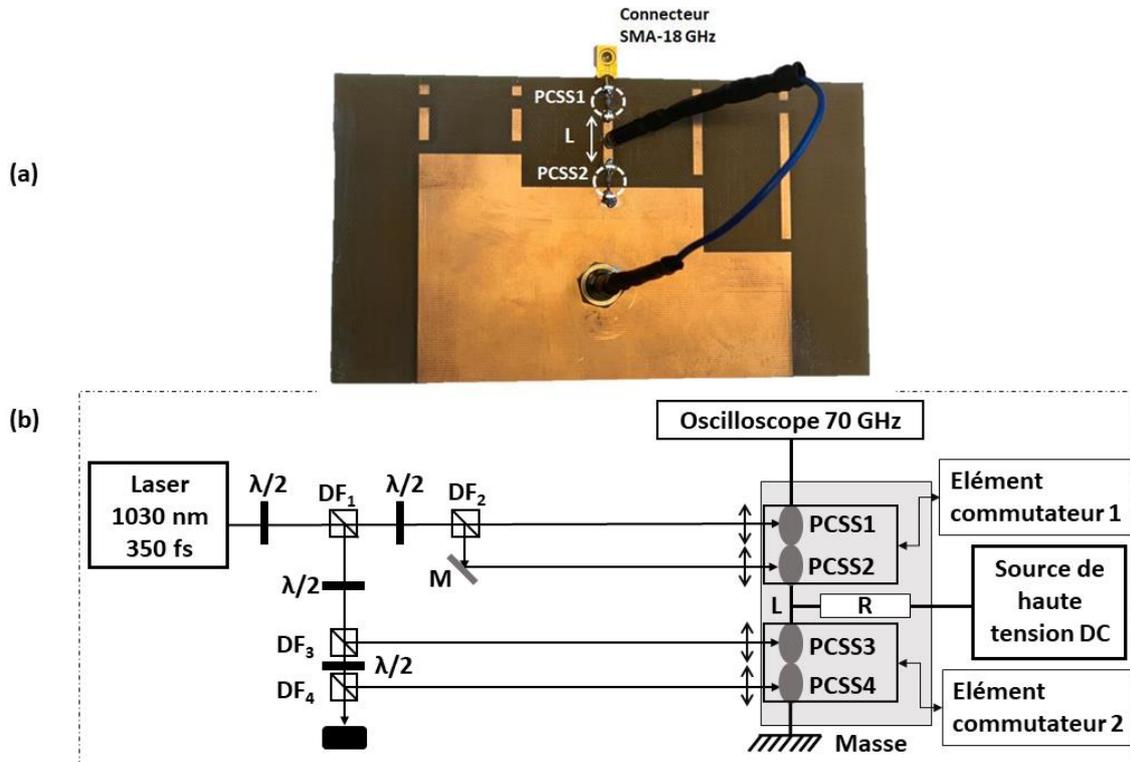


Figure 57 : (a) : Photo à titre d'exemple du circuit du générateur ps, avec les deux éléments commutateurs (PCSSs), la ligne de stockage de tension, la ligne connectée à la source de haute tension pour la charge et le connecteur SMA lié à la masse. (b) : Schéma du montage complet du générateur incluant les chemins optiques conduisant à l'illumination des PCSSs.

II.8.2. Exemples d'impulsions générées

Impulsions bipolaires

Pour la génération d'impulsions bipolaires, une ligne microruban de 2 mm de longueur a été placée entre les deux séries de commutateurs. Il s'agit de la distance minimale envisageable tenant compte de la taille du packaging des PCSSs et les distances de soudure les reliant à la ligne de transmission.

Afin de créer des impulsions bipolaires équilibrées, les deux PCSSs sont illuminés simultanément avec une énergie optique de 20 μJ . Pour une tension de polarisation de 4 kV, des impulsions bipolaires de 1.6 kV d'amplitude crête-à-crête et de 333 ps de durée totale ont été obtenues (Figure 58, impulsion #1). La différence entre l'amplitude crête-à-crête et la tension de polarisation est due aux pertes dans les commutateurs et au rayonnement dans la ligne microruban (II.2.4).

Pour obtenir des impulsions bipolaires déséquilibrées, il suffit d'appliquer une énergie optique inférieure à 20 μJ lors de l'illumination du second PCSS. Ce dernier présente alors une résistance qui entraîne une atténuation de l'amplitude négative. Trois exemples d'impulsions bipolaires créés par ce générateur sont tracés sur la Figure 58. La première impulsion est de type bipolaire équilibré. La deuxième impulsion est de type bipolaire déséquilibré, l'énergie optique illuminant le PCSS2 est de 10 μJ engendrant un processus de commutation partiel. Enfin, sur la troisième impulsion la polarité négative est absente. Dans ce cas, l'énergie optique appliquée pour la fermeture du PCSS2 est faible pour obtenir une impédance équivalente à 50 Ohms.

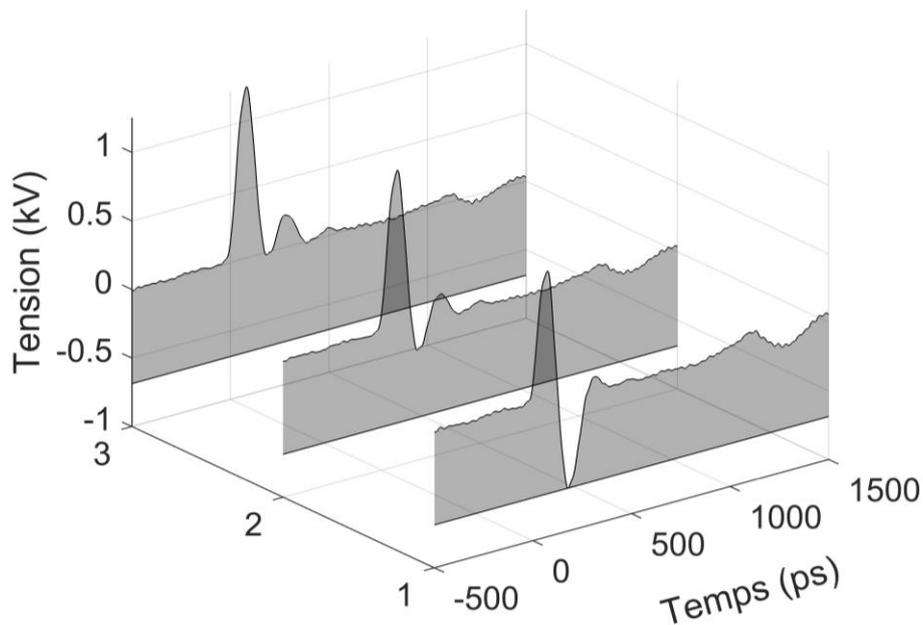


Figure 58 : 1- Impulsion bipolaire symétrique, l'énergie optique illuminant le PCSS2 est égale à 20 μJ .
 2 : Impulsion bipolaire déséquilibrée, l'énergie optique illuminant le PCSS2 est égale à 10 μJ .
 3 : Impulsion unipolaire, l'énergie optique illuminant PCSS2 est de 1 μJ .

Impulsions unipolaires successives

On cherche ici à créer deux impulsions unipolaires successives avec une séparation temporelle de quelques centaines de ps (500 ps). Pour ce faire, deux PCSSs ont été reliés par une ligne de transmission de 2 cm, chargée à une tension de polarisation de 4 kV. La commutation se fait ici en 3 étapes selon la Figure 59 :

- 1- Dans un premier temps, le PCSS1 est illuminé avec une énergie optique (F1a) de 10 μJ . Une impulsion triangulaire de durée totale de 2 ns et de temps de montée de 70 ps est générée suite à la fermeture partielle du PCSS1.
- 2- Ensuite, après 500 ps, un second faisceau optique (F1b) de 20 μJ illumine de nouveau le PCSS1. Une impulsion unipolaire positive d'amplitude 1.7 kV et de durée totale de 450 ps est ainsi générée par ce processus.
- 3- Enfin, le PCSS2 est illuminé après un délai de 250 ps par un faisceau optique (F2) de 10 μJ . Grâce à la fermeture du PCSS2 tout seul, une impulsion de polarité négative d'amplitude égale à -250 V et de durée totale de 120 ps est créée. La concaténation

des trois impulsions donne deux impulsions positives successives de 670 V d'amplitude. Les durées des deux impulsions sont égales à 270 ps et 250 ps, respectivement et elles sont séparées par un délai de 500 ps.

Les impulsions générées ainsi que les étapes mentionnées et le circuit du générateur sont présentés sur la Figure 59. Sur la partie (b) de cette figure nous pouvons distinguer les trois impulsions, triangulaire positive, rectangulaire positive et unipolaire négative formées lors de la fermeture des deux PCSSs par les 3 faisceaux optiques F1a, F1b et F2 respectivement, ainsi que leur concaténation (à droite en bas).

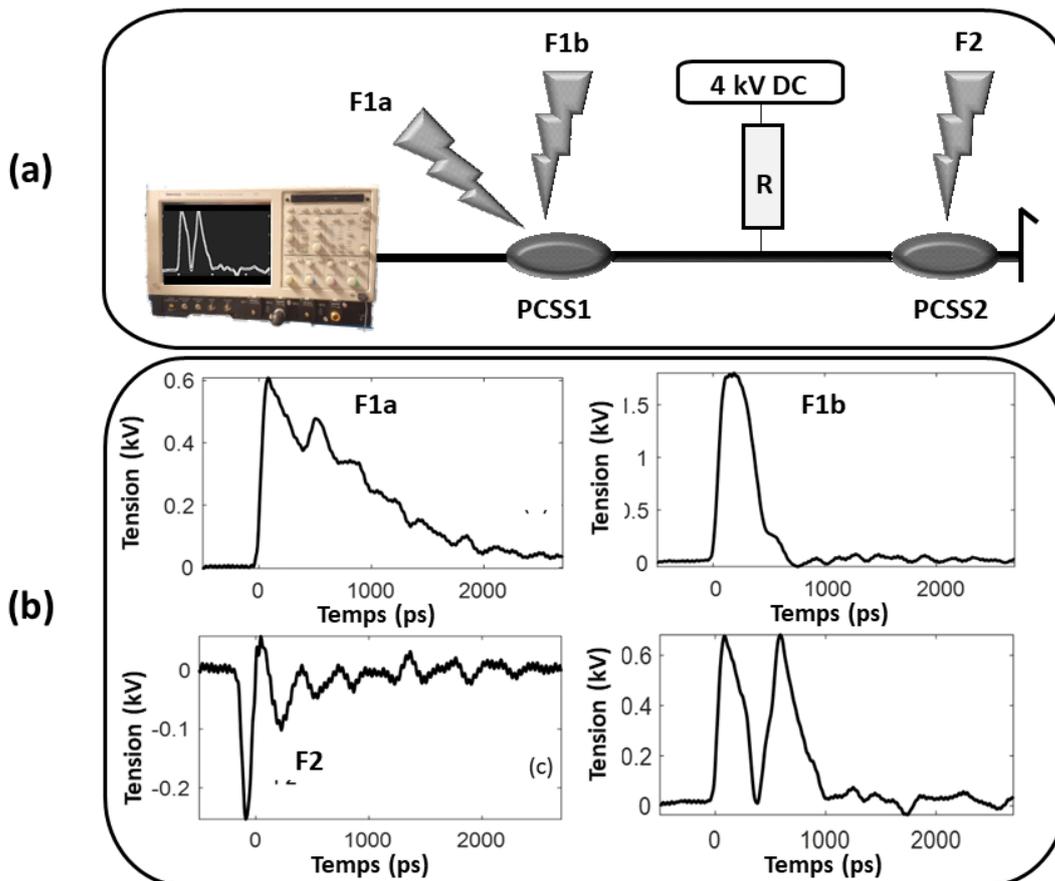


Figure 59 : (a) : Circuit du générateur contenant deux commutateurs, une ligne de transmission principale, une source de haute tension et un oscilloscope. (b) Impulsions produites dans chacune des trois étapes de commutation ainsi que l'impulsion électrique finale.

II.8.3. Spectroscopie mono-coup

L'une des applications directes des impulsions générées est la spectroscopie micro-ondes mono-coup. Cette technique permet d'identifier le ou les constituants d'un composant, en identifiant les fréquences associées aux pics d'absorption. Pour mettre en évidence cette application, une spectroscopie mono-coup sur un résonateur diélectrique cylindrique a été effectuée. En parallèle, nous avons effectué une caractérisation fréquentielle numérique du résonateur pour comparer les résultats des mesures avec ceux du calcul numérique, afin d'identifier les limites et la fiabilité de la spectroscopie effectuée.

II.8.3.1. Mesures expérimentales

Principe

La spectroscopie mono-coup consiste à exposer, à une impulsion électrique de très courte durée, le composant à identifier. L'impulsion électrique initiale sera donc modifiée ou plus spécifiquement absorbée et/ou emmagasinée, pour certaines fréquences, lors de son interaction avec le composant. Ces fréquences sont propres à chaque matière, et leur connaissance permettra, par la suite, d'identifier les constituants du composant. Ce composant ici étant un résonateur diélectrique cylindrique (E2000 series, Exxelia Temex, Paris, France) constitué de matière synthétique dont la permittivité diélectrique relative est égale à 37.

Le montage de la spectroscopie micro-ondes est représenté schématiquement sur la Figure 60. Une cellule transversale électromagnétique (TEM) est utilisée pour délivrer l'impulsion picoseconde (psPEF) unipolaire au résonateur diélectrique cylindrique placé au sein de la cellule TEM. Les cellules TEM sont des structures de propagation ouvertes, conçus pour présenter une impédance caractéristique de 50 Ohms, capables de maintenir une distribution homogène du champ électrique sur une grande dimension transversale [251]–[253].

Pour les mesures de spectroscopie, une seule impulsion unipolaire d'une durée de 105 ps et d'un spectre de fréquence couvrant jusqu'à 7,5 GHz à -20 dB est utilisée. En pratique, l'insertion du résonateur modifie localement l'impédance et la propagation dans la cellule TEM en fonction du spectre de fréquence. Le signal modifié est acquis avec un oscilloscope (DPO7000SX Series, Tektronix, USA) connecté à la sortie de la cellule TEM. Pour analyser les résonances introduites par le résonateur passif, une transformée de Fourier est effectuée sur le signal de sortie. Les résultats expérimentaux obtenus à l'aide de cette méthode sont ensuite comparés aux simulations numériques.

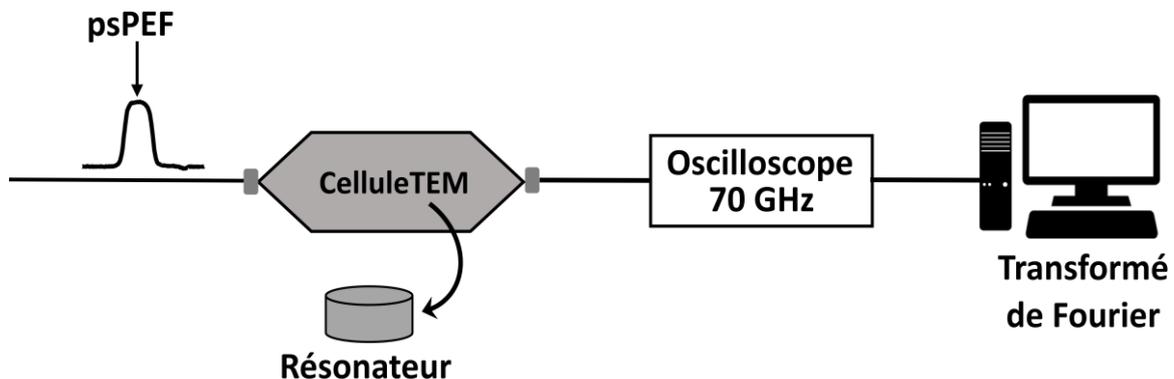


Figure 60 : Montage de la spectroscopie mono-coup avec la psPEF à l'entrée de la cellule TEM contenant le résonateur diélectrique. Le signal est récupéré par un oscilloscope et une transformée de Fourier lui est appliqué.

II.8.3.2. Modélisation et simulation numérique

Nous avons réalisé une caractérisation numérique du système (TEM + résonateur) à l'aide du logiciel électromagnétique 3D CST Microwave Studio 2020 (Computer Simulation Technology [CST], Dassault Systems, Darmstadt, Germany). La cellule TEM est modélisée avec les paramètres géométriques

présentés sur la Figure 61 a). La cellule TEM est composée de trois plaques métalliques d'épaisseur 1 mm (les 2 plaques extérieures sont reliées à la masse), une plaque centrale, appelée « septum », est reliée à des connecteurs SMA. Les composants métalliques de la cellule TEM sont modélisés comme des conducteurs électriques parfaits. Le résonateur diélectrique est modélisé avec une permittivité relative et une tangente de perte de 37 et 0,02, respectivement. Des ports, de type guide d'onde de 50 Ohms sont utilisés pour modéliser la source d'alimentation à l'entrée et la charge en sortie de la cellule TEM. Pour obtenir des résultats précis, un maillage adaptatif non uniforme a été mis en œuvre. Le résonateur a été modélisé avec un maillage de 0,648 mm x 0,648 mm x 0,1 mm, tandis que des mailles plus grandes, par exemple 3,95 mm x 3,54 mm x 0,1 mm, ont été appliquées à d'autres parties de la structure. Le nombre total de mailles de la structure (Figure 61 c)) est de 9107,574 et le temps de simulation typique est de 7 h, 16 m, 14 s.

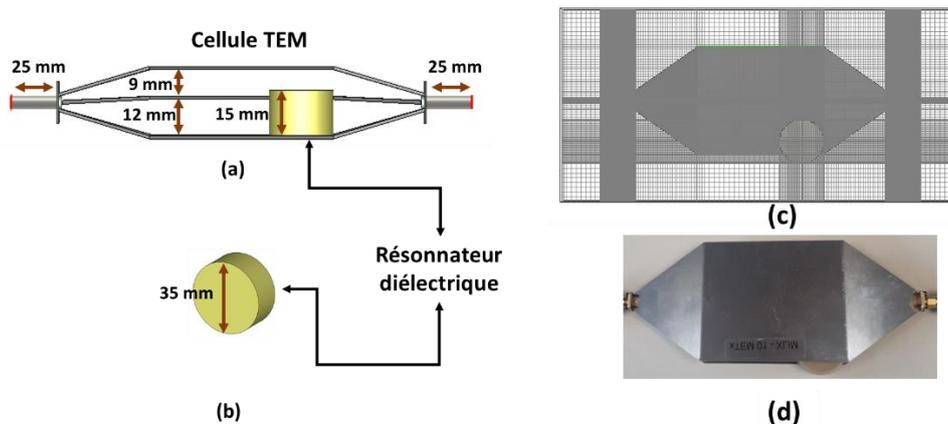


Figure 61 : (a) : représentation de la cellule TEM contenant le résonateur. (b) : le résonateur cylindrique isolé. (c) : Une capture d'écran de simulation, illustrant le maillage utilisé, et (d) : photographie du résonateur placé à l'intérieur de la cellule TEM.

Caractérisation électromagnétique fréquentielle de la cellule TEM à vide

Dans un premier temps, une caractérisation fréquentielle de la cellule TEM vide est effectuée. Pour les mesures expérimentales, la cellule TEM est connectée à un analyseur de réseau vectoriel (VNA, ZVA24, Rhode & Schwarz, Germany) et ses paramètres S sont mesurés entre 10 kHz et 5 GHz.

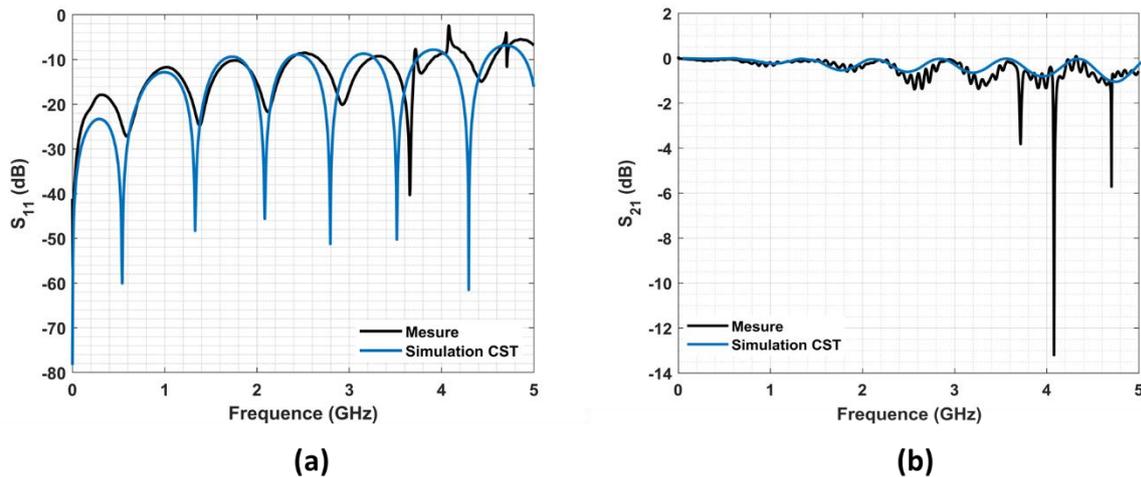


Figure 62 : Valeurs mesurées (En noir) et calculées (En bleu) par simulations numériques des paramètres de diffusion relative à la réflexion (Gauche) et à la transmission (Droite).

Sur les graphes de la Figure 62 sont tracés les paramètres S , à savoir le coefficient de réflexion S_{11} et le coefficient de transmission S_{21} , mesurés expérimentalement et obtenus numériquement par simulations. Nous pouvons constater que les résultats obtenus par des mesures et par simulations numériques sont très similaires, à part un petit décalage de 100 MHz observé sur les courbes de S_{11} pour des fréquences supérieures à 3 GHz dû aux différences entre la modélisation et la mesure expérimentale.

Nous retrouvons cet accord dans les valeurs S_{21} également, où nous pouvons identifier les mêmes fréquences pour les pics retrouvés expérimentalement et numériquement sur toute la bande de fréquence (entre 10 kHz et 5 GHz). Nous pouvons déduire que la cellule TEM est globalement adaptée ($S_{11} < -10$ dB et $S_{21} > -1$ dB) sur tout le spectre de fréquence, à l'exception de quelques pics pour des fréquences supérieures à 3.5 GHz.

Les résultats expérimentaux et numériques, de la caractérisation fréquentielle de la cellule TEM contenant le résonateur, sont présentés sur la Figure 63. Nous constatons que les pics de résonances fréquentielles observées par spectroscopie micro-ondes sont assez similaires à ceux obtenus par calcul numérique, notamment pour : 1.7 GHz, 2.1 GHz, 2.4 GHz, 2.9 GHz, et 3.8 GHz. Le léger décalage observé entre les résonances autour de 1.8 et 3.9 GHz, est dû aux différences entre la structure modélisée et la structure réelle mesurée (géométrie ou caractéristiques diélectriques). Nous remarquons également que pour certaines fréquences, les profondeurs des pics obtenues par simulation et mesurées expérimentalement ne sont pas les mêmes ; notamment à 1.7 GHz où les profondeurs obtenues sont de -3.3 dB et -8.7 dB pour les mesures et les simulations respectivement. Cette différence est également présente pour les deux fréquences de 2.4 GHz et 3.8 GHz où les profondeurs des pics sont à (-10 dB et -4.9 dB) par simulations et (-13 dB et -6.7 dB) dans les mesures respectivement.

Le bon accord global entre les deux méthodologies de caractérisation prouve la fiabilité de la technique de spectroscopie développée.

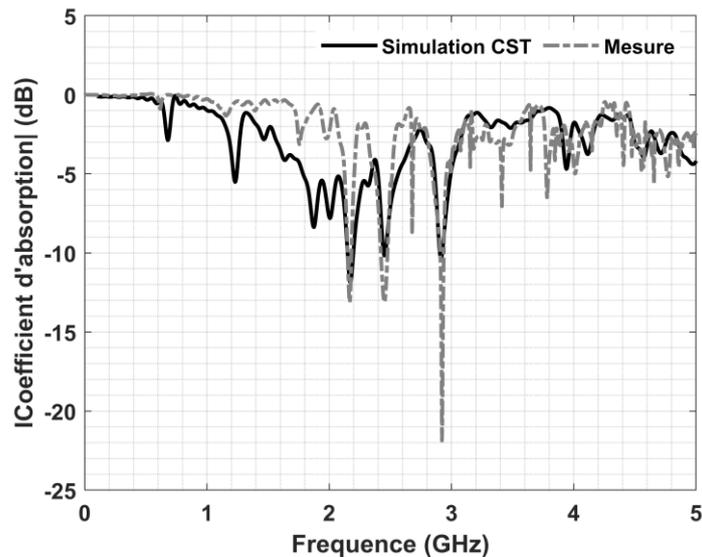


Figure 63 : Spectres d'absorption mesurés par spectroscopie mono-coup et obtenu par simulations numériques CST du système (Cellule TEM + résonateur diélectrique).

II.8.4. Conclusion sur la génération ps et la spectroscopie micro-ondes mono-coup

Dans cette partie, un générateur de psPEF a été mis en œuvre dans le cadre d'une thèse précédente. Différentes formes de psPEF, y compris des impulsions unipolaires, bipolaires et paires successives, ont été générées en manipulant l'énergie optique incidente et le délai temporel entre l'activation des PCSSs. Les impulsions générées avaient des durées de 105 ps, 333 ps et 253 ps avec des valeurs de tension maximale de sortie correspondantes de 1,64 kV, 1,6 kV et 0,67 kV.

Dans ce contexte, ma contribution principale a porté sur la caractérisation du système et sur les simulations numériques. Les pics de résonance, mesurés par spectroscopie micro-ondes, du résonateur placé dans une structure de propagation nommée cellule TEM, ont été comparés aux valeurs numériques obtenues par simulation. Des pics de résonance similaires ont été obtenus pour les deux approches, à 1.7 GHz, 2.1 GHz, 2.4 GHz, 2.9 GHz, et 3.8 GHz, ce qui valide la technique de spectroscopie micro-ondes mono-coup développée. On remarque que la bande de fréquence sur laquelle nous pouvons identifier ces résonances n'est plus valable au-delà de 3.8 GHz.

II.9. Conclusion générale du chapitre

Dans ce chapitre, les principes des générateurs développés pour la création d'impulsions électriques courtes et ultracourtes a été présenté. Ces générateurs se composent de quatre éléments principaux c.-à-d. une source de haute tension, un élément de stockage, un élément commutateur, et une charge.

Ensuite, la conception et la mise en place de trois générateurs d'impulsions électriques ultracourtes d'une durée de 0.9 ns, 490 ps et 105 ps, ont été détaillées. Ces générateurs reposent sur le principe de l'onde gelée et sont constitués d'une source de haute tension DC,

d'une ligne de transmission et de deux commutateurs optoélectroniques qui sont connectés à une terminaison.

Pour le premier générateur, nous avons intégré les deux commutateurs optoélectroniques ainsi que la ligne de transmission dans un boîtier métallique coaxial à trois ports, numérotés 1, 2 et 3, et nous les avons connectés respectivement à l'oscilloscope de visualisation, à la source de haute tension et à la terminaison. Nous avons utilisé trois terminaisons différentes : un court-circuit, un circuit ouvert et une charge adaptée de 50 Ohms pour produire trois formes d'impulsions : bipolaire, paire, et unipolaire.

Nous avons testé plusieurs tensions de polarisation pour ce générateur, allant de 2 kV à 10 kV, et avons conclu que l'amplitude de l'impulsion générée est directement liée à la tension de polarisation, tandis que la durée et le temps de montée de chaque polarité restent constants (0.9 ns et 150 ps respectivement).

Enfin, nous avons introduit des délais entre les deux polarités d'une même impulsion (bipolaire ou paire) en insérant des câbles coaxiaux de différentes longueurs entre le port n°2 et la terminaison de ce circuit. Nous avons remarqué que lorsque le délai augmente, l'amplitude maximale de la seconde polarité diminue, attribuant cette diminution aux pertes par unité de longueur dans les câbles. Plus précisément, nous avons constaté que pour un délai de 200 ns, l'atténuation dépassait les 60 %.

Le deuxième générateur (490 ps) présenté avait une structure très similaire au générateur de 0.9 ns, la principale différence résidait dans les longueurs du boîtier métallique et des lignes de transmission connectant les deux commutateurs, qui sont passées de 23 cm à 10 cm et de 16 cm à 5 cm. Nous avons également présenté un exemple d'impulsion bipolaire générée par ce générateur et avons déduit ses principales caractéristiques, telles que la forme et la durée de chaque polarité (489 ps et 470 ps pour les polarités positive et négative respectivement).

Le troisième générateur présenté a été développé dans le cadre de la thèse de S. Wehbi, également basé sur le principe de l'onde gelée. Son circuit de base est constitué de deux commutateurs optoélectroniques reliés par une ligne de transmission microruban. La principale différence résidait dans la nature de la source laser qui activait les commutateurs et qui était de 350 fs à la place des 35 ps. Nous avons montré des exemples d'impulsions unipolaires et bipolaires produites par ce générateur. Enfin, nous avons présenté une application directe des impulsions picosecondes : la spectroscopie mono-coup. Pour cela, nous avons placé un résonateur diélectrique dans une cellule TEM et nous avons obtenu son spectre d'absorption à l'aide de trois méthodes différentes : la spectroscopie mono-coup, une caractérisation fréquentielle du dispositif (cellule TEM + résonateur) avec un VNA, et enfin, par simulations numériques sous CST Microwave Studio.

Les trois méthodes ont révélé des pics d'absorption similaires, notamment à 1.7 GHz, 2.1 GHz, 2.4 GHz, 2.9 GHz et 3.8 GHz. Cette concordance entre les résultats démontre la validité de la nouvelle méthode de spectroscopie, basée sur l'application d'une impulsion électrique unipolaire de 105 ps.

Avec les impulsions générées et leur répétabilité vérifiée, nous sommes désormais prêts à passer à l'étape suivante, qui consiste à diriger ces impulsions vers une cible biologique potentielle à travers des **applicateurs**.

Les applicateurs d'impulsion

Chapitre III. Les applicateurs d'impulsion

III.1. Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons présenté la méthodologie et la mise en place de plusieurs générateurs d'impulsions électriques ultracourtes à haute tension. L'élément suivant dans la chaîne d'exposition est le système applicateur d'impulsions électriques aux échantillons biologiques. L'applicateur est l'élément qui permet d'appliquer l'impulsion à la charge. Il doit donc être soigneusement choisi tout en prenant en compte les caractéristiques électromagnétiques et géométriques du générateur et de la cible à exposer, aussi bien *in vivo*, *in vitro* que pour des applications cliniques (Figure 64).

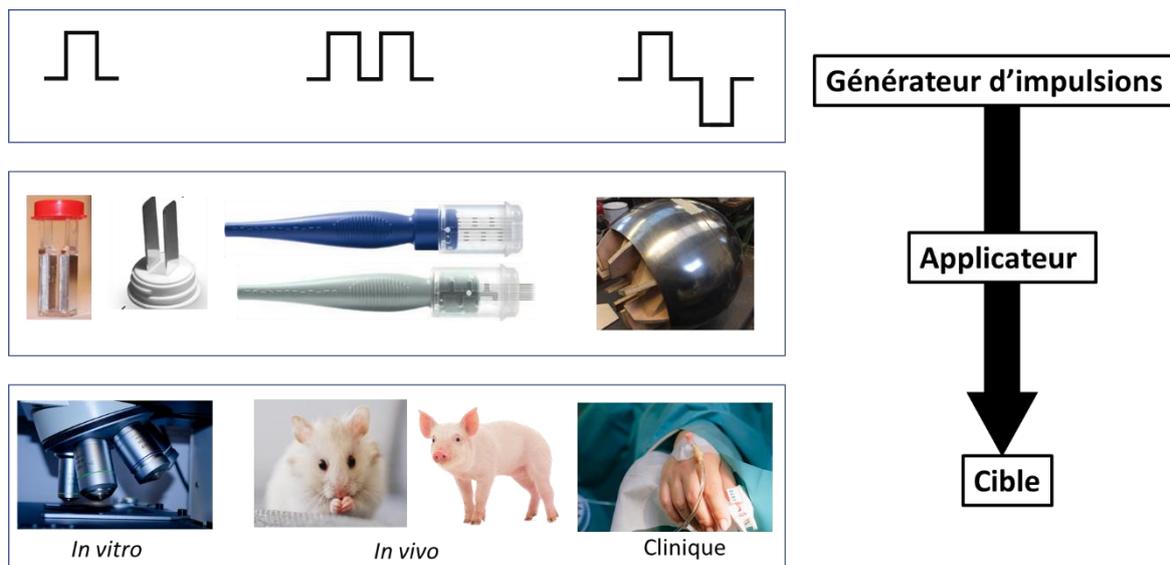


Figure 64 : Schéma illustrant l'emplacement de l'applicateur sur la chaîne d'exposition. Les trois formes d'impulsions (unipolaire, paire et bipolaire) sont présentées. Plusieurs applicateurs sont montrés et seront détaillés dans les parties suivantes. Cette figure montre aussi des exemples de cibles (*in vitro*, *in vivo* et clinique).

Dans ce chapitre, nous présentons brièvement les principaux types d'applicateurs cités dans la littérature ainsi que quelques exemples d'utilisation. Ensuite, nous proposons un nouvel applicateur hybride optoélectronique, permettant de transmettre des impulsions aux échantillons, mais aussi à terme de visualiser, par effet d'optique non linéaire dans une fibre optique multimodale, les effets en temps réels des impulsions sur ces échantillons. Une caractérisation fréquentielle par simulation numérique de cet applicateur sera détaillée dans un premier temps. Par la suite, une optimisation de la structure de l'applicateur sera proposée, afin d'obtenir une meilleure adaptation pour transmettre des impulsions ultracourtes. Plusieurs méthodes de connexion seront suggérées, dans le but d'introduire le nouvel applicateur dans un circuit électronique. Pour finir, des résultats de caractérisation fréquentielle par mesures expérimentales seront présentés.

III.2. État de l'art sur les applicateurs

Le choix d'un applicateur adapté est une étape cruciale dans toutes les applications des impulsions électriques ultracourtes à haute tension. En effet, selon la distribution du champ souhaité, la nature de l'exposition (*in vivo*, *in vitro* ou clinique), la taille et la profondeur des échantillons (pour les applications médicales et les traitements d'aliments par exemple) la configuration et la forme des applicateurs peuvent varier [254]. Globalement, il existe deux catégories d'applicateurs : en contact direct avec l'échantillon biologique (à base d'électrodes) et sans contact (cellule TEM, antenne, ...). Pour les effets qui nécessitent une intensité de champ électrique élevée, tels que l'électroporation ou l'ablation de tissus, les impulsions électriques sont généralement délivrées à la cible au moyen d'électrodes placées en contact direct avec l'échantillon biologique. L'utilisation d'une antenne pour transmettre, par rayonnement des PEF, conduit à des valeurs de champs électriques de faible intensité à l'intérieur des tissus, induisant des effets modérés tels que l'électrostimulation. Les antennes sont plus classiquement utilisées pour délivrer des signaux radiofréquences pour des applications médicales telles que l'hyperthermie [255].

Les principaux applicateurs utilisés dans les expositions aux PEF sont :

- 1- Les cuvettes d'électroporation
- 2- Les systèmes micro-fluidiques
- 3- Les applicateurs à électrodes planaires (non invasifs)
- 4- Les applicateurs à électrodes filaires / aiguilles
- 5- Les antennes ultralarge bande
- 6- Les cellules TEM

Les quatre premiers sont des applicateurs à contact direct et les deux derniers fonctionnent par rayonnement ou propagation et ne nécessitent pas de contact direct électrodes/échantillon.

III.2.1. Applicateurs en contact direct avec l'échantillon

Pour commencer, nous présentons dans cette partie les applicateurs en contact avec les performances et limitations de chaque type d'applicateur, ainsi que des exemples de leur utilisation.

III.2.1.1. Cuvettes d'électroporation (*Application in vitro*)

Les cuvettes d'électroporation sont parmi les applicateurs les plus utilisés dans les expérimentations *in vitro*. Ce dispositif est constitué de deux électrodes métalliques planaires placées dans un tube à section carré en plastique (Figure 65). Les électrodes sont connectées au générateur d'impulsion et à la masse respectivement [256]–[258]. Suite à l'application de PEF, le champ électrique généré dans une cuvette d'électroporation est uniforme et perpendiculaire aux deux électrodes. Les cuvettes sont commercialisées pour usage unique (stérile) et classiquement avec trois valeurs de distances interélectrodes : 1 mm, 2 mm et 4 mm. Selon cette distance, les cuvettes permettent l'exposition d'un volume de 100 μ l, 400 μ l ou 800 μ l, pour les 3 distances interélectrodes, permettant d'exposer un nombre important de cellules.

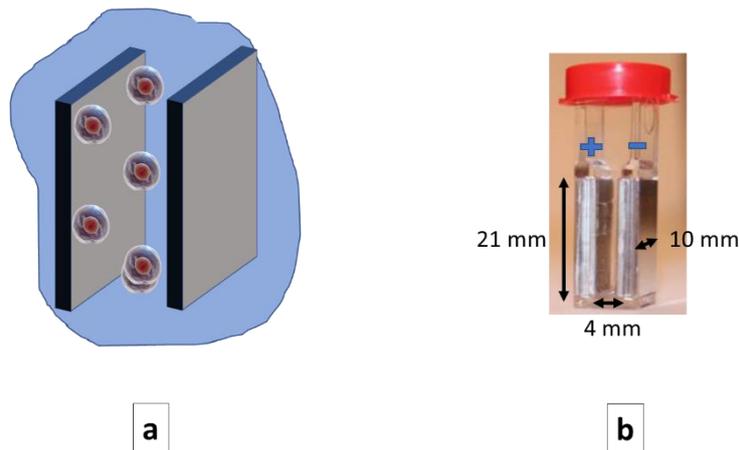


Figure 65 : (a) Illustration d'une cuvette d'électroporation avec des cellules à l'intérieur. (b) Cuvette d'électroporation de 4 mm d'épaisseur.

Dans [259] des cellules sont placées dans des cuvettes de 4 mm de distance interélectrode, pour les exposer à des impulsions électriques de 10 ns et d'intensité de champ variable entre 12.5 kV/cm et 50 kV/cm. De même, dans [260] une cuvette de 2 mm de gap a été utilisée pour exposer des cellules à des séries de 5 impulsions de 300 ns avec un champ variable entre 0 et 30 kV/cm. Cette intensité est obtenue en appliquant la relation tension/champ électrique :

$$E = \frac{V}{d} \quad (12)$$

où V est la tension maximale de l'impulsion appliquée en kV et d la distance interélectrode en cm.

En outre, dans [261], une cuvette de 1 mm de distance interélectrode a permis d'exposer différents types de cellules à plusieurs impulsions (allant de 1 à 20 impulsions) de 600 ns et de deux intensités différentes : 16.7 kV/cm et 27.7 kV/cm.

Des cuvettes similaires ont été utilisées par Pakhomov et ses collègues dans [256] pour exposer différents types de cellules à des séries de :

- 1- 0 à 2000 impulsions de 300 ns et 1.8 kV/cm
- 2- 0 à 200 impulsions de 9 μ s et de 0.75 kV/cm.

Plus récemment, Merla et al [262] ont également utilisé des cuvettes de 1 mm de gap pour assurer des expositions à des impulsions de 40 μ s de durée et d'amplitude de champ égale à 300 kV/cm.

L'un des inconvénients des cuvettes vient de la difficulté d'observation individuelle des cellules sous microscope durant l'exposition. En outre, des effets indésirables, tel que l'augmentation local du pH, le réchauffement par effet Joule et l'apparition des produits toxiques provenant des électrodes dans le milieu ont été observés. Ces effets peuvent être réduits en modifiant les conditions de manipulation, comme placer les cellules à une distance considérable des électrodes et éviter le contact direct des suspensions cellulaires avec les électrodes, placer la cuvette dans l'eau pour limiter l'augmentation de température et utiliser

des électrodes en Ag/AgCl [263]. L'utilisation des cuvettes d'électroporation est limitée aux expositions *in vitro*.

Pour exposer un plus grand nombre de cellules, une chambre d'électroporation à flux continu est proposée dans [264], permettant l'exposition de 20 ml dans un intervalle de temps inférieur à 5 minutes. Le dispositif proposé dans cette étude est présenté sur la Figure 66. Cependant, à la fin de l'expérience la totalité des cellules n'avait pas vu le même nombre d'impulsions. En effet, il a été observé qu'après exposition, certaines cellules avaient subi deux impulsions et d'autres manquaient de toute évidence d'exposition, alors que l'on s'attendait à avoir une impulsion par cellule. L'exposition n'est donc pas homogène, et la technique proposée reste moins efficace que l'électroporation dans les cuvettes classiques.

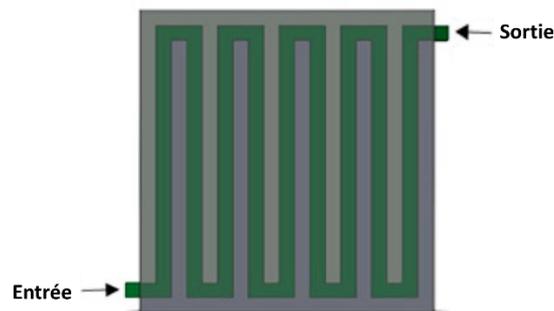


Figure 66 : Illustration de la chambre d'électroporation à flux continu proposée dans [264].

III.2.1.2. Systèmes microfluidiques (*Application in vitro*)

Les systèmes microfluidiques sont des dispositifs qui utilisent des canaux de taille micrométrique pour manipuler des fluides et des cellules. Ils sont utilisés dans un grand nombre d'applications, notamment la biotechnologie et la médecine.

Dans le contexte de l'électroporation, les systèmes microfluidiques offrent deux modes d'exposition cellulaire (l'exposition individuelle et l'exposition à flux de cellules) :

- 1- Les dispositifs microfluidiques unicellulaires reposent sur l'isolement d'une cellule individuelle, généralement retenue dans des microstructures de piégeage ayant des dimensions caractéristiques d'environ 2 à 10 μm . Une fois les pièges remplis, les cellules sont soumises à des impulsions électriques délivrées par des électrodes intégrées au dispositif. De nombreuses géométries d'applicateurs unicellulaires sont actuellement disponibles, fabriquées à partir de différents matériaux tels que le silicium, le verre et le polydiméthylsiloxane (PDMS). Ils varient en termes de coût et de complexité, mais tous reposent sur le même principe fondamental de piégeage cellulaire. Ces dispositifs permettant de contrôler les paramètres du champ électrique et de les optimiser en fonction de chaque cellule exposée (nature, taille, propriétés électriques, viabilité), assurant ainsi un taux d'efficacité d'exposition de 100 % [265]. Deux exemples de dispositifs d'électroporation microfluidique unicellulaire, fabriqués en verre/silice et en PDMS, sont présentés respectivement dans les parties (a) et (b) de la Figure 67.

Le premier dispositif était développé et utilisé par Rubinsky et al, dans [266] pour exposer des cellules de l'adénocarcinome prostatique humain ND-1 (cellules

cancéreuses dérivées des cellules glandulaires de la prostate) à des impulsions de 10 V / 100 ms. Un dispositif similaire a été utilisé dans [267] par les mêmes auteurs pour exposer des cellules de la même lignée cellulaire à des impulsions de 35 V / 100 ms et de 15 V / 100 ms, provoquant respectivement des électroporations irréversibles et réversibles.

Le deuxième dispositif a été utilisé par Khine et al. dans [268] pour exposer des cellules cervicales humaines à des impulsions de 6,5 ms et d'amplitude variable entre 0,1 V et 1 V. Des signes d'électroporation ont été observés pour une énergie de $0,76 \pm 0,095$ V. En effet, étant donné que les électrodes sont très proches les unes des autres et que les cellules peuvent être étroitement piégées, les tensions requises sont très faibles par rapport aux dispositifs conventionnels [266]–[268] tout en conservant un rendement élevé [125]. Enfin, la distribution du champ électrique à travers la cellule piégée peut facilement être modélisée en attribuant une forme sphérique aux cellules, étant donné que leurs positions dans le champ électrique sont bien définies. Cette méthode permet d'analyser plus précisément les réponses cellulaires à une stimulation extérieure, ce qui présente un grand intérêt dans le diagnostic et le traitement de certaines pathologies [265]. Cependant, l'inconvénient majeur de ces dispositifs réside dans leur niveau de complexité, car ils comprennent de multiples canaux avec des structures de piégeage de taille micrométrique et des électrodes intégrées. Par conséquent, leur fabrication implique des processus sophistiqués. Il est néanmoins important de noter que certains dispositifs récents, comprenant des réseaux de micro et nanopores en 2D, ont permis d'étendre le processus à des dizaines de milliers de cellules en parallèle.

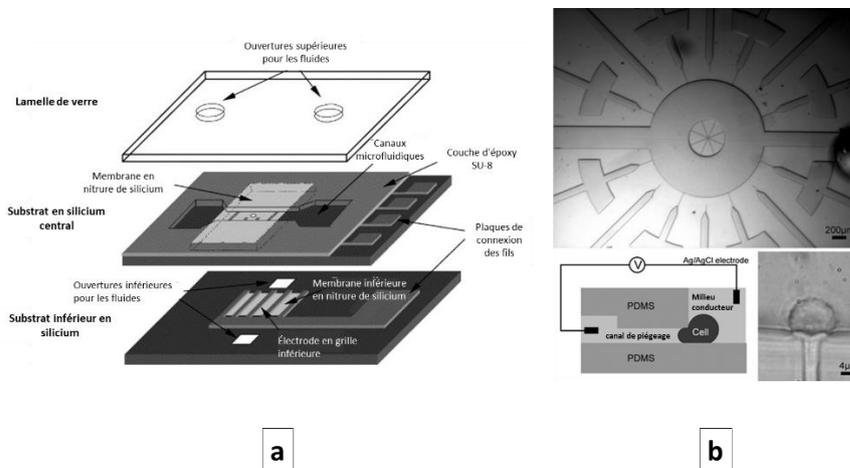


Figure 67 : Illustration de deux dispositifs microfluidique unicellulaire conçu avec du (a) verre/silice et du (b) PDMS ces dispositifs sont utilisés dans [266] et [268].

- 2- Dans les dispositifs à flux continu de cellules [269]–[272], une suspension cellulaire est perfusée en continu dans un microcanal, et les cellules sont exposées à des impulsions électriques au fur et à mesure qu'elles traversent le canal. Cette approche ne permet pas de traiter les cellules individuellement, mais elle offre la possibilité de manipuler des populations cellulaires plus importantes par rapport à la méthode d'exposition unicellulaire. De plus, les cellules peuvent être collectées à la sortie du dispositif pour

des études ultérieures. L'avantage principal des dispositifs à flux continu réside dans le débit de traitement cellulaire élevé et dans l'efficacité d'exposition, qui est aussi élevée que dans le cas des dispositifs à cellule unique, tout en maintenant une tension faible. Cependant, les paramètres des PEF ne peuvent pas être adaptés individuellement aux besoins de chaque cellule en raison de l'homogénéité d'exposition. Une autre limitation associée à ces dispositifs est la difficulté de modéliser avec précision la distribution du champ électrique à travers les cellules, car ces dernières conservent un certain degré de liberté dans leurs mouvements et leur orientation par rapport aux électrodes, sans oublier que le champ électrique n'est pas homogène sur toute la section du canal, la plupart du temps. Enfin, cette approche à flux continu n'est pas encore adaptée au traitement des cellules adhérentes, mais elle est plus appropriée pour l'exposition cellulaire à grande échelle.

En 2001, Lin et al. [273] ont utilisé un dispositif microfluidique à flux continu de cellules pour réaliser une transfection génique sur des cellules de la lignée cellulaire Huh-7. L'exposition a été effectuée avec des impulsions de 500 V/cm (tension de 10 V) d'une durée de 5 ms. Ils ont également étudié l'effet de la vitesse de flux cellulaire sur la viabilité des cellules. Une illustration du dispositif utilisé est présentée dans la partie (a) de la Figure 68.

En 2006, Wang [274] et ses collaborateurs ont réalisé une étude présentant une nouvelle méthode d'électroporation qui implique l'application d'une tension continue le long d'un microcanal dont la section varie. Le système a été utilisé pour réaliser une électroporation sur des cellules d'ovaire de hamster chinois (CHO) ayant des diamètres compris entre 10 et 16 μm . L'étude a examiné l'impact du champ électrique externe sur le comportement des cellules. En dessous de 400 V/cm, il n'y avait pas d'internalisation significative de la teinture ou de mort cellulaire. À 500 V/cm, environ 56 % des cellules ont été électroporées de manière réversible, avec la meilleure efficacité pour l'internalisation de la teinture se produisant à cette intensité de champ. La lyse cellulaire a commencé à 600 V/cm.

Enfin, plus récemment, Pfisterer et al. [275] ont utilisé un dispositif microfluidique pour réaliser une électroporation sélective. Les impulsions électriques appliquées avaient une durée de 100 μs et une intensité de 5 kV/cm, 7 kV/cm et 9 kV/cm. Pour obtenir ces intensités, des tensions d'amplitudes de 25 V, 35 V et 45 V, ont été utilisées avec un espacement des électrodes de 35 μm . Ils ont réussi à obtenir une électroporation hautement sélective avec une spécificité de plus de 90 %, à des taux d'électroporation moyens de plus de 50 % et à des débits allant jusqu'à 7200 cellules par heure.

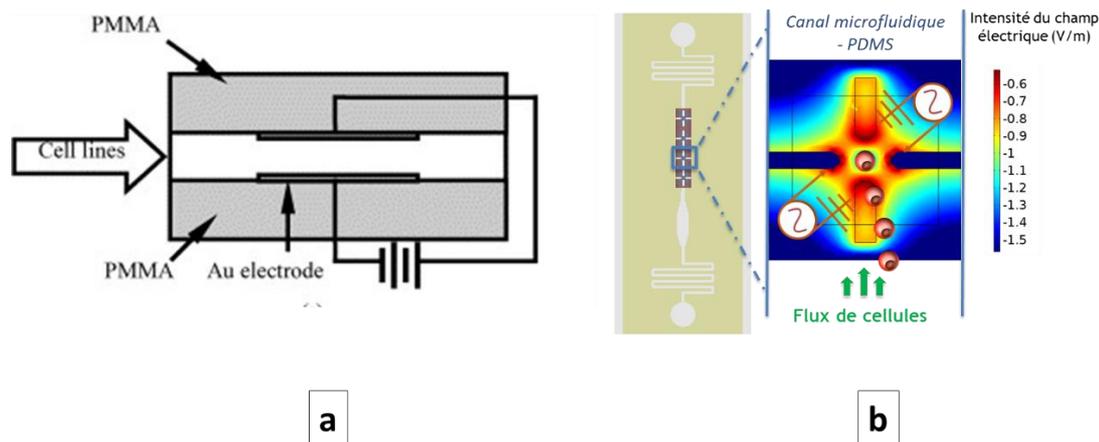


Figure 68 : (a) Dispositif utilisé dans [273] pour réaliser une exposition à flux continu de cellules et (b) représentation réelle d'un exemple de dispositif microfluidique à flux de cellules conçu et utilisé dans le laboratoire Xlim.

Pour résumer, les systèmes microfluidiques présentent plusieurs avantages par rapport aux cuvettes d'électroporation traditionnelles. Ils sont plus efficaces, car l'ensemble des cellules ciblées sont exposées aux impulsions souhaitées. Ils sont également compatibles avec des systèmes d'observation avancés, ce qui permet de suivre, en temps réel, les changements de l'état cellulaire. De plus, les effets secondaires observés sont moins intenses que lors de l'utilisation de cuvettes d'électroporation, car le champ électrique nécessaire pour obtenir les mêmes effets biologiques est moins intense dans ce cas. Cependant, les systèmes microfluidiques présentent également des limitations. Ils sont plus complexes et plus coûteux à fabriquer que les cuvettes d'électroporation traditionnelles. Ils sont également moins adaptés à l'exposition des cellules adhérentes et aux applications *in vivo* ou cliniques. Il est possible d'adapter les applicateurs microfluidiques de PEF pour travailler avec des cellules adhérentes, mais cela nécessite une conception minutieuse. En effet, l'applicateur doit être conçu de manière à permettre le déplacement des cellules adhérentes vers la zone d'électroporation tout en maintenant leur adhérence à la surface. Cela peut nécessiter une géométrie de canal spécifique et un revêtement de surface approprié pour maintenir l'adhérence cellulaire.

Les systèmes microfluidiques sont une technologie prometteuse pour l'électroporation. Ils offrent une efficacité, une précision et une sécurité améliorées par rapport aux cuvettes d'électroporation traditionnelles. Cependant, ils présentent encore des limitations qui doivent être surmontées avant qu'ils puissent être plus largement utilisés.

III.2.1.3. Appicateurs à électrodes planaires (*Application in vitro, in vivo* et clinique)

Les électrodes planaires font partie des applicateurs les plus utilisés dans les expositions cellulaires aux PEF. Leur géométrie est simple, elle est consistée de deux plaques métalliques rectangulaires placées en parallèle, désignant l'anode et la cathode. L'espacement entre les deux plaques est fixe pour la structure en plaques classiques. Ce type de dispositif est utilisé dans des études *in vitro* [141], [150], *in vivo* [276] et dans des applications cliniques [277], [278]. Il existe également des électrodes en forme de pince (tweezertrodes) permettant de régler la distance entre les deux plaques/électrodes [276].

Les électrodes planaires permettent l'observation, via un dispositif microscopique, de l'échantillon lors de l'exposition. Elles sont donc également considérées comme des applicateurs idéaux pour les études *in vitro* ou *in vivo* effectuées sur des échantillons de taille

réduite. En revanche pour les applications médicales, l'emploi des électrodes planaires peut poser plusieurs problèmes, comme la non homogénéité du champ généré dans les grandes cibles et la non accessibilité aux zones sous-cutanées.

Sur la Figure 69 sont illustrées les différents types d'électrodes :

- a- Sur la partie (a) de la figure est présenté un dispositif à deux électrodes à plaques parallèles. Les électrodes peuvent être construites en or, platinum ou tungstène.

Dans [278], deux électrodes à plaques parallèles ont été utilisées pour étudier l'effet du délai entre les impulsions unipolaires dans la nano-électrochimiothérapie. A cette fin, des séries d'impulsions de 3.5 kV/cm et de durées égales à 200 ns et 700 ns ont été appliquées à des cellules de carcinome pulmonaire LLC1 (cell lewis lung carcinoma).

- b- Les électrodes présentées sur cette partie de la figure sont généralement utilisées pour des études *in vitro*, comme dans [141], ou un dispositif à deux électrodes en acier inoxydable avec 300 µm de distance interélectrode, est utilisé pour transmettre des impulsions unipolaire, bipolaire et paire de 10 ns et de 5.7 kV avec différents délais entre les deux polarités d'une même impulsion. Dans [150] le même groupe de recherche a utilisé le même type d'électrodes pour transmettre n impulsions de 10 ns et 50 kV /cm (n étant le nombre d'impulsions, variable entre 1 et 500 impulsions). Le but était d'étudier l'effet de ces impulsions sur la membrane externe et la viabilité du modèle 3D (sphéroïde) de cellules d'un cancer colorectal humain (HCT – 116), cet article est la source de la partie (b) de la figure 69.

- c- La partie (c) représente des électrodes en forme de pince, ou des *tweezetrodes*. Ces électrodes sont utilisées dans les études *in vivo* ou en clinique. A titre d'exemple, dans [276] un tweezetrode dont le diamètre des électrodes est de 2 mm était utilisé pour envoyer des impulsions de 36 mV et de 50 ms à des souris pour manipuler deux populations neuronales spécifiques dans le cortex en développement. Un tweezetrode était également utilisé dans [279] pour exposer des têtes de souris à 5 impulsions de 80 V et de 50 ms.

Une autre forme d'électrode de pince a été utilisée dans [280] pour transmettre des impulsions de 100 ns et de 30 kV/cm à un modèle de cellules tumorales murines C3.43 transformées par le virus du papillome humain de type 16 (HPV 16).

- d- Pour surmonter le problème d'inhomogénéité du champ électrique généré entre les électrodes, des applicateurs à quatre plaques ont été introduits [281]. Ces derniers permettent d'exposer l'échantillon sous deux directions perpendiculaires et d'homogénéiser le champ créé dans les cellules cutanées. Dans [282], Heller et al, ont utilisé le dispositif présent sur la partie (d) de la figure pour transmettre des impulsions de 800 V/ cm et de 2 ms afin d'améliorer la pénétration de l'ADN plasmidique dans la peau.

- e- Les électrodes en forme de L constituent une autre sous-catégorie d'applicateur en plaque. Elles sont principalement utilisées pour le traitement des tumeurs cutanées de toutes tailles, et pour l'électroporation *in vivo* en thérapie génie et en l'électrochimiothérapie [109]. Elles sont également utilisées pour des expositions d'un petit nombre de cellules ou de sphéroïdes dans des applications *in vitro* [98]. Dans [283] Muramatsu et al. ont utilisé des électrodes en L pour exposer des embryons de poulet en

développement avec des impulsions de 25 V et de 50 ms pour leur « transférer » un gène.

- f- Les électrodes souples : ce dispositif contient deux électrodes cylindriques fines (0,1 mm). Il a été utilisé dans [284] pour appliquer des impulsions de 10 MV/m d'une durée égale à 2,5 ns et 5 ns sur des cellules de lymphoblastes T Jurkat, avec un taux de répétition de 1 kHz.

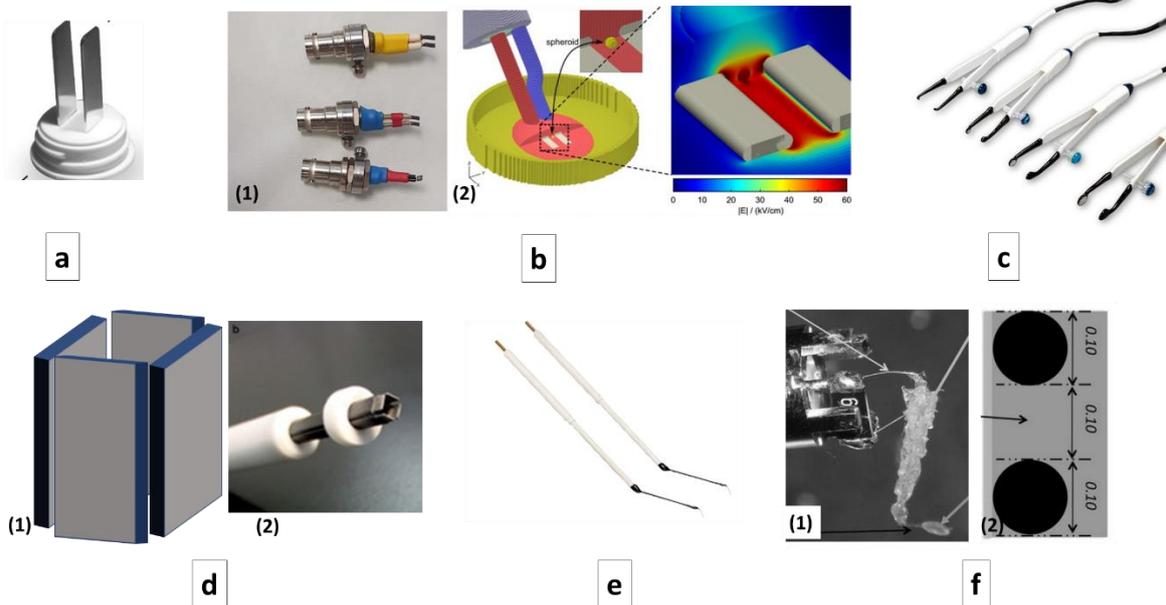


Figure 69 : Les électrodes en plaques non invasives : (a) électrode à deux plaques rectangulaires parallèles (forme classique) [106], (b) petites électrodes pour exposition *in vitro* d'un petit nombre de cellules : (1) électrodes utilisées à Xlim – Limoges, (2) représentation des électrodes, de la distribution du champ électrique entre les électrodes et du sphéroïde mentionné dans [150] ; (c) Electrodes en pince pour des applications *in vivo* et médicale [285] ; (d) électrode à quatre plaques : (1) représentation graphique, (2) dispositif utilisé dans [282] ; (e) électrodes en L d'après [286] ; (f) électrodes souple (1) vue de côté et (2) vue en face des électrodes, d'après [284].

III.2.1.4. Appicateurs à électrodes filaires/ aiguilles (*Application in vivo* et clinique)

Les applicateurs de type système à aiguilles sont souvent choisis pour leur capacité à pénétrer dans les tissus et sont utilisés dans les expériences *in vivo* ainsi que dans les applications cliniques pour des traitements en profondeur. Lorsque les électrodes sont partiellement recouvertes d'une couche isolante, elles peuvent traiter les cibles profondes et épargner les cibles superficielles, par exemple lors du traitement de tumeurs tout en protégeant la peau.

Les électrodes à aiguilles sont commercialisées sous six familles principales, illustrées sur la Figure 70:

- 1- Les électrodes à aiguille unique [287], [288], utilisées dans l'électroporation percutanée des tumeurs primaires et métastatiques non cutanées situées dans les os, les tissus mous et les organes parenchymateux. Dans [287], une électrode à aiguille unique a

été utilisée pour envoyer 100 impulsions de 100 μ s et de 1300 V afin de provoquer une IRE dans des cellules d'un cancer du sein implanté dans le tissu adipeux mammaire d'une souris.

- 2- Les électrodes réglables (5 à 40 mm) pour l'électroporation de tissus d'une profondeur allant jusqu'à 4 cm. La partie invasive de ces applicateurs est constituée d'aiguilles placées en configuration linéaire (rectangulaire) ou hexagonale [289]. Les parties apparentes des électrodes sont de longueur réglable. Cela permet de présélectionner la profondeur d'insertion des aiguilles dans le tissu et de maintenir leur alignement tout au long du processus d'exposition aux PEFs.
- 3- Les électrodes fixes (10, 20 ou 30 mm) sont composées d'une série d'aiguilles positionnées de façon linéaire ou hexagonale. Ces applicateurs ont été utilisés pour des expositions de tissus à un maximum de 3 cm de profondeur [290].

Les deux types d'applicateurs à plusieurs électrodes (aiguilles), réglables et fixes (parties (b) et (c) de la Figure 70 respectivement), ont le même principe d'utilisation. Dans [291], un applicateur à électrodes hexagonales était utilisé pour traiter, avec des séries de huit impulsions de 400 V – 730 V (0.9 – 1 kV/cm) et de 100 μ s, des sarcomes des tissus mous et métastatiques. Tandis que, dans [292] Suzuki et al, ont délivré à travers un applicateur à six électrodes linéaires, huit impulsions de 130 kV/m et 100 μ s avec une fréquence de répétition de 10 Hz, à des cellules cancéreuses. Enfin, les deux configurations d'électrodes, linéaire et hexagonale, ont été utilisées dans [290] pour transmettre des impulsions de 1 kV/cm et de 100 μ s avec les deux fréquences de répétition de 10 Hz et 5 kHz pour l'applicateur linéaire et 5 kHz uniquement pour l'applicateur hexagonal.

- 4- Les électrodes de doigts (ou *finger electrodes*) (5 ou 10 mm) [293], [294], sont des dispositifs médicaux de forme comparable à celle d'un dé à coudre en plastique, sur lequel sont fixées des aiguilles qui vont servir à transmettre les impulsions électriques. Utilisé pour le traitement de petites zones cutanées et de cavités anatomiques difficile d'accès, ces applicateurs sont commercialisés sous deux modèles qui se distinguent par l'orientation des aiguilles, orthogonale ou longitudinale. Avec ce dispositif, des séries de huit impulsions de 400 V [295], de 100 μ s ont été appliquées avec une fréquence de répétition de 5 kHz [296].
- 5- Les applicateurs endoscopiques/laparoscopiques sont utilisés lorsque la tumeur est interne, la procédure d'électroporation nécessite alors d'accéder aux lésions cancéreuses profondes sans faire une grande incision dans la peau. Un tel traitement est réalisé par une approche laparoscopique ouverte ou par une endoscopie à l'aide d'un cathéter [297]–[299]. Une analyse plus détaillée de ces deux solutions techniques est proposée.

Applicateur endoscopique : électrode endoscopique sous vide ou *Endoscopic vacuum electrode* (EndoVe) (partie (e) de la Figure 70). Il s'agit d'un dispositif à usage unique développé pour se fixer à un endoscope standard. La tête de ce dispositif est une chambre (d'environ 2,5 cm³) contenant deux électrodes plates (plaquées or) d'une épaisseur de 25 μ m, et connectée à un système sous vide pour aspirer les tissus tumoraux dans la chambre, permettant ainsi l'application d'un champ électrique. Il est utilisé pour le traitement des cancers gastro-intestinaux tels que le cancer de l'œsophage, le cancer de l'estomac, le cancer colorectal, etc... [300]. Une étude

préclinique publiée en 2016 a montré l'efficacité de l'EndoVe dans l'exposition des tissus de l'œsophage, de l'estomac et du côlon porcins à des impulsions d'intensité variable entre 0.5 kV/cm et 1.2 kV/cm [301]. Ensuite, en 2020 une première étude clinique sur des patients humains atteints de cancers colorectaux a été réalisée par Hansen et al, [302]. Dans cette étude, sept patients ont été soumis à des impulsions de 0.1 ms et de 1 kV/cm, avec une fréquence de répétition de 5 kHz. En amont de ces manipulations, la bléomycine (traitement anticancérigène) leur a été administrée par voie intraveineuse ou par voie intratumorale.

Applicateur laparoscopique : électrode à pince (ou *Stinger electrode*) (partie (f) de la Figure 70). Ce dispositif a été développée par IGEA (une entreprise spécialisée dans les dispositifs médicaux) et est dédié à l'approche laparoscopique/endoscopique. Il est équipé d'un long câble de connexion (20 cm) et de quatre électrodes à aiguilles extensibles positionnées à une distance fixe de 0,4 cm dans une géométrie carrée. La longueur totale de l'électrode à aiguilles est de 4 cm, avec une partie active à l'extrémité de 2 cm [303]. Il a été utilisé par Trovovsek et al, dans le cadre d'une électrochimiothérapie afin de traiter deux patients atteints de carcinome hépatocellulaire. Après l'administration intraveineuse de bléomycine, plusieurs séries d'impulsions électriques de 1 kV et de 100 μ s ont été délivrées à la totalité de la masse tumorale chez les deux patients [304].

- 6- Le réseau de microaiguilles (~0.2 mm) [305]–[307], est principalement conçu pour la diffusion transdermique de médicaments (partie (g) de la Figure 70). Le rôle des microaiguilles est d'agir sur les couches externes de la peau. Dans [308], une analyse de lyse des globules rouges *in vitro* a été réalisée afin de tester la fonctionnalité d'un système à microaiguilles. Trois types d'impulsions de 53 V, 108 V et 173 V ont été appliqués, chacune en utilisant (i) une impulsion avec une constante de temps de décroissance exponentielle égale à 0,5 ms, (ii) trois impulsions avec une constante de temps de 0,5 ms, et (iii) une impulsion avec une constante de temps de 1 ms. Dans cette même étude, des cellules cancéreuses prostatiques humaines DU145 ont été exposées à des impulsions de 11 V, 23 V, 37 V, et 50 V avec une constante de temps de 2,5 ms. Ces deux vagues d'expériences ont montré que les globules rouges et les cellules cancéreuses peuvent être électroporées de manière efficace avec le système de microaiguille.

Des applicateurs avec un grand nombre d'aiguilles (~50) sont également utilisés dans le traitement d'aliments, notamment pour extraire les jus de certains fruits comme dans [309].

La distribution du champ électrique transmis dépend de la forme de l'applicateur, notamment du nombre d'aiguilles, de leurs longueurs, de l'espacement entre elles et de leurs diamètres [310].

Grâce à la facilité de contrôle du champ électrique, et la grande variété de formes présentes sur le marché, les applicateurs à aiguilles sont aujourd'hui largement utilisés pour délivrer les impulsions électriques dans les expérimentations *in vivo*, et dans les applications cliniques.

Cependant, tous ces applicateurs sont majoritairement utilisés pour l'application d'impulsions de durées relativement longues, généralement en millisecondes et microsecondes, et ne permettent pas la transmission d'impulsions de très courte durée, de l'ordre de la nanoseconde. C'est pourquoi il est essentiel de développer un applicateur capable

de pénétrer dans le corps, d'atteindre des cibles profondes et ainsi de permettre la transmission d'impulsions de très courte durée.

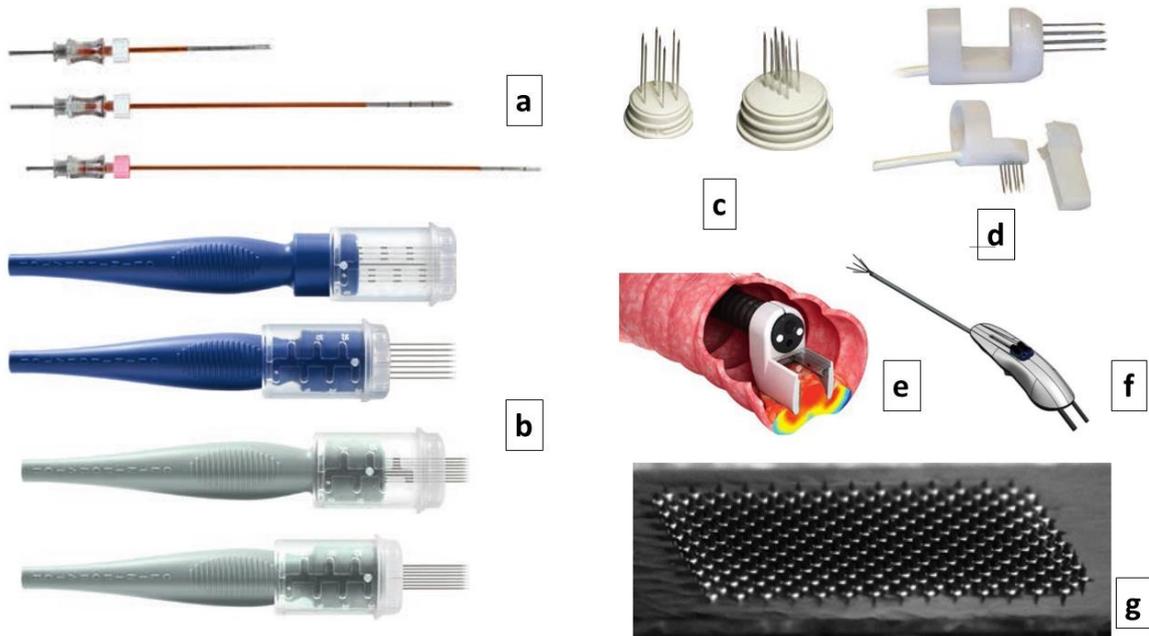


Figure 70 : les applicateurs invasifs : (a) à aiguille unique [311], (b) des applicateurs à aiguilles multiples de longueurs réglables dans deux configurations, linéaire et hexagonale [312], (c) les configurations, linéaire et hexagonale, des applicateurs à aiguilles multiples fixes [313], (d) les formes longitudinale et transversale d'électrodes à doigts [314], (e) applicateur endoscopique (EndoVe) [302], (f) applicateur laparoscopique (Sting electrode) [315] et (g) applicateur à microaiguilles [10].

III.2.2. Applicateurs sans contact direct avec l'échantillon

Deux exemples d'applicateurs seront présentés dans cette section : les antennes ultralarge bande et les cellules transverses électromagnétiques (TEM).

Les trois intérêts majeurs de l'utilisation d'un applicateur sans contact sont :

- 1- La capacité d'atteindre des cibles plus profondes et donc d'exposer des zones inaccessibles par les autres types d'applicateurs.
- 2- Minimiser et/ou éliminer les effets secondaires non désirés liés au contact entre l'échantillon et les électrodes.
- 3- Ces dispositifs permettent de transmettre des impulsions ultracourtes ($< 3\text{ns}$) et donc d'étudier leurs effets sur les cellules [316].

III.2.2.1. Antennes ultralarge bande

Les antennes ultralarge bande (ULB) ont la capacité d'émettre des signaux électriques impulsionnels. Elles offrent une méthode d'exposition cellulaire à distance, ce qui permet d'accéder à des zones plus profondes et de réduire éventuellement les effets indésirables produits lors d'une exposition par les électrodes en contact direct avec l'échantillon (effet Joule, présence d'ions toxiques). En plus, les antennes ULB sont capables de transmettre des impulsions électriques ultracourtes (subnanosecondes/ picosecondes) [317].

Plusieurs types d'antennes ont été développés afin d'exposer des cibles profondes aux impulsions subnanosecondes. Carl Baum en a proposé deux modes de fonctionnement :

- a- Une antenne émettrice d'impulsions ou *impulse radiating antenna* (IRA) fonctionnant dans l'air en combinaison avec une lentille diélectrique multicouche complexe [318], [319]. Pour ce dispositif, les calculs analytiques montrent que pour une tension d'impulsion appliquée de 100 kV, l'énergie du PEF au point cible était estimé à 12,8 kV/cm sans la lentille et 35 kV/cm avec la lentille de focalisation. En outre, dans [319], il a été démontré que ce type d'antenne est capable de transmettre des impulsions d'une durée aussi courte que 50 ps.
- b- Un réflecteur sphérique allongé [320], immergé dans de l'eau distillée ; en effet, l'eau distillée a une permittivité relative proche de celle du corps humain (80) [321], Cela permet de diminuer les pertes liées à la grande différence entre la permittivité relative de l'air (1) et celle de la cible [322]. Ce système est capable de générer un champ électrique de ~ 2 ns et de 50 kV/cm lorsqu'il est excité par une tension bipolaire de 650 kV d'amplitude crête à crête.

Ces deux dispositifs sont présentés sur la Figure 71, dans les deux parties (a) et (b).

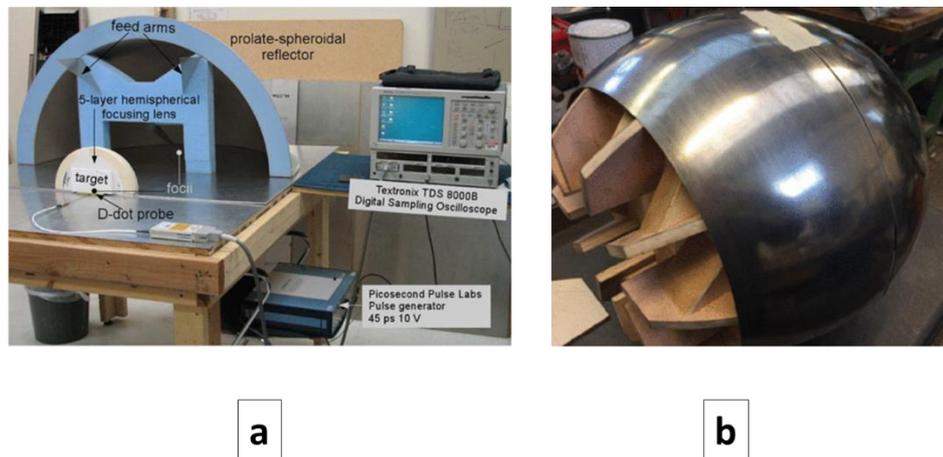


Figure 71 : (a) antenne émettrice d'impulsions (IRA) avec une lentille diélectrique complexe de cinq couches d'après [317], et (b) réflecteur sphérique allongé tel que présenté dans [320].

Les inconvénients majeurs des applicateurs à antennes résident dans leur incapacité à transmettre les champs de basses fréquences qui ne peuvent pas être rayonnés [153] et dans la présence de fortes pertes lors de la transmission des impulsions. Ces dispositifs ne sont donc pas complètement adaptés pour les applications biologiques nécessitant un champ électrique intense comme l'électroporation dans ses deux formes, réversible et irréversible. Néanmoins, ils peuvent être utilisés pour engendrer une électrostimulation [255].

III.2.2.2. Cellules TEM

Une cellule TEM (voir section II.8.3.1) assure une distribution uniforme du champ électromagnétique dans sa zone centrale. Elle est généralement utilisée pour déterminer les effets sanitaires induits sur le corps humain par les ondes émises par les appareils sans fils largement utilisés à ce jour (ex : téléphone mobile) [252], [323]. Cependant, une cellule TEM

peut être adéquate pour réaliser des expositions à des impulsions ultracourtes (< 3 ns) [316]. Lors de l'exposition, une cellule TEM est simplement alimentée par un câble coaxial standard, reliant l'une de ses extrémités au générateur d'impulsions (la source). La deuxième extrémité de la cellule TEM étant connectée, dans ce cas, à une charge adaptée de 50 Ohms.

En plaçant une boîte de Petri, remplie de cellules biologiques, dans la zone centrale de la cellule TEM, une exposition *in vitro* aux champs électromagnétiques peut être assurée [324]. Des expériences *in vivo* peuvent être également effectués en positionnant des cibles animales dans la zone centrale d'une cellule TEM [325], [326].

Dans [316] un système d'exposition utilisant une cellule TEM a été utilisé et s'est montré efficace dans la transmission des impulsions de 1.2 ns et 140 kV/cm à un milieu cellulaire placé dans une boîte de Petri (Figure 72).

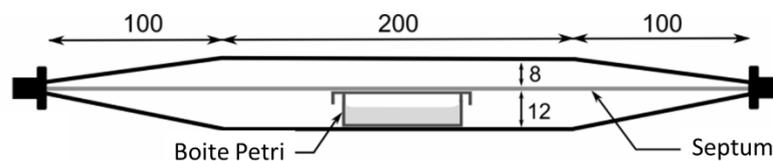


Figure 72 : Positionnement de la boîte de Petri dans une cellule TEM. Représentation adaptée de [316].

III.2.3. Conclusion sur l'état de l'art sur les applicateurs

Pour conclure, différentes familles d'applicateurs sont à présent utilisées dans les applications variées des PEF. A chaque famille d'applicateur on peut assimiler des avantages et des limitations. Les cuvettes d'électroporation permettent d'exposer un grand nombre de cellules en même temps et sont très simples d'utilisation, par contre, elles ne permettent pas d'observer les échantillons exposés lors de la manipulation et présentent des effets secondaires créés lors de l'interaction électrodes – cellules. Les systèmes microfluidiques sont plus complexes à mettre en place mais ils permettent un traitement unicellulaire, leur taux d'exposition peut donc s'élever à 100 %. Ces deux familles ne peuvent être utilisées que pour des expérimentations *in vitro*.

Les applicateurs à électrodes planaires sont largement utilisés dans les études *in vivo* et *in vitro*, alors que leur utilisation dans le domaine médical et en clinique reste principalement limitée aux expositions cutanées, vue que ce type d'applicateur est non invasif.

Les applicateurs à électrodes filaires sont utilisés pour passer à l'étape *in vivo* puis aux essais cliniques. Ils peuvent atteindre des cibles profondes et sont déjà utilisés à des fins thérapeutiques chez des patients atteints de différents types de cancers cutanés et gastro-intestinaux.

Enfin, les applicateurs sans contact, tels que les antennes et les cellules TEM, sont des dispositifs qui prennent de l'importance vis-à-vis de la mise en place des générateurs d'impulsions ultracourtes. Ils permettent d'éliminer certains effets secondaires qui résultent de la mise en contact des électrodes avec la cible et d'atteindre des zones inaccessibles avec d'autres applicateurs (cerveau). Cependant, ils sont limités par leur incapacité à transmettre les basses fréquences du spectre des impulsions et par des pertes importantes d'énergie lors de leur utilisation.

Dans ce qui suit, nous allons présenter un nouvel applicateur hybride optoélectronique permettant d'établir une exposition, via un endoscope, à des cibles profondes et d'observer en temps réel l'effet de cette exposition.

III.3. Applicateur optoélectronique

Dans cette partie, nous présentons une étude sur un nouvel applicateur hybride optoélectronique HybOE. Cet applicateur a été conçu et fabriqué à l'ICMCB à Bordeaux dans le cadre du projet de recherche ANR-TRAFIC. En réalité, il s'agit d'une fibre principalement destinée aux applications endoscopiques, qui devrait permettre d'obtenir des images plus détaillées des échantillons, de détecter des molécules à des concentrations plus faibles et d'effectuer des analyses plus rapidement. Autrement dit, la qualité du diagnostic des échantillons biologiques ou chimiques sera améliorée grâce à une technique d'optique non-linéaire, la microspectroscopie Electro-CARS (spectroscopie Raman anti-Stokes cohérente), produite dans une fibre optique multimodale classique (MMF) placée au centre de ce dispositif.

L'objectif de cette étude est d'investiguer la possibilité d'exposer des échantillons biologiques aux PEF à travers deux électrodes cylindriques placées de part et d'autre de la fibre multimodale centrale, de manière équidistante et symétrique. La combinaison des deux aspects électrique et optique forme l'applicateur optoélectronique complet, illustré sur la Figure 73.

La couche externe du dispositif est de diamètre total de 620 μm et est faite en polyéther sulfone (PES). La MMF centrale est constituée de deux couches distinctes nommées gaine et cœur. La gaine de diamètre externe égale à 125 μm est faite de silice dopée par du fluor et enrobe le cœur de diamètre égal à 50 μm constitué de silice pure. D'un côté et de l'autre de la fibre multimodale centrale, deux électrodes cylindriques en étain (Tin, symbole Sn) sont insérées à une distance de 175 μm du centre de la fibre et 350 μm entre les centres des électrodes. Le diamètre de chaque électrode est égal à 50 μm [327]. La longueur totale de l'échantillon de fibre à notre disposition est de 50 mm.

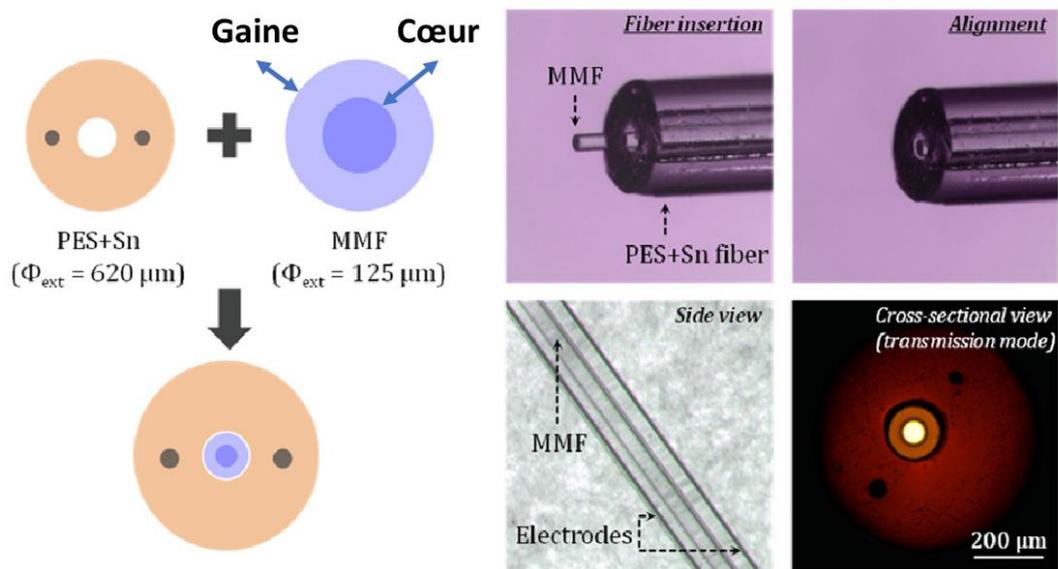


Figure 73 : Structure de l'applicateur optoélectronique fabriqué à l'ICMCB de Bordeaux [327].

L'objectif est de tester les capacités des électrodes intégrés dans la fibre à transmettre les impulsions électriques. En tant qu'applicateur, les intérêts d'utilisation d'un tel dispositif sont :

- 1- Un faible diamètre de fibre, conduisant à un endommagement minime lors de l'introduction dans les tissus.
- 2- Une flexibilité de la fibre qui permet d'atteindre des zones profondes et difficiles d'accès par d'autres applicateurs.
- 3- Un couplage entre les deux aspects optique et électronique qui permet, par effet d'optique non linéaire, de reconstruire l'image de la cible à tout moment. Ceci offre la possibilité de réaliser un diagnostic préexposition, de regarder les effets des impulsions sur les cibles en directe et de vérifier, la bonne résorption des tumeurs post exposition.

Dans un premier temps, nous réaliserons une modélisation et une caractérisation fréquentielle du dispositif pour tester sa capacité à transmettre des spectres associés aux impulsions électriques ultracourtes, en effectuant des simulations numériques. Ensuite, nous modifierons la géométrie de la fibre/applicateur afin d'optimiser l'adaptation entre les composants du circuit et garantir un bon niveau de transmission des impulsions électriques générées vers les cibles concernées.

III.3.1. Modélisation numérique

Les simulations se dérouleront en trois parties. Dans un premier temps, nous allons modéliser la structure sous CST, la caractériser d'un point de vue électromagnétique et ensuite faire une étude paramétrique. La deuxième partie visera à obtenir, en modifiant la géométrie de la fibre, une impédance optimale de 50 Ohms, adaptée au générateur, aux connecteurs et aux autres composants du circuit, et des paramètres S visant une faible réflexion et une bonne transmission des impulsions. Enfin, nous étudierons les possibilités de la mise en place d'un circuit connectant la fibre aux deux extrémités afin de l'intégrer dans la chaîne d'exposition allant du générateur jusqu'à la cible. Les résultats de simulation numérique seront comparés aux mesures expérimentales.

III.3.1.1. CST suite studio

L'outil choisi pour la modélisation est CST suite studio [328], un logiciel de calcul et d'analyse des problèmes électromagnétique 3D de haute performance. Il permet, en résolvant les équations de Maxwell, de prédire le comportement du système modélisé vis-à-vis d'une excitation extérieure. L'utilisateur sera capable d'optimiser la performance de ses composants pour s'approcher d'avantage des performances escomptées. En passant par cette étape, des économies sur l'échelle temporelle et financière sont faites en écourtant les cycles de développement et en réduisant le nombre de prototypes physiques nécessaires avant la mise en production de certains produits.

Les sujets les plus abordés sous CST sont l'efficacité des antennes et des filtres, l'étude de l'adaptabilité des composants des circuits électroniques et le comportement d'un système biologique irradié par un champ électromagnétique [329]. A cet effet, une vaste librairie de matériaux est mise à disposition sur CST, ainsi que des nombreux solveurs généraux qui utilisent différentes méthodes de discrétisation de l'espace telle que la méthode

des éléments finis (FEM) la matrice des lignes de transmissions (TLM) et la technique d'intégration fini (FIT) [330].

III.3.1.2. Construction du modèle 3D de l'applicateur optoélectronique

Le but de cette section est de décrire les étapes de modélisation de l'échantillon de fibre à disposition dont la composition et les dimensions sont illustrées sur la Figure 73.

Partie externe - polyéther sulfone (PES)

La couche externe est constituée d'un cylindre creux en PES, de 150 μm de diamètre interne et 620 μm de diamètre externe. Le PES ne faisant pas partie des composants prédéfinis sur CST, il a été ajouté à la bibliothèque des matériaux avec permittivité relative de 3 [331].

La fibre optique multimodale (MMF) centrale

La fibre multimode centrale est formée d'un cœur de silice pure de diamètre 50 μm , entouré par la gaine, qui est une couche cylindrique de silice dopée au fluor, de diamètre externe égale à 125 μm . La silice pure et la silice dopée possèdent des permittivités relatives de 4.4 et 2.6, respectivement [332]. Cette fibre est collée au centre du PES par une couche d'époxy, ayant une épaisseur de 12.5 μm et une permittivité relative égale à 4 [333].

Les électrodes

Deux cylindres ont été créés dans la couche externe du PES de part et d'autre de la fibre MMF pour y insérer les électrodes. Le diamètre de chaque électrode est de 50 μm et la distance qui les sépare est de 300 μm . Les électrodes en étain présentent une conductivité de $8.7 \cdot 10^6 \text{ S/m}$.

D'un point de vue de la simulation numérique, la structure complète est alimentée par des ports de type guide d'onde de section carrée, couvrant la totalité des surfaces des deux extrémités circulaires de la fibre 620 \times 620 μm . La structure de la fibre ainsi que les deux ports qui constituent le guide d'onde sont illustrés sur la Figure 74. Les ports sont représentés par les deux carrés rouges situés sur les deux faces circulaires de la fibre.

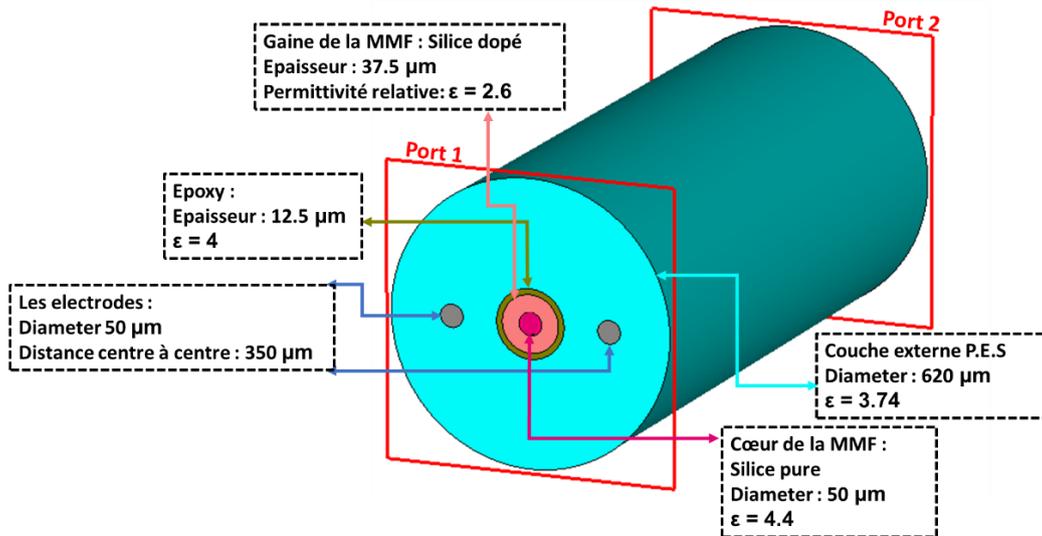


Figure 74 : Modélisation de la structure de l'applicateur optoélectronique ; les dimensions et les caractéristiques des différents éléments sont aussi présentées. Les ports sont représentés par deux carrés rouges délimitant les deux extrémités de la fibre.

A la fin de la simulation électromagnétique, les paramètres S sont extraits. Ensuite, à partir du coefficient de réflexion S_{11} , l'impédance Z du système est calculée en se basant sur la relation suivante :

$$Z = Z_0 \frac{1 + S_{11}}{1 - S_{11}} \quad (13)$$

où Z_0 est l'impédance caractéristique du port d'alimentation et dans notre cas sa valeur est prise égale à 50 Ohms.

Modélisation préliminaire

Une première modélisation a été effectuée pour une fibre de longueur égale à 1.5 mm. Nous avons choisi cette longueur, inférieure à la taille réelle de la fibre (5 cm) pour pouvoir optimiser les simulations et éviter des temps de calcul trop importants, le choix de cette longueur peut également donner une idée sur le comportement d'un applicateur de plus petite dimension (< 1 cm). Nous sommes conscients du fait que ce choix pourra affecter la fiabilité des résultats, nous présenterons plus tard des résultats de simulations effectuées en respectant la longueur réelle de la fibre.

Les quatre graphes de la Figure 75 montrent les premiers résultats de la simulation. Étant donné que le dispositif est symétrique ($S_{11} = S_{22}$) et réciproque ($S_{21} = S_{12}$) d'un point de vue électromagnétique par rapport aux deux ports d'excitation, seuls les paramètres S_{11} et S_{21} sont présentés. Les deux parties réelle et imaginaire de l'impédance Z , présentées dans la Figure 75 c) et d), sont calculées à partir de la grandeur complexe S_{11} .

Comme nous pouvons le constater sur la Figure 75, le paramètre S_{11} atteint -10 dB (10% de puissance réfléchi) pour une fréquence égale à 3.4 GHz. En ce qui concerne la transmission, le coefficient S_{21} est supérieur à -1 dB (90% de puissance transmise) sur toute la bande de fréquences s'étalant de 0 à 5 GHz. Le dispositif est bien adapté pour transmettre

des impulsions de durées supérieures à environ 300 ps. Nous pouvons également constater qu'à très basse fréquence, l'impédance du dispositif est égale à 50 Ohms. Cette valeur augmente au fur et à mesure lorsque nous augmentons la valeur de la fréquence pour atteindre 56 Ohms à 5 GHz.

Nous avons tracé la partie imaginaire de l'impédance (d) de cette même figure. En effet, l'impédance est une grandeur électrique représentée par un nombre complexe. Les deux parties réelle et imaginaire de l'impédance sont appelées la résistance et la réactance respectivement. L'impédance Z peut donc être exprimée de la façon suivante :

$$Z = R + jX \quad (14)$$

où R est la résistance et X la réactance.

La réactance peut être inductive ou capacitive. Une réactance inductive est positive, elle est due à l'inductance d'un composant électrique, elle lui permet de stocker de l'énergie magnétique. La réactance capacitive est négative. Elle est due à la capacité, c'est la propriété qui permet à un conducteur électrique de stocker de l'énergie électrique.

La bonne adaptation de notre structure est essentiellement due au fait que la longueur de la fibre est limitée à 1.5 mm, ce qui introduit une très faible désadaptation, vis-à-vis du port de l'impédance caractéristique du port de sortie (50 Ohms). Cela signifie que la fibre peut présenter une impédance caractéristique différente de 50 Ohms. Ceci peut être illustré sur les variations de la résistance et surtout de l'inductance de l'impédance Z . Le temps total pris pour accomplir cette simulation était de 2 heures environ.

III.3.1.3. Études paramétriques

Dans cette section, trois études paramétriques seront réalisées pour quantifier l'influence des différents paramètres de modélisation et du dispositif optoélectronique sur les résultats des simulations et sur le temps de calcul. Les trois paramètres étudiés sont :

- 1- La permittivité relative des composants de la fibre MMF.
- 2- Le métal constituant les électrodes.
- 3- Le solveur de calcul CST.

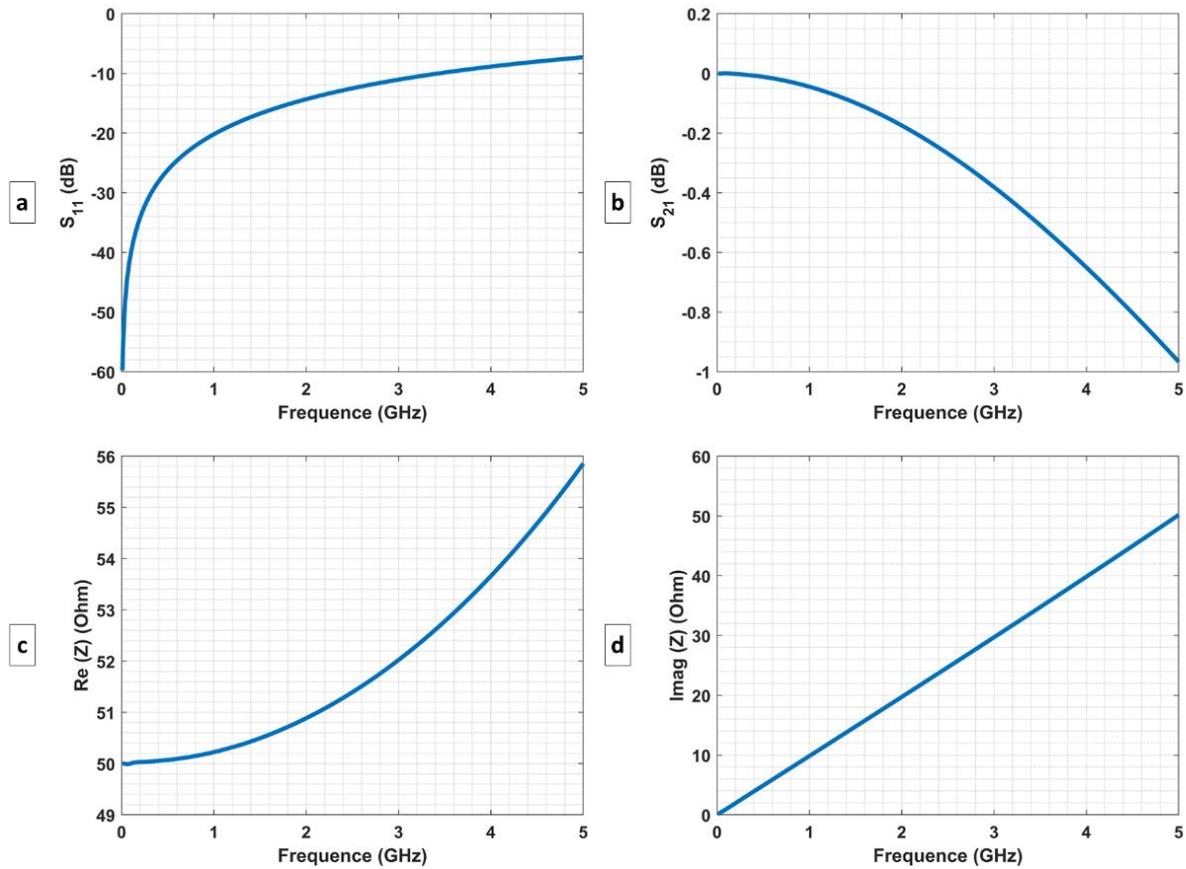


Figure 75 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{22} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre.

Influence de la permittivité du diélectrique qui compose la MMF

Une première approximation, qui peut contribuer à la diminution du temps de calcul, consiste à considérer la fibre centrale, ainsi que l'époxy qui l'entoure, comme un seul cylindre uniforme et homogène, constitué d'un seul composant diélectrique. Nous avons testé plusieurs valeurs de permittivité relative associées à la MMF homogène en passant de 3.4 à 4.9 par pas de 0.3. Nous avons obtenu la valeur minimale de 3.4 en moyennant les trois valeurs de permittivité relative de l'époxy, la gaine (silice dopé) et le cœur (silice pure) tout en respectant les rayons de surface de chaque composant selon :

$$\begin{aligned}
 ES_{min} &= \frac{(D_{\text{époxy}} \times \epsilon_{\text{époxy}} + D_{\text{gaine}} \times \epsilon_{\text{gaine}} + D_{\text{cœur}} \times \epsilon_{\text{cœur}})}{(D_{\text{époxy}} + D_{\text{gaine}} + D_{\text{cœur}})} \quad (15) \\
 &= \frac{(2.6 \times 75) + (4.4 \times 50) + (4 \times 25)}{150} = 3.4\bar{3} \sim 3.4
 \end{aligned}$$

Où ES_{min} est la valeur minimale de la permittivité relative du cylindre uniforme regroupant la MMF et l'époxy. $(D_{\text{époxy}}, D_{\text{gaine}}, D_{\text{cœur}})$ et $(\epsilon_{\text{époxy}}, \epsilon_{\text{gaine}}, \epsilon_{\text{cœur}})$ sont les épaisseurs et les permittivités relatives de l'époxy, de la gaine et du cœur.

La valeur supérieure était obtenue en rajoutant 1.5 à la valeur minimale afin de vérifier que même pour des conditions extrêmes et irréalistes, cette valeur n'affectera pas les résultats des simulations.

Les valeurs des coefficients S_{11} et S_{21} pour toutes les permittivités testées sont superposées sur la Figure 76. Nous n'avons pas tracé les impédances car ces dernières sont calculées à partir de S_{11} . Donc concrètement si S_{11} reste intacte, les variations de l'impédance seront également négligeables.

Il en ressort que la permittivité relative de la fibre centrale n'affecte pas les résultats de paramètres S. Par la suite, nous avons fait le choix de considérer une fibre centrale de permittivité relative 3.7, qui correspond à la valeur moyenne des permittivités relatives de tous les composants.

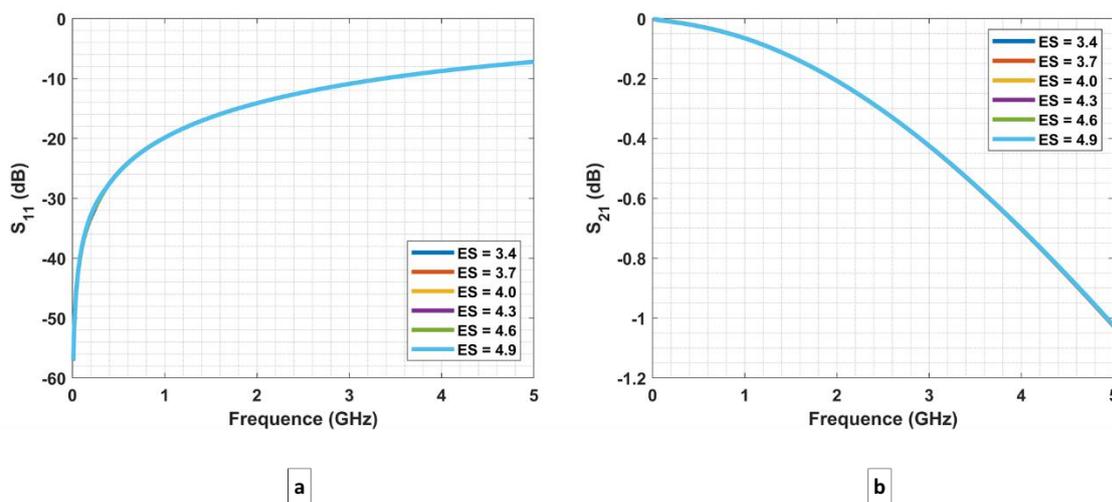


Figure 76 : Les paramètres S pour plusieurs valeurs de la permittivité relative du diélectrique (silice) composant la fibre centrale, a) S_{11} et b) S_{21} .

Influence du type de métal constituant les électrodes

Dans un deuxième temps, nous avons étudié l'influence du type de métal constituant les électrodes en remplaçant l'étain (conductivité électrique de $8.7 \cdot 10^6$ S/m) par du métal conducteur électrique parfait PEC (perfect electric conductor). Ce dernier est prédéfini et son utilisation permet d'éliminer le temps consacré au calcul des pertes lors de la propagation des impulsions électriques le long du métal qui compose les deux électrodes.

Une comparaison (Figure 77) entre les électrodes en étain et en PEC a été effectuée pour montrer les effets de ce changement sur les résultats des simulations. La différence entre les deux métaux est négligeable sur le coefficient de réflexion S_{11} au port 1 (Figure 77 a) et est relativement faible (6.2% à 5 GHz entre -1.03 dB pour le Tin et -0.97 dB pour le PEC) en transmission S_{21} (Figure 77 b).

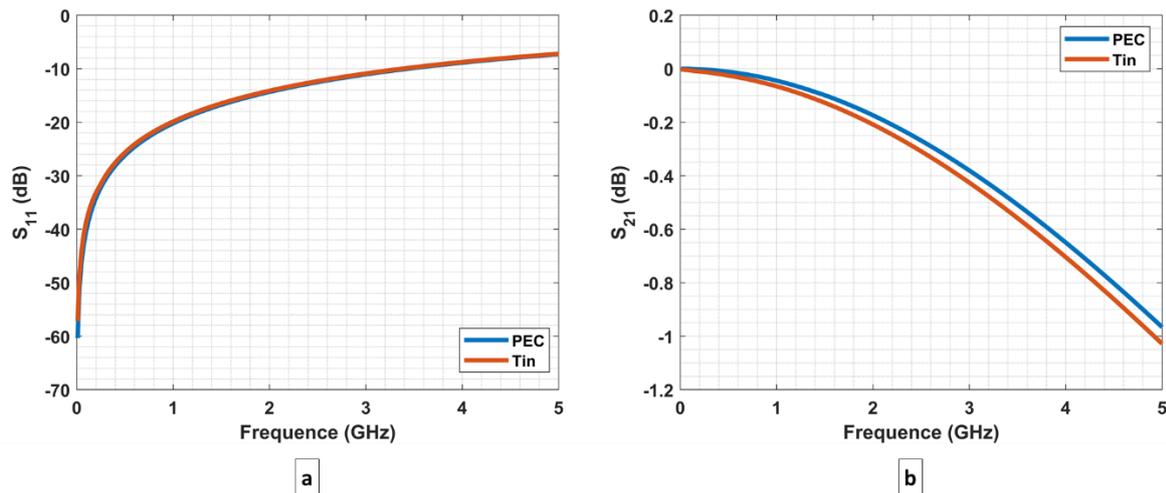


Figure 77 : Les paramètres S pour les électrodes en étain et en PEC, a) S_{11} et b) S_{21} .

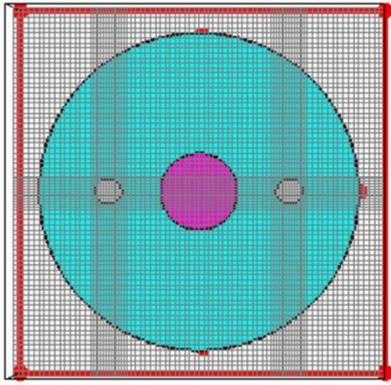
Influence du type de solveur électromagnétique

Pour finir, le passage du solveur dans le domaine temporel (time domain solver) au solveur dans le domaine fréquentiel (frequency domain solver) a été testé.

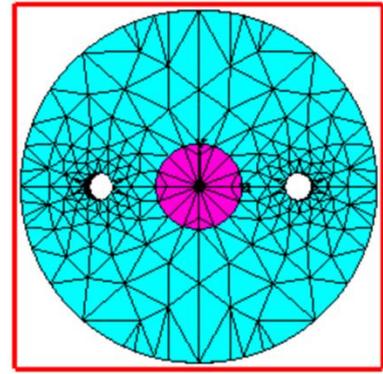
La principale différence entre les solveurs en domaine temporel et en domaine fréquentiel dans CST est la manière dont ils représentent le champ électromagnétique.

- Les solveurs en domaine temporel représentent le champ électromagnétique en fonction du temps. Ils sont basés sur la méthode des différences finies (MFD), qui divisent l'espace en une grille de cellules (maillage hexaédrique) et résolvent ensuite les équations de Maxwell dans chaque cellule. C'est une méthode relativement simple, mais elle peut être coûteuse en termes de temps de calcul [330].
- Les solveurs en domaine fréquentiel représentent le champ électromagnétique en fonction de la fréquence. Ils sont basés sur la méthode des éléments finis (MEF). La MEF divise l'espace en un maillage d'éléments (maillage tétraédrique) et résolvent ensuite les équations de Maxwell dans chaque élément. C'est une méthode plus complexe, mais elle est mieux adaptée pour la résolution des problèmes plus grands en comparaison avec la MFD [330].

Les solveurs en domaine temporel sont plus précis que les solveurs en domaine fréquentiel, mais ils sont également plus coûteux en termes de temps de calcul. Les deux types de maillage, hexaédrique et tétraédrique utilisés dans les solveurs temporel et fréquentiel sont présentés sur les deux parties a) et b) de la Figure 78.



a

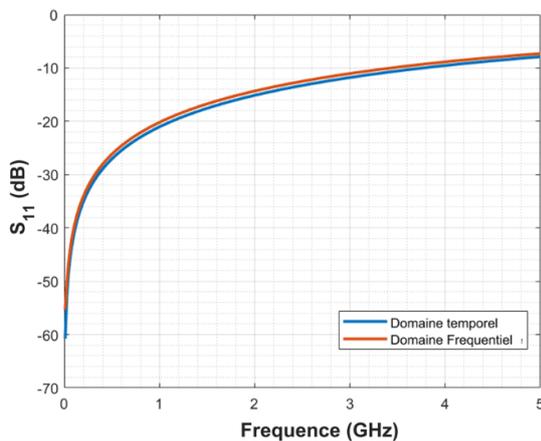


b

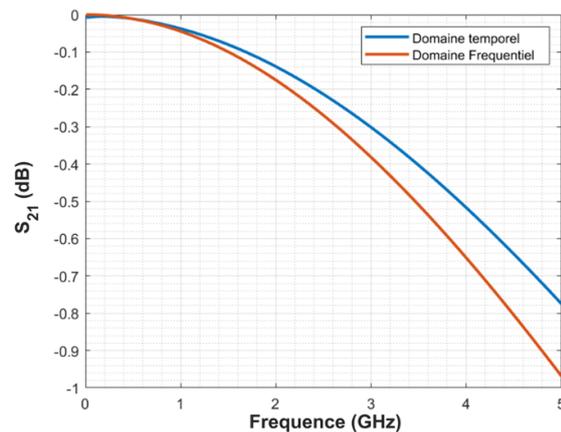
Figure 78 : Les deux types de maillage a) hexaédrique utilisé dans les solveurs temporels et b) tétraédrique utilisé dans les solveurs fréquentiels.

Comme nous pouvons le constater sur la Figure 78, le maillage tétraédrique peut s'adapter à la géométrie cylindrique de la structure. En utilisant ce type de maillage, nous aurons besoin de moins de cellules pour définir le système proprement. Le solveur fréquentiel sera donc moins coûteux en termes de calcul dans notre cas.

Les résultats de simulations effectuées avec les deux solveurs, temporel et fréquentiel, sont tracés sur les deux parties (a) et (b) de la Figure 79. Nous constatons sur cette figure que le changement de solveur entraîne un léger décalage dans les résultats des simulations en particulier sur le coefficient de transmission. En effet, à partir de 1 GHz (Figure 79 b) le décalage entre les solveurs temporel et fréquentiel augmente (différence d'environ 0.2 dB à 5 GHz). Cette différence peut être interprétée par les limites du maillage hexaédrique (dans le domaine temporel) aux courbes de la structure simulée.



a



b

Figure 79 : Les paramètres S sont obtenus après résolution avec les deux solveurs temporel et fréquentiel, a) S_{11} et b) S_{21} .

Conclusion sur les trois études paramétriques

Nous avons constaté qu'en adoptant certains changements comme le regroupement de la MMF et l'époxy dans un cylindre homogène et en remplaçant les électrodes en étain par d'autres en PEC, nos temps de calcul sont passés à 22 minutes à la place de 2 h et à 5 minutes à la place de 20 minutes, dans le domaine temporel et fréquentiel, respectivement. Nous avons également noté que le solveur temporel est beaucoup plus coûteux en termes de calcul et est moins précis en ce qui concerne le maillage de la structure. En se basant sur ces observations, nous avons décidé, pour ce qui suit, d'adopter les changements mentionnés et d'effectuer les calculs avec le solveur dans le domaine fréquentiel.

III.3.1.4. Optimisation de la structure

Pour obtenir un niveau de transmission optimal dans un circuit électrique, il faut adapter les impédances de ses composants entre elles. La valeur d'impédance caractéristique la plus adoptée dans la fabrication des lignes de transmission est de 50 Ohms ce qui correspond à un bon compromis entre un bon niveau de puissance transmise et une faible perte pour un câble de taille donnée. Le but de cette partie est de faire varier la géométrie du dispositif optoélectronique, afin de s'approcher au mieux d'une impédance caractéristique de 50 Ohms.

Les dimensions des fibres multimodales sont standardisées et la symétrie de l'échantillon doit être respectée [327]. Les changements effectués portent sur les paramètres géométriques définissant les électrodes comme leur rayon (RE), la distance (D) qui les sépare et leur nombre.

Ces trois variations sont illustrées sur la Figure 80 : la flèche jaune indique le diamètre d'une électrode, cette valeur correspond au double de celle de RE. Par une flèche noire est indiquée la distance D de séparation entre les électrodes, et enfin, avec des cercles pointillés sont représentés les positions des électrodes supplémentaires que nous pouvons ajouter.

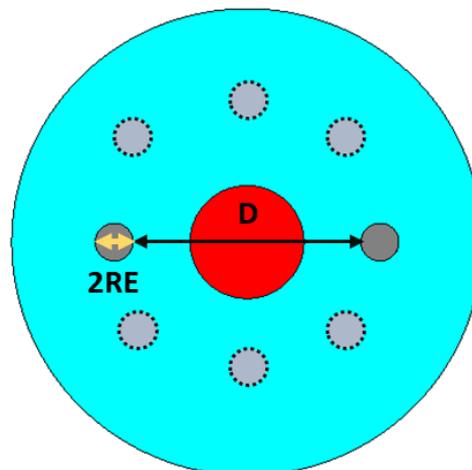


Figure 80 : illustration des deux grandeurs RE (flèche jaune) et D (flèche noire) par rapport à la fibre HybOE et les positions potentielles pour l'ajout des électrodes supplémentaires représentés par des cercles pointillés.

Nous appliquerons, au début, les changements sur la structure de longueur égale à 1.5 mm afin de déterminer le sens d'évolution de l'impédance du système pour chaque

modification effectuée. Ensuite nous réaliserons les mêmes tests pour une fibre à taille réelle (longueur égale à 5 cm).

III.3.1.4.1. Fibre de courte longueur - 1.5 mm

Influence du rayon des électrodes

Les électrodes sont les seuls éléments conducteurs dans le dispositif. La variation de leur volume par rapport au volume total de la structure affectera, potentiellement, les paramètres de diffusion ainsi que la valeur de l'impédance caractéristique du système. En fonction de la variation de ces grandeurs électriques, le système pourra être plus ou moins adapté aux autres composants du circuit.

Nous avons réalisé une étude quantitative, montrant l'effet de la variation du rayon des électrodes sur la valeur de l'impédance de notre échantillon. Pour ce faire, nous avons attribué au rayon des électrodes RE, une valeur variable entre 20 μm et 40 μm avec un pas de 5 μm . La Figure 81 montre, à titre comparatif, la forme de la fibre pour trois valeurs différentes de RE : 20 μm , 30 μm et 40 μm dans les parties (a), (b) et (c), respectivement.

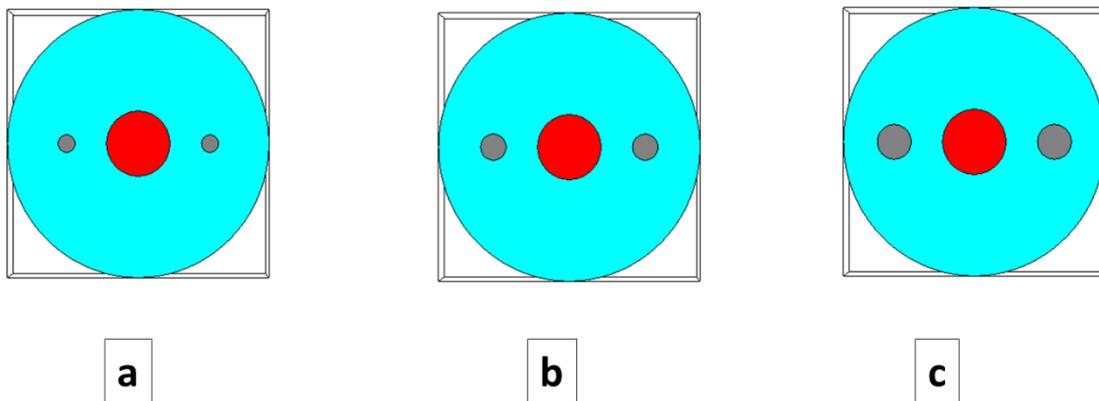


Figure 81: Géométrie avec variation du rayon des électrodes RE entre a) 20 μm , b) 30 μm et c) 40 μm .

Les résultats de ces simulations sont reportés sur les quatre graphes de la Figure 82. Les coefficients S_{11} et S_{21} sont présents sur les deux parties (a) et (b) de la figure, alors que les deux parties (c) et (d) sont consacrées à la représentation des valeurs réelles et imaginaires de l'impédance Z .

Nous pouvons constater que l'augmentation du rayon des électrodes entraîne à 5 GHz une légère augmentation du S_{11} (-6,7 dB à 20 μm et -8,9 dB à 40 μm) et une diminution dans le coefficient S_{21} (-0,66 dB à 20 μm et -1,1 dB à 40 μm). D'autre part, nous avons remarqué une légère diminution de la valeur réelle de l'impédance de la ligne, qui reste à 55 ohms même si RE passe de 20 μm à 40 μm . Cette variation est très légère et elle n'est pas suffisante pour atteindre 50 ohms pour les hautes fréquences.

La partie imaginaire de l'impédance, reliée à la réactance inductive, a été le plus affectée par cette variation. En effet, sa valeur a variée au maximum de 55 ohms à 40 ohms (à 5 GHz) lorsque RE est passée de 20 μm à 40 μm . Cette différence correspond à 28 %, et elle montre que lorsque le rayon des électrodes est plus important, le système s'éloigne de 50 ohms (plus de réflexion et moins de transmission).

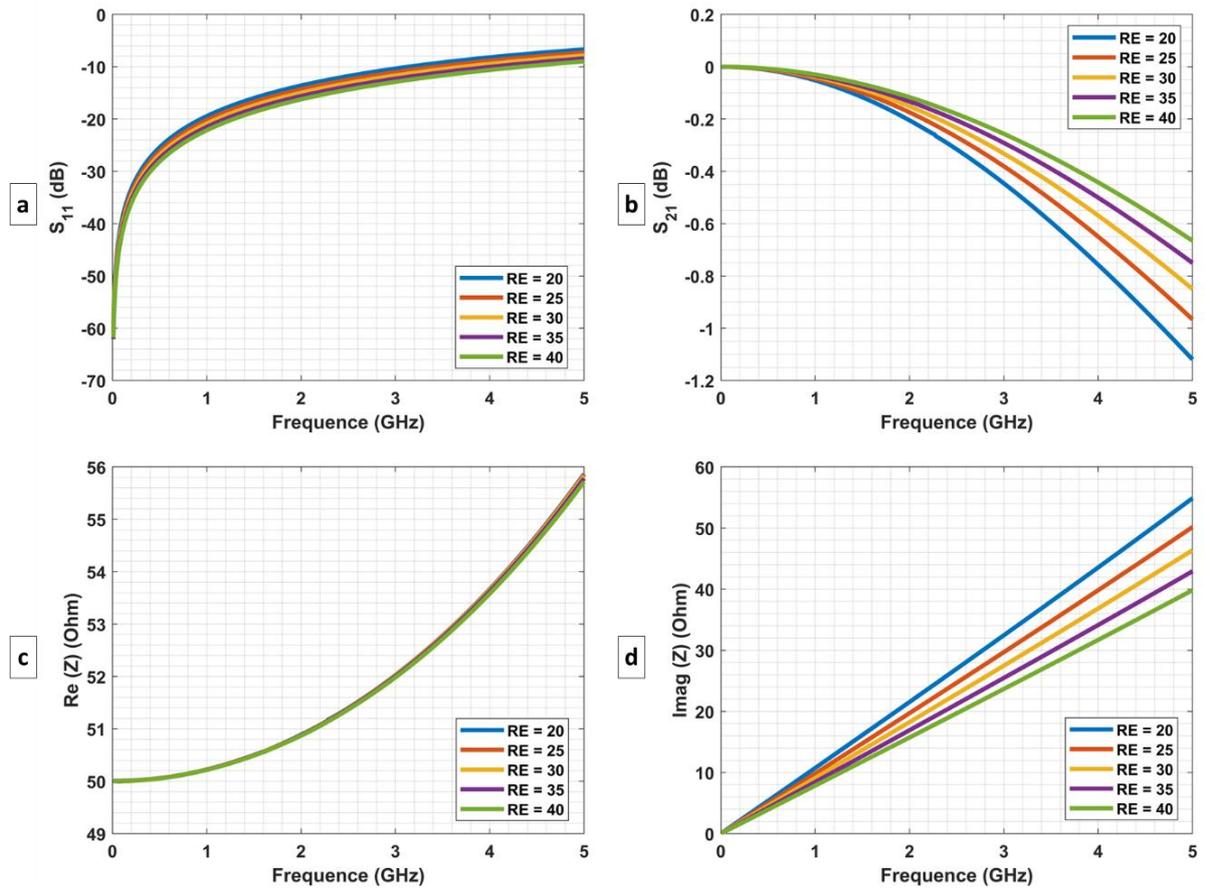


Figure 82 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre pour des valeurs de RE allant de 20 μm à 40 μm .

Variation de la distance entre les électrodes

Nous avons étudié l'effet engendré par la variation de la distance séparant les deux électrodes. Cette distance sera désignée par la lettre D, et elle est calculée à partir de la position du centre de l'électrode (par rapport au centre de la fibre) par la formule :

$$D = 2 \times XE - 50$$

XE étant la position des centres des électrodes par rapport au centre de la fibre.

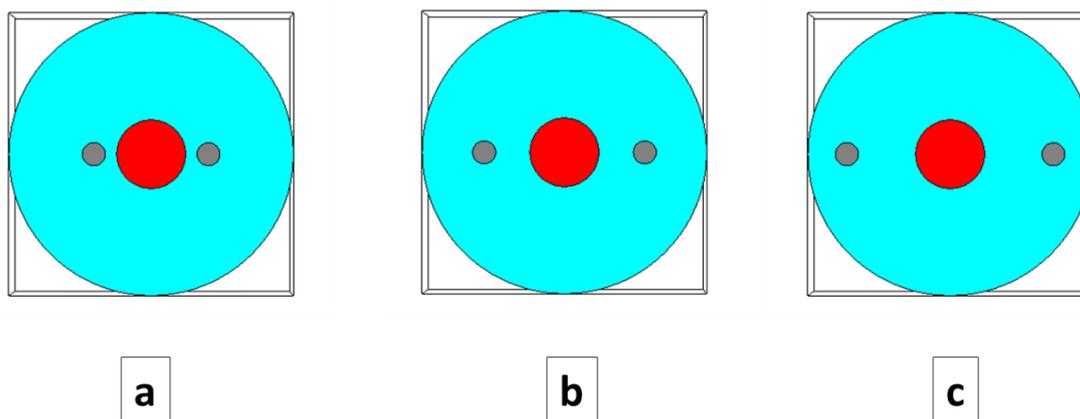


Figure 83 : Géométrie avec variation de la distance entre les électrodes D :200 μm a), 300 μm b) et de 400 μm c).

Des simulations ont été réalisées avec des valeurs de D variant de 200 μm à 400 μm par incréments de 50 μm . La Figure 83 présente la forme de l'échantillon pour trois valeurs différentes de D, à savoir 200 μm , 300 μm et 400 μm , dans ses trois parties (a), (b) et (c) respectivement.

Les résultats de ces simulations sont affichés sur la Figure 84. Sur les graphiques de cette figure, nous pouvons observer les tendances suivantes, les valeurs des différences sont calculées à la fréquence de 5 GHz (variations maximales de la bande d'étude) :

- 1- Sur le graphe (a), lorsque les deux électrodes se rapprochent, la valeur de S_{11} passe de -6.9 dB à -9 dB, pour des valeurs de D de 200 μm et 400 μm , respectivement. Cette variation correspond à une diminution de 22 % par rapport à la valeur initiale de S_{11} .
- 2- Sur le graphe (b), le coefficient S_{21} varie de 0.7 dB lorsque la distance augmente de 200 μm à 400 μm (-0.6 dB et -1.3 dB, respectivement).
- 3- Sur le graphe (c), la résistance du système augmente de 54.4 Ohms à 57.7 Ohms lorsque la distance augmente. Cette variation est plus significative que celle observée dans le cas précédent (augmentation de RE).
- 4- Enfin, sur le graphe (d), nous avons calculé la différence relative entre les réactances inductives lorsque D était égale à 200 μm et à 400 μm . Cette valeur nous a indiqué une augmentation de 33 % enregistrée lors du passage à une distance D supérieure.

En se basant sur ces observations, nous pouvons conclure que la distance entre les électrodes a une influence plus importante sur le comportement du système par rapport au rayon des électrodes. De plus, nous pouvons constater que le système conserve son comportement inductif, mais que ce dernier diminue progressivement à mesure que les deux électrodes se rapprochent. La réduction de la distance entre les électrodes permet donc, d'améliorer la transmission et de réduire la réflexion de la structure.

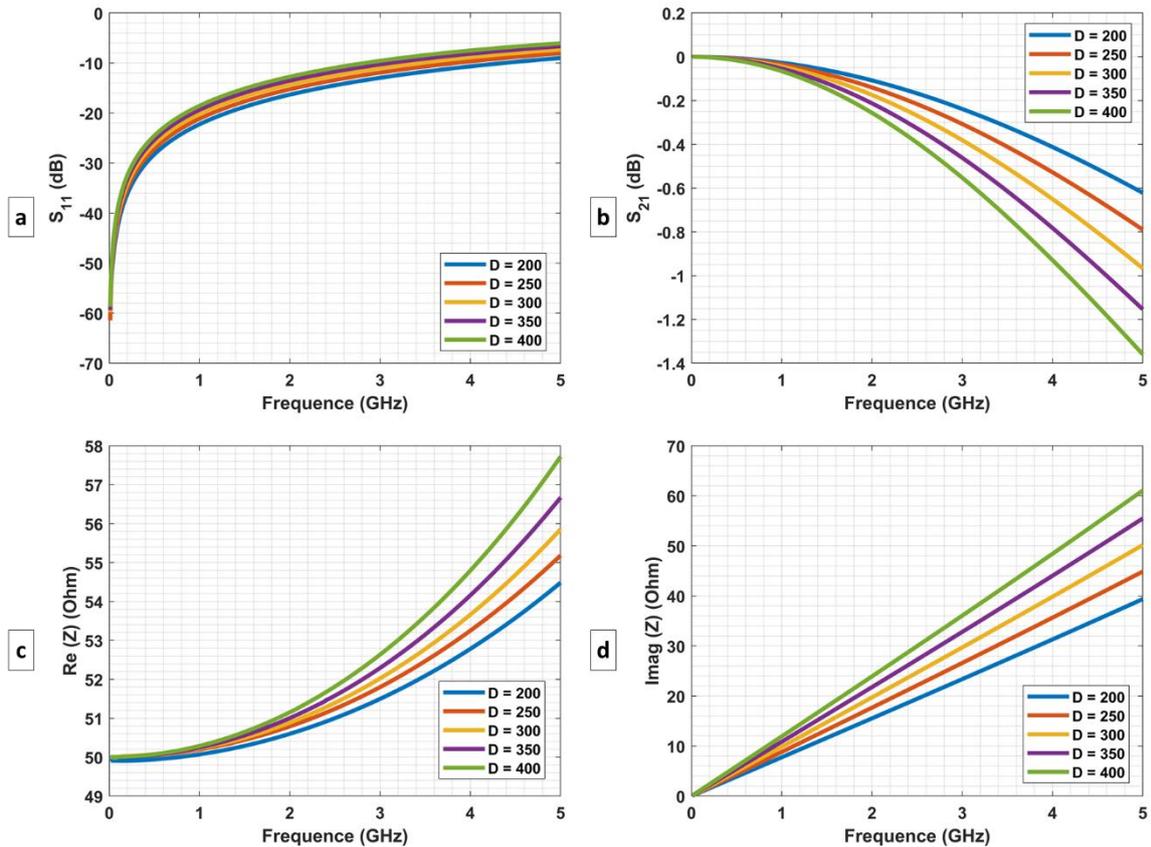


Figure 84 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre pour des valeurs de D allant de 200 μm à 400 μm .

Variations simultanées de RE et de D

Ensuite, nous avons utilisé la fonction d'optimisation ou '*optimizer*' proposée par CST pour essayer d'atteindre une impédance de 50 Ohms en combinant, cette fois ci, les effets de deux changements précédents. Cette fonction nous a permis de tester toutes les combinaisons possibles de RE, entre 15 μm et 40 μm , et de D , entre 200 μm et 400 μm . Pour en déduire, enfin, que l'obtention de 50 Ohms sera impossible sous les contraintes actuelles du problème.

Nous avons testé ces changements en mettant des électrodes en étain également, et même dans ce cas-là, la valeur minimale d'impédance que nous avons eu à 5 GHz était de 54 Ohms. Cette valeur est très proche de 50 Ohms, et elle assurera une bonne compatibilité électromagnétique entre les éléments du système. Cependant, nous avons essayé un autre changement, afin de s'approcher de plus en plus de la valeur de 50 Ohms souhaitée.

Structure à quatre électrodes

Nous avons testé une modélisation à quatre électrodes, au lieu de deux, entourant la MMF de quatre côtés d'une manière équidistante, telle qu'illustré sur la Figure 85 (a). Dans cette configuration, les coordonnées des centres des électrodes horizontales sont (- XE, 0) et (XE, 0) et celles des électrodes verticales sont (0, XE) et (0, - XE) respectivement, et la distance séparant les électrodes sur une diagonale est de 300 μm .

Sur la Figure 85 (b), est affichée la distribution du champ électrique sur le port 1 lorsque deux électrodes diagonales sont connectées à la masse et les deux autres à la charge.

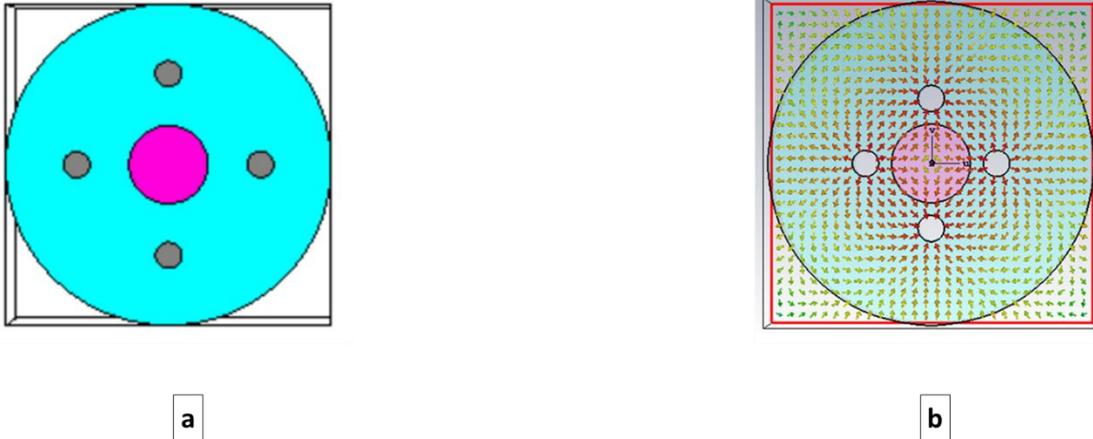


Figure 85 : La fibre à quatre électrodes et à droite la distribution du champ à travers cette fibre.

Sur la Figure 86, les résultats de simulation de la fibre à quatre électrodes sont présentés. Les paramètres S et l'impédance de la ligne montrent que cette structure est bien adaptée sur toute la bande de fréquence allant de 0 GHz à 5 GHz. En effet, nous pouvons observer dans les deux premières parties de la figure que la valeur de S_{11} reste constamment inférieure à -20 dB sur l'ensemble de la bande de fréquence ciblée par la simulation. De même, la valeur de S_{21} demeure très faible (-0.03 dB), ce qui indique une très bonne transmission entre 0 GHz et 5 GHz.

Dans la partie c), nous remarquons que la résistance de la fibre varie légèrement entre 0 GHz et 5 GHz, passant de 50 Ohms à 51.2 Ohms. Enfin, dans la partie d), nous pouvons constater que la valeur de la réactance, bien qu'elle augmente avec la fréquence, demeure nettement inférieure aux valeurs enregistrées pour la structure classique de la fibre, c'est-à-dire à deux électrodes. Cette approche est donc adéquate et permet d'obtenir d'excellents coefficients de réflexion et de transmission, ainsi qu'une valeur très bonne de l'impédance, sans avoir à modifier d'autres paramètres.

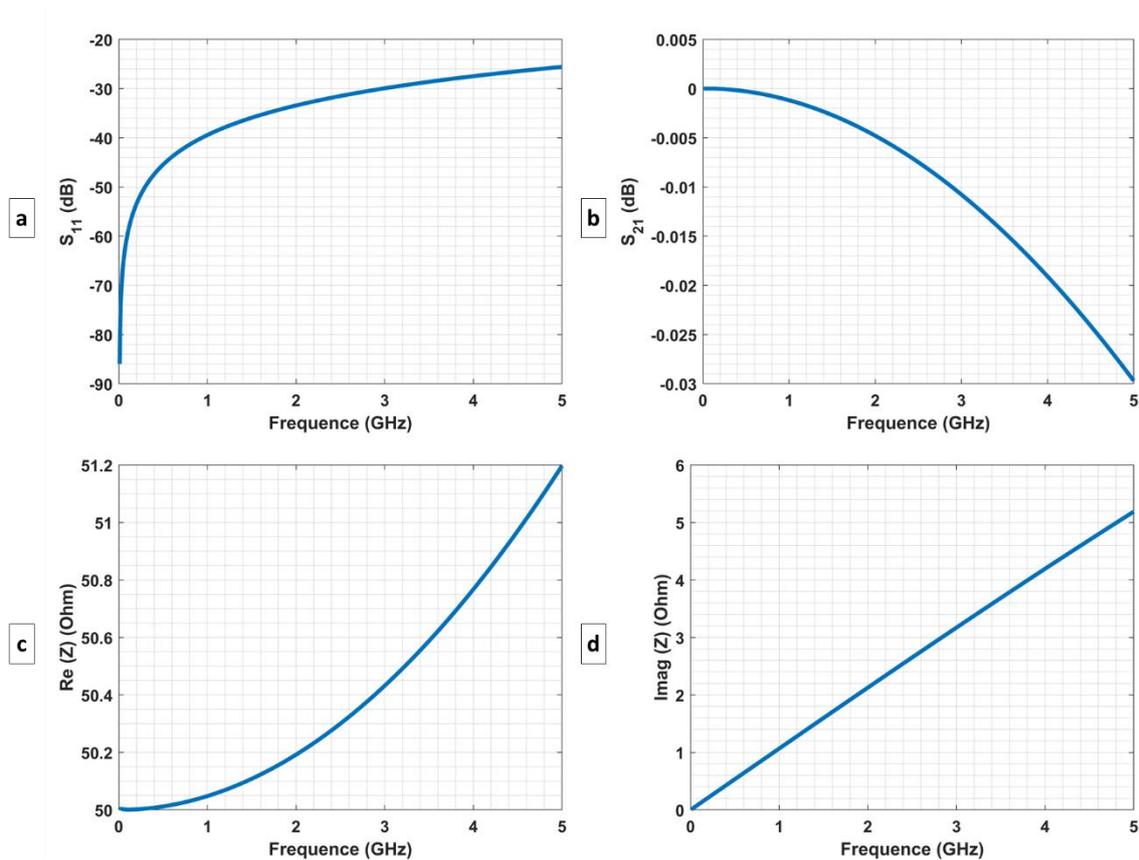


Figure 86 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre à 4 électrodes.

Conclusion sur la fibre de faible longueur (1.5 mm)

De cette étude, nous pouvons conclure que pour une fibre de faible longueur, la structure est bien adaptée pour transmettre des impulsions dans une bande de fréquence allant de 0 à 3 GHz. Au-delà de cette valeur, le seuil de -10 dB pour S_{11} est dépassé, contrairement au cas de S_{21} , où le seuil de -1 dB n'est atteint que dans une bande de fréquence très proche de 5 GHz.

La résistance de la fibre augmente progressivement pour atteindre 56 Ohms à 5 GHz, en partant d'une valeur initiale de 50 Ohms. La réactance inductive augmente également pour les hautes fréquences, atteignant finalement 50 Ohms à 5 GHz, tandis que la réactance capacitive reste nulle pour toutes les simulations de cette étude.

Afin d'améliorer les performances de la fibre et d'assurer une meilleure compatibilité électromagnétique avec d'autres composants éventuels du circuit, plusieurs solutions peuvent être envisagées :

- 1- Augmenter le rayon des électrodes. Cependant, cette méthode s'avère être la moins efficace, entraînant une diminution très faible des paramètres de diffusion et de la résistance.
- 2- Rapprocher les électrodes. Cette méthode s'est avérée plus efficace, montrant une influence plus significative sur toutes les valeurs étudiées à la fin des simulations.
- 3- Idéalement, ajouter deux électrodes perpendiculaires aux deux premières et à la même distance du centre du dispositif. Cette mesure permettrait de maintenir une adaptation optimale pour la transmission d'impulsions de fréquence variable entre 0 GHz et 5 GHz, tout en maintenant une valeur de résistance très proche de 50 Ohms.

Pour résumer, effectuer des ajustements dans la géométrie des électrodes et leur placement peut améliorer considérablement les performances de la fibre, notamment en ce qui concerne la bande passante et l'impédance.

III.3.1.4.2. Fibre de taille 5 cm

Dans cette partie, nous effectuons les mêmes études faites précédemment sur la fibre de 1.5 mm, sur une fibre de 5 cm de longueur. Nous commençons par une caractérisation fréquentielle de la fibre dans sa géométrie initiale. Ensuite, le dispositif sera optimisé afin d'obtenir une bonne adaptation pour la transmission des impulsions.

Les premiers résultats de simulation de la fibre à taille réelle sont présentés sur la Figure 87 où sont illustrés les paramètres S_{11} et S_{21} ainsi que les deux parties réelle et imaginaire de l'impédance de la fibre sur les graphes a), b), c) et d) respectivement.

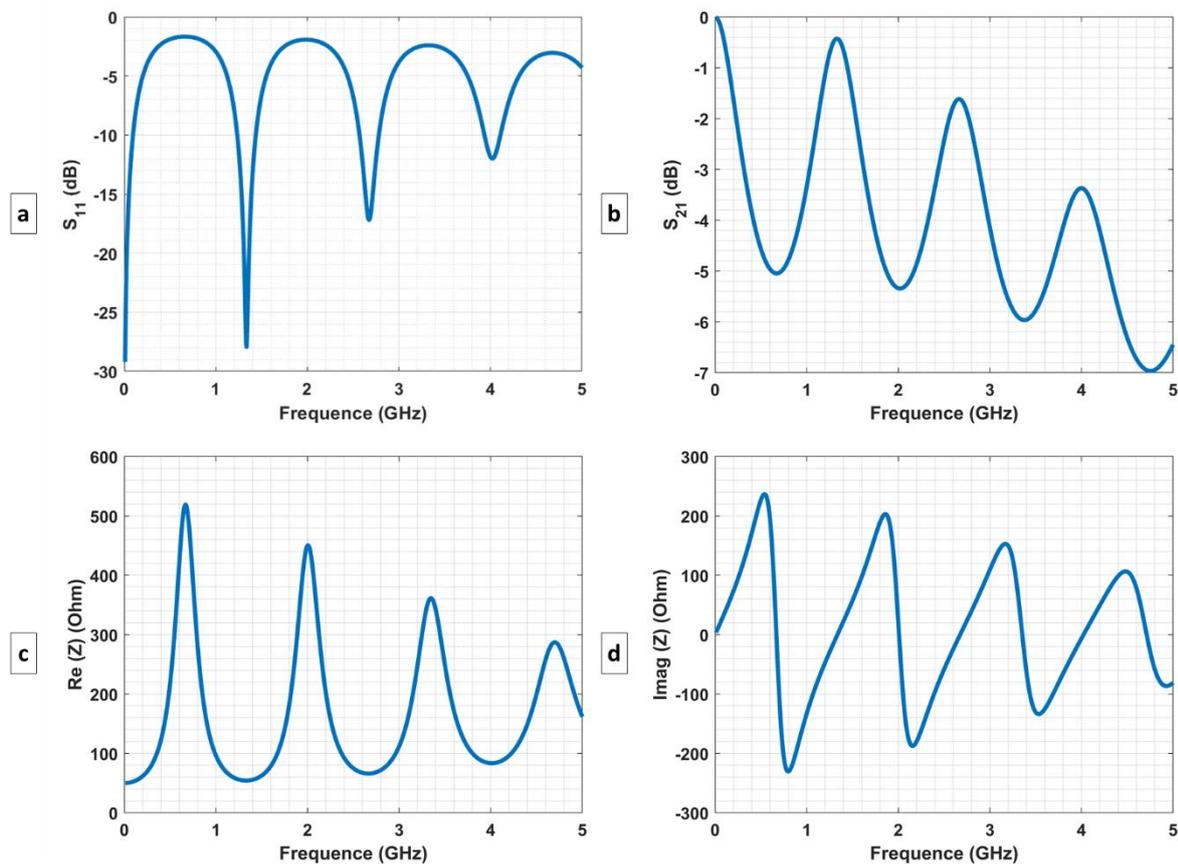


Figure 87 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre de taille réelle (longueur = 5 cm).

Sur cette figure, nous pouvons observer que la fibre présente des bandes de fréquence où les impulsions peuvent être transmises. Cela se traduit par une valeur de S_{11} inférieure à -10 dB et une valeur de S_{21} supérieure à -1 dB dans ces bandes. En dehors de ces bandes, les deux conditions ne sont pas vérifiées. Parmi ces bandes on trouve : [0 GHz, 0.1 GHz], [1.2 GHz, 1.4 GHz], [2.6 GHz, 2.8GHz] et [3.9 GHz, 4.1 GHz]. Ce comportement peut être expliqué par les phénomènes de réflexion et de désadaptation qui se produisent aux extrémités de la

fibre modélisée. Sur la courbe c), ce phénomène se traduit par des pics des valeurs minimales et maximales correspondant aux milieux des bandes passantes et des bandes où la réflexion domine. Sur la courbe d), des valeurs de réactance nulles sont observées, correspondant également aux centres de chaque bande passante. Il est à noter que pour cette longueur de fibre, la réactance varie d'un comportement inductif à capacitif.

Variation du rayon des électrodes

Comme dans le cas précédent, afin d'obtenir une meilleure adaptation de la fibre, nous avons fait varier le rayon des électrodes entre 20 μm et 40 μm . Nous avons ensuite observé l'effet de cette variation sur les paramètres de diffusion et sur l'impédance de la structure. La Figure 88, illustre les deux paramètres S_{11} et S_{21} , ainsi que les parties réelle et imaginaire de l'impédance de la structure.

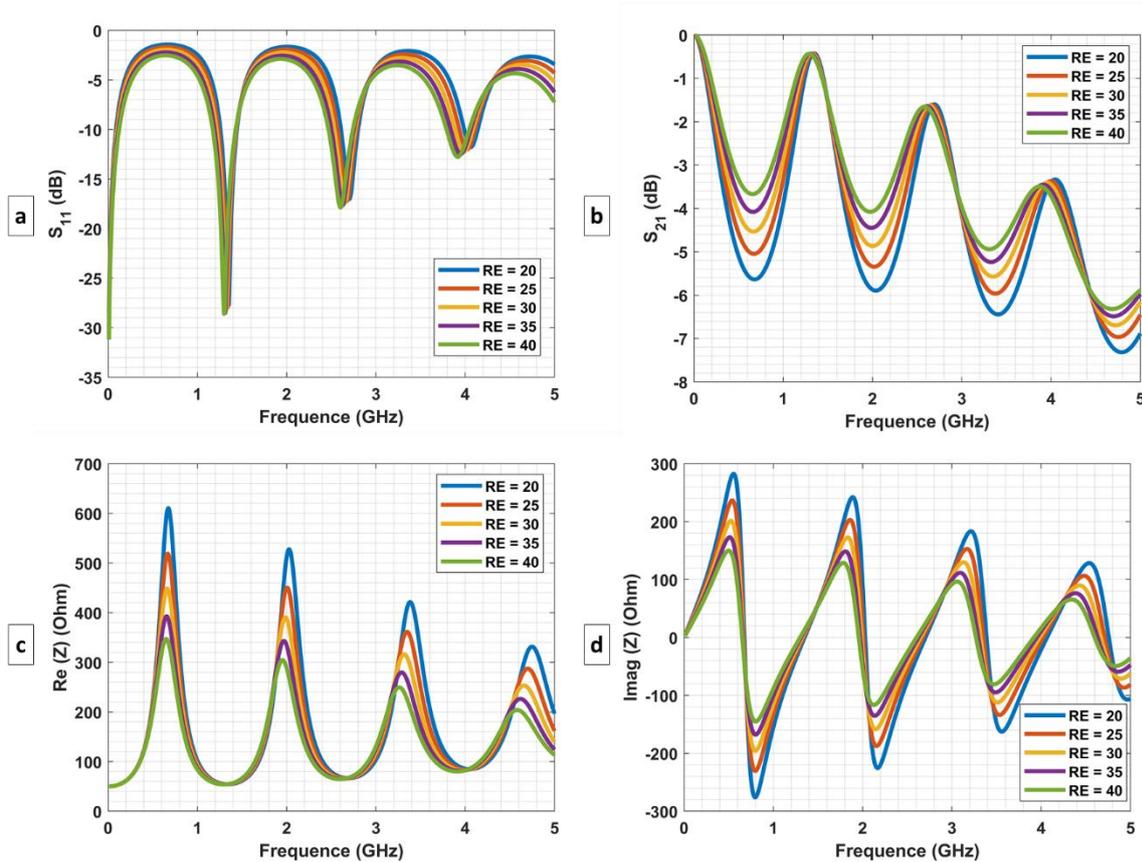


Figure 88 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre pour des valeurs de RE allant de 20 μm à 40 μm .

L'augmentation de la taille des électrodes entraîne effectivement une diminution de la résistance du système, comme observé précédemment. Cependant, des pics de transmission et de réflexion continuent d'apparaître. À basse fréquence, ces pics sont centrés sur les mêmes fréquences. Cependant, pour les fréquences supérieures à 2,5 GHz, les pics les moins prononcés (correspondant à des valeurs plus élevées de RE) sont légèrement décalés vers les fréquences plus basses. Sur le graphe (c) représentant la résistance, nous observons que les pics sont moins prononcés lorsque le rayon des électrodes est plus grand. Cependant, leurs valeurs restent relativement élevées pour les bandes de réflexion (par exemple, la partie

réelle de Z passe de 620 ohms pour un rayon de 20 μm à 360 ohms pour un rayon de 40 μm pour le premier pic, cette diminution correspond à 42 %). Cette observation est également confirmée par la courbe (d), où les pics de réactances inductive et capacitive sont moins marqués lorsque le rayon des électrodes est plus important.

Variation de la distance entre les électrodes

Dans un second temps, nous avons fait varier la distance entre les électrodes en augmentant la valeur de D de 200 μm à 400 μm par incréments de 50 μm . Les résultats sont illustrés sur la Figure 89.

Nous pouvons observer sur les courbes de cette figure que le décalage observé à haute fréquence dans le cas précédent est ici présent dès le premier pic. En effet, plus la distance entre les électrodes est courte, plus les bandes de transmission sont décalées vers les hautes fréquences. Nous constatons également que ce décalage est proportionnel à la fréquence. Autrement dit, les courbes sont d'autant plus décalées que la fréquence est élevée.

La partie réelle de l'impédance (c) du système diminue lorsque la distance entre les électrodes se rapproche. Néanmoins, contrairement au cas précédent (1.5 mm), la différence relative entre les deux cas extrêmes ($D = 400 \mu\text{m}$ et $200 \mu\text{m}$ respectivement) étudiés est ici moins significative (environ 30 %) par rapport à celle obtenue lors du changement du rayon des électrodes.

Enfin, la réactance diminue également lorsque la distance entre les deux électrodes diminue, mais sa diminution, tout comme pour toutes les autres grandeurs, est moins marquée par rapport au changement du rayon des électrodes.

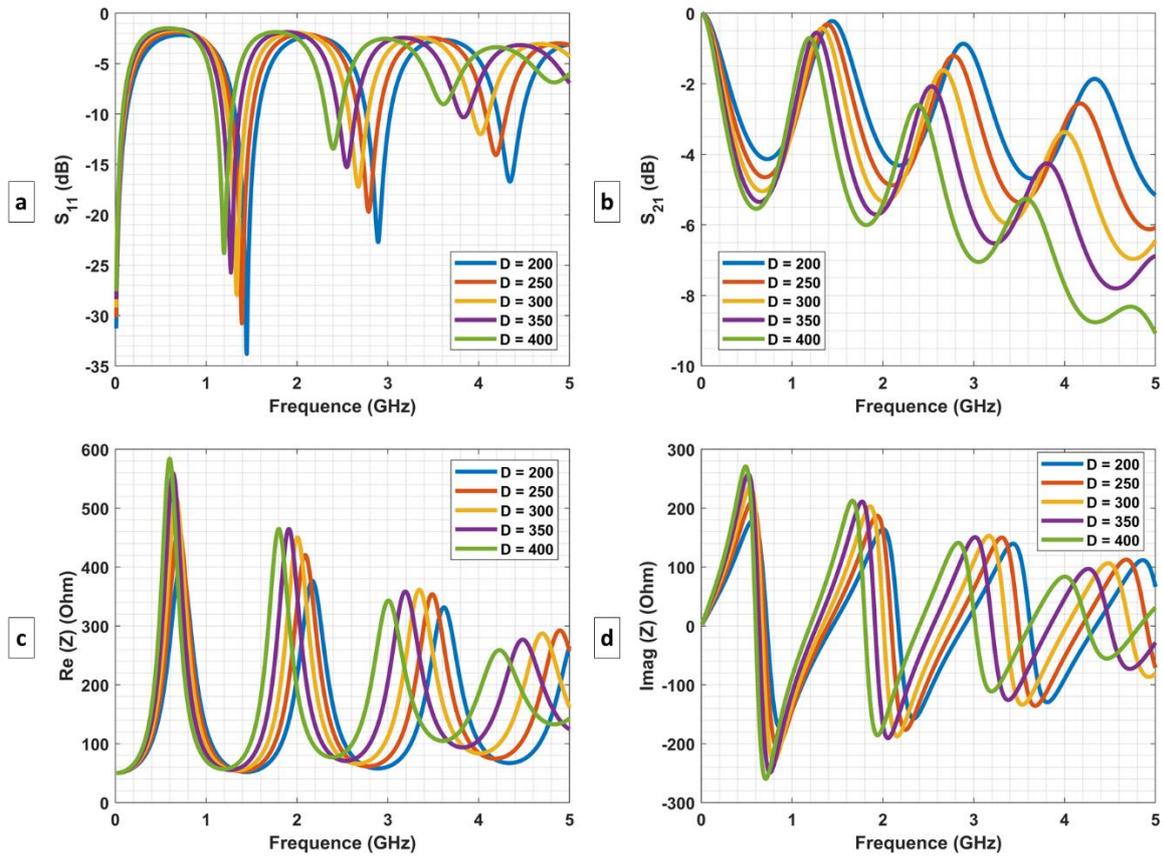


Figure 89 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre pour des valeurs de D allant de 200 μm à 400 μm .

Structure à quatre électrodes

Deux électrodes supplémentaires ont été introduites dans une direction perpendiculaire aux deux premières, dans une configuration identique à celle utilisée pour la fibre de 1.5 mm. Les résultats sont illustrés sur la Figure 90.

Les parties (a) et (b) de la figure montrent que dans cette configuration, le système est adapté pour transmettre fidèlement toutes les impulsions de fréquences comprises entre 0 GHz et 5 GHz. En effet, la valeur de S_{11} reste constamment inférieure à -15 dB sur toute cette bande de fréquence, et la valeur de S_{21} reste supérieure à -1 dB. Néanmoins, sur la courbe (c), nous remarquons que la valeur réelle de l'impédance oscille entre 50 et 70 Ohms.

La réactance a également diminué de manière significative. Nous pouvons voir sur les courbes que les deux valeurs maximale et minimale de la réactance sont de 10 Ohms et -10 Ohms respectivement.

En conclusion, l'introduction de deux électrodes supplémentaires permet de rendre le dispositif adapté à la transmission des impulsions.

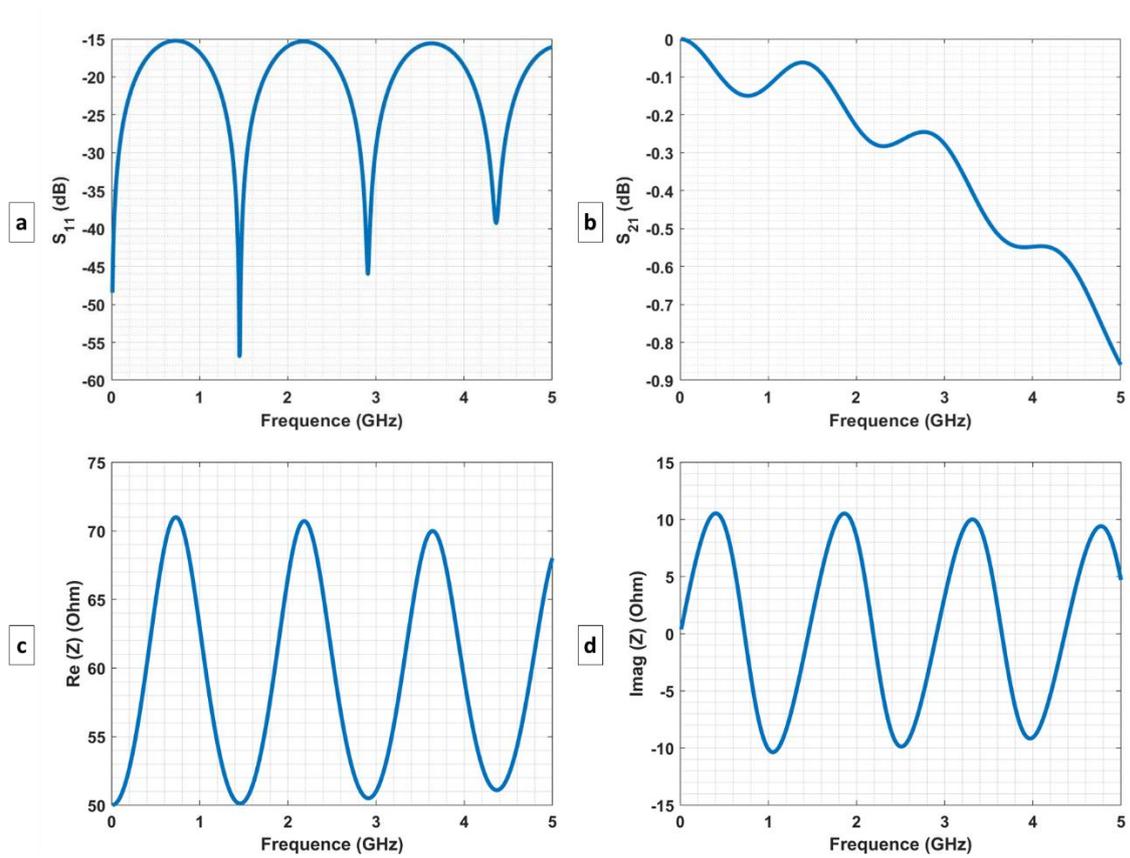


Figure 90 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre à 4 électrodes pour $D = 300 \mu\text{m}$.

Ainsi, nous avons réduit la distance séparant les quatre électrodes deux à deux. Plus précisément, nous avons attribué à XE la valeur de 125 μm , ce qui équivaut à la distance séparant chaque paire d'électrodes diagonales à 200 μm .

Les résultats de cette dernière modification sont illustrés sur la Figure 91.

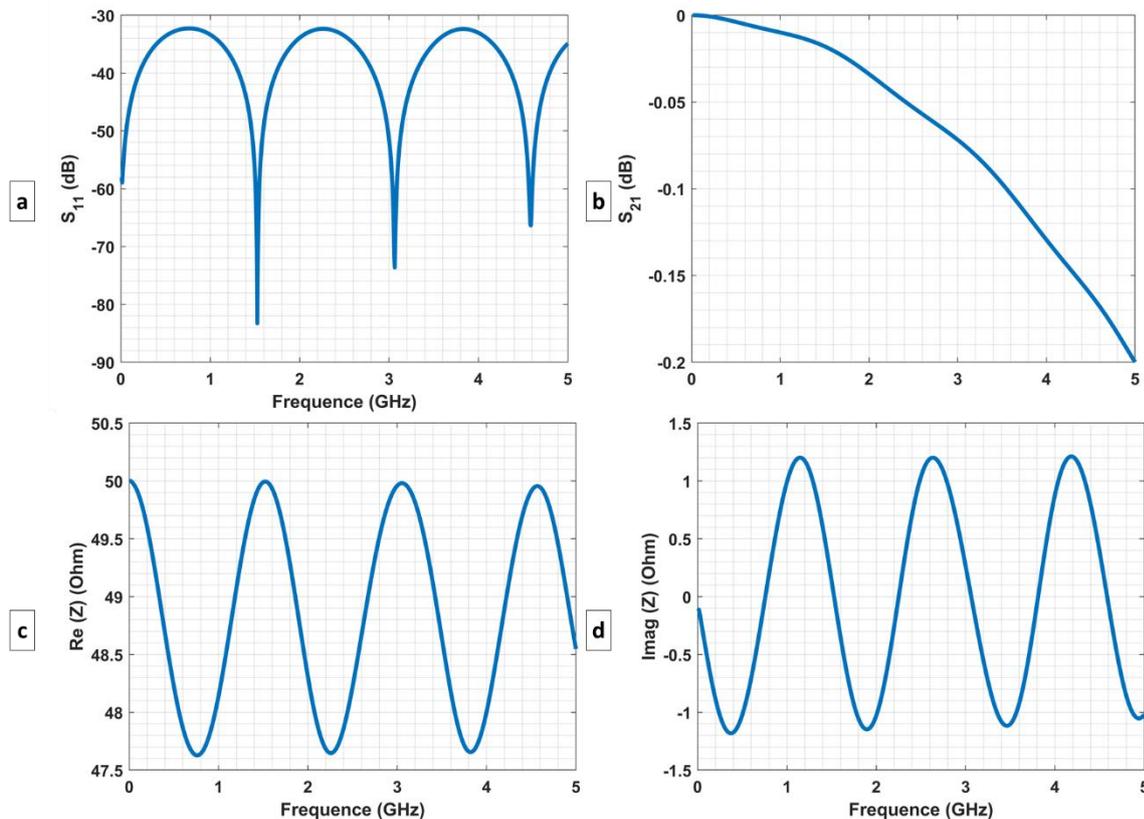


Figure 91 : Les paramètres a) S_{11} , b) S_{21} , c) la résistance et d) la réactance de la fibre à 4 électrodes pour $D = 200 \mu\text{m}$.

Cette géométrie permet d'obtenir une fibre adaptée pour la transmission des impulsions électriques sur une large bande de fréquence allant de 0 GHz à 5 GHz, tout en gardant une partie réelle d'impédance très proche de 50 Ohms. La partie imaginaire de Z est également très faible sous cette géométrie.

Conclusion sur la fibre de 5 cm

Pour conclure, dans sa forme actuelle, la fibre est capable de transmettre des impulsions électriques dans des bandes de fréquences bien définies.

La partie réelle de l'impédance indique des valeurs de résistance trop élevées dans les bandes à haute réflexion, contrairement aux bandes passantes, où la résistance atteint les 50 Ohms. De plus, la réactance est ici composée de deux parties, positive et négative, attribuées à un comportement inductif et capacitif respectivement.

Les changements de rayon et de position des électrodes affectent, comme dans les cas précédents, les grandeurs obtenues par simulations. Cependant, contrairement au cas de

la fibre de 1.5 mm, le changement de rayon des électrodes a créé des écarts relatifs plus importants dans les résultats.

Ainsi, l'ajout de deux électrodes supplémentaires dans le cas présent n'est pas suffisant pour atteindre les 50 Ohms, mais cette procédure permet de rendre l'applicateur adapté à la transmission de toutes les impulsions avec des fréquences comprises entre 0 GHz et 5 GHz. Afin d'atteindre une valeur de résistance de 50 Ohms, il faut introduire deux électrodes supplémentaires et fixer la valeur de XE à 125 μm .

III.3.1.5. Les circuits de connexion

La prochaine étape après l'étude de la structure de la fibre HybOE sera d'essayer de l'intégrer dans un circuit. Cela revient pratiquement à la connecter des deux côtés à des lignes de transmission, permettant de la mettre en contact avec le générateur d'impulsion d'un côté, et avec la charge ou la cible de l'autre. Dans un premier temps, l'idée est donc de connecter la fibre à deux lignes microrubans à chaque extrémité, puis de connecter ces lignes microrubans à des connecteurs SMA, ce qui permettra de les intégrer dans un circuit complet.

Nous allons présenter la géométrie des câbles coaxiaux et la transition vers des connecteurs SMA. Ensuite, nous mettrons en place les lignes microrubans avant de les connecter à la fibre, en respectant les dimensions réelles de chaque élément du circuit.

III.3.1.5.1. Câbles coaxiaux

Les câbles coaxiaux sont des lignes de transmission largement utilisées dans les circuits radiofréquence et haute fréquence. Dans les simulations, les câbles ont été modélisés en respectant des mesures standards et en appliquant la relation suivante :

$$Z = \frac{138.06}{\sqrt{\epsilon_r}} \log_{10} \left(\frac{D}{d} \right) \quad (16)$$

où ϵ_r et D représentent, respectivement, la permittivité relative et le diamètre extérieur du diélectrique, et d le diamètre du conducteur intérieur du câble coaxial.

La couche externe conductrice ainsi que l'âme centrale sont considérées comme des conducteurs parfaits et ont un diamètre de 4.5 mm et 1.27 mm, respectivement. L'isolant est en polytétrafluoroéthylène (PTFE) et a un diamètre de 4.2 mm. Cette configuration permet d'obtenir un câble coaxial standard d'impédance caractéristique 50 Ohms, à partir duquel nous construirons nos connecteurs SMA.

III.3.1.5.2. Les connecteurs SMA

Les connecteurs SMA (SubMiniature version A) sont des connecteurs coaxiaux RF, d'impédance caractéristique égale à 50 Ohms. Ils ont été développés dans les années 1960 comme connecteurs coaxiaux RF plus petits, avec un mécanisme d'assemblage.

Dans nos simulations, les parties métalliques du SMA sont faites également de conducteurs parfaits et l'isolant est modélisé avec du PTFE. La forme finale du SMA est illustrée sur la Figure 92. Les dimensions de cette figure sont conformes à la fiche technique du connecteur SMA que nous utilisons dans nos mesures ultérieures.

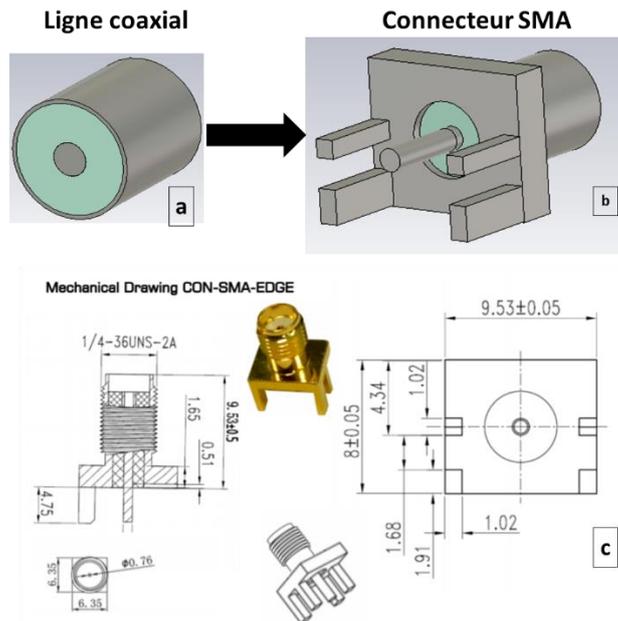


Figure 92 : Représentation de la modélisation de la structure 3D de (a) la ligne coaxiale, (b) du connecteur SMA et (c) la représentation des dimensions d'un SMA à partir de sa fiche technique.

III.3.1.5.3. Les lignes microrubans

Les lignes microrubans sont des lignes de transmission hyperfréquences constituées de deux lames métalliques : une base large et un ruban plus étroit. La base et le ruban sont conducteurs et sont séparés par une couche diélectrique (isolant) relativement épaisse. Classiquement, le diélectrique a la même surface que la base.

Les dimensions et les matériaux utilisés dans la fabrication d'une ligne microruban sont définis en fonction de la bande de fréquence sur laquelle le dispositif doit être idéalement adapté. Dans nos simulations, nous avons utilisé des conducteurs parfaits et une résine époxy de type FR4 pour l'isolant. La base et l'isolant ont une largeur de 30 mm et une longueur de 20 mm (Figure 93). Le ruban a la même longueur que la base, mais une largeur de 3 mm. L'épaisseur des deux couches métalliques est de 35 μm et celle de la couche isolante est de 1.6 mm. Dans cette configuration, la ligne a une impédance caractéristique de 50 Ohms et est parfaitement adaptée sur toute la bande de fréquence comprise entre 0 et 5 GHz.

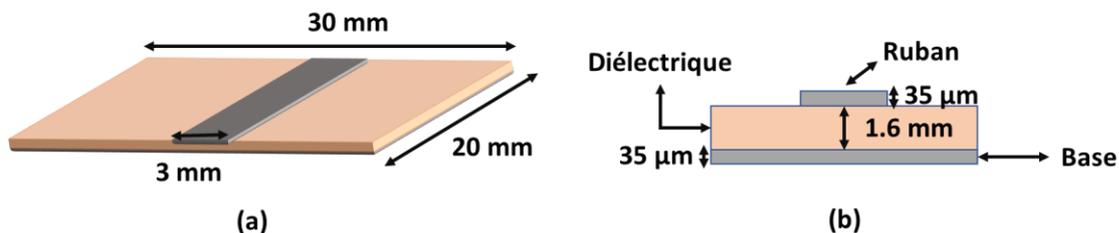


Figure 93 : Structure et dimensions de la ligne microruban non connectée telle que modélisée sous CST.

III.3.1.5.4. Connexion de l'aplicateur optoélectronique

La fibre optoélectronique est ensuite insérée entre deux lignes microrubans qui, à leur tour, sont connectées à des connecteurs SMA situés respectivement à l'entrée et à la sortie

du système (voir Figure 94.a)). Pour assurer la connexion des éléments de ce circuit, les électrodes ont été prolongées et reliées à la masse (du SMA) ainsi qu'au ruban de charge (de la ligne microruban), des deux côtés.

La configuration finale de la fibre HybOE, connectée des deux côtés, ainsi que les résultats des calculs, sont illustrés sur la Figure 94. Dans la partie (a) de cette figure, une illustration de la structure modélisée est présentée. Nous pouvons y distinguer la fibre HybOE, les extensions de ses deux électrodes de chaque côté, une ligne microruban, et deux connecteurs SMA.

La ligne microruban de la Figure 94 est formé de deux lignes microrubans de la partie III.3.1.5.3 connectées entre elles par une partie diélectrique et une base commune. Sa longueur totale est de 170 mm (pour les deux lignes connectées entre elles). Cette disposition permet de maintenir la fibre en place lors de la prise des mesures expérimentales sans exercer une tension excessive sur les extensions des électrodes, qui sont très fragiles. Enfin, les deux ports guide d'onde sont également représentés par deux carrés rouges délimitant les deux extrémités de la structure.

Les parties (b) et (c) de la figure représentent les coefficients S_{11} et S_{21} . Sur la courbe de S_{11} , nous observons un comportement similaire à celui de la fibre non connectée. En d'autres termes, cette courbe présente des bandes passantes et des bandes de réflexions. Cependant, les bandes passantes ici sont plus étroites et décalées vers les basses fréquences par rapport à celles observées pour la fibre seule. Par exemple, la première bande où S_{11} est inférieure à -10 dB se situe entre 0 et 0.08 GHz, et la deuxième se situe entre les fréquences de 1.1 GHz et 1.22 GHz. En comparaison aux deux premiers pics de la fibre seule, qui se situent entre [0, 0.1 GHz] et [1.2 GHz, 1.4 GHz], nous pouvons constater que les nouveaux pics sont plus étroits et décalés vers les basses fréquences.

Les parties (d) et (e) de la figure présentent les composantes réelle et imaginaire de l'impédance, qui incluent la résistance et la réactance. Ces courbes illustrent des variations à travers tout le spectre des fréquences, s'étendant de 0 GHz à 5 GHz. Elles révèlent des pics significativement élevés, ainsi que des valeurs presque nulles à certaines fréquences. Cependant, un point particulièrement notable se situe à une fréquence précise de 3 GHz, où les deux courbes affichent des pics particulièrement élevés : une résistance de 760 Ohms et une réactance d'environ ± 320 Ohms. L'origine de ces pics élevés peut être attribuée à un phénomène de résonance ou à la complexité de la géométrie de la structure. En effet, la géométrie joue un rôle crucial dans la manière dont les champs électromagnétiques se propagent à travers la structure, ce qui peut se traduire par des variations complexes de la résistance et de la réactance en fonction de la fréquence.

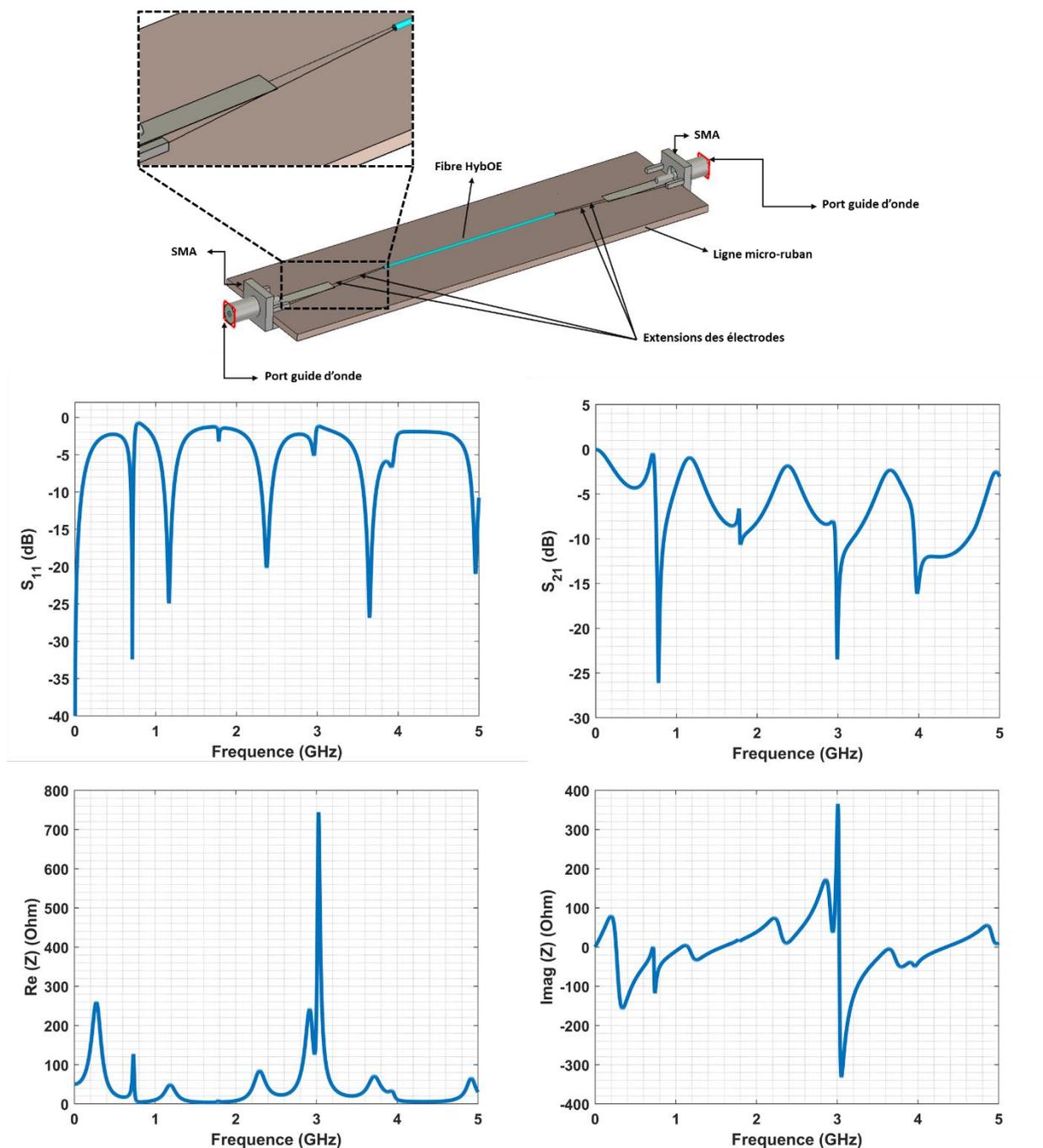


Figure 94 : a) Structure de la fibre connectée à une ligne de transmission microruban, connecté à un connecteur SMA des deux cotés. Les paramètres b) S_{11} , c) S_{21} , d) la résistance et e) la réactance de la structure modélisée.

III.3.2. Caractérisation fréquentielle de la fibre

Pour effectuer une caractérisation fréquentielle expérimentale de la fibre, il est nécessaire de la connecter à un VNA via une structure de connexion ayant une impédance adaptée. Une structure de connexion semblable à celle illustrée sur la Figure 94.a).

Ensuite, deux trous ont été percés dans la gaine (PES) de la fibre, au niveau de l'entrée et de la sortie du système, formant un total de quatre trous. Ces trous donnent accès aux deux électrodes et permettent d'en faire des extensions. À partir de ces trous, quatre fils métalliques du même diamètre que les électrodes ont été soudés aux électrodes et à la fibre. C'est ainsi que les extensions des électrodes ont été mises en place. Les extensions étaient ensuite connectées à la charge et à la masse de la ligne microruban ou des connecteurs SMA.



Figure 95 : La fibre connectée par l'une de ses extrémités (gauche), à travers les extensions des deux électrodes, jusqu'à la ligne de charge d'une ligne microruban, ainsi qu'à l'une des masses du connecteur SMA. L'autre extrémité de la fibre est laissée libre.

Nous avons fait le choix de connecter seulement l'une des extrémités de la fibre pour des raisons pratiques. En effet, cette configuration nous permettra d'immerger l'extrémité libre dans un milieu biologique, ce qui nous permettra de caractériser le système d'exposition complet (applicateur + milieu). De plus, cette configuration nous permettra éventuellement de transmettre des impulsions électriques à travers la fibre.

Sur la Figure 95, nous présentons la fibre, les extensions des électrodes, les deux connecteurs SMA, et la ligne microruban. Les extensions des électrodes, seront ensuite connectée d'un seul côté, en l'occurrence du côté droit du ruban de la ligne de transmission et à l'une des masses du connecteur SMA. Les deux autres extensions (côté gauche) sont laissées libres, elles seront plongées dans un milieu de culture biologique tel que présenté sur la partie b) de la Figure 96.

Dans la section suivante, nous comparerons les résultats des mesures effectuées avec cette configuration à ceux des simulations correspondantes.

III.3.3. Comparaison entre les résultats numériques et expérimentaux

Dans ce qui suit, nous allons immerger les deux extensions libres des électrodes dans une boîte de Pétri remplie de milieu de culture cellulaire. L'objectif principal est de réaliser une caractérisation fréquentielle à la fois par calcul numérique et par des mesures expérimentales de la fibre/applicateur connecté, en vue d'une éventuelle utilisation pour l'exposition future à une cible potentielle. On retrouve ici une configuration de type électrodes filaires semblable aux géométries des applicateurs décrits précédemment.

La Figure 96 présente, dans sa partie (a), la structure modélisée, et dans sa partie (b), une photographie réelle de la structure connectée à un VNA (Analyseur de Réseau Vectoriel) afin de réaliser la caractérisation fréquentielle.

Comme nous pouvons le voir sur les deux parties de la figure, seul l'un des côtés de la structure est connecté à un guide d'onde dans la partie a), et au VNA (Analyseur de Réseau

Vectorel) dans la partie b). Par conséquent, seul le coefficient correspondant à la réflexion S_{11} pourra être récupéré à la fin des calculs/mesures.

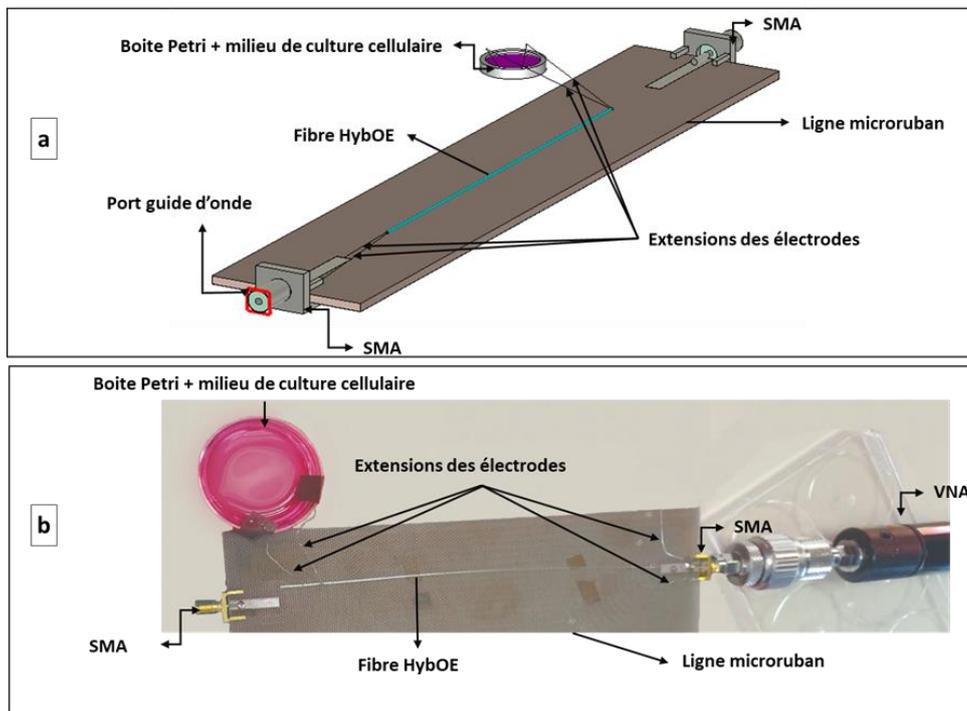


Figure 96 : a) La structure modélisée, et b) celle mesurée expérimentalement. Les deux dispositifs sont connectés à travers la structure de connexion à la charge, ainsi que par les deux extensions libres des électrodes plongées dans le milieu biologique.

La comparaison entre les valeurs de S_{11} obtenues par simulations et par mesures expérimentales est présentée sur la Figure 97. Les deux parties de la figure (a) et (b) représentent les mêmes graphes, sauf que la partie (b) met en évidence les pics du S_{11} obtenus par mesures expérimentales et représentés par des lignes pointillées noires. En analysant cette partie de la figure, nous pouvons déduire que la plupart des pics sont présents sur les courbes correspondant aux valeurs obtenues par mesures expérimentales et par calculs numériques. Néanmoins, deux différences majeures sont présentes sur les deux graphes de résultats :

- 1- Les pics qui correspondent aux valeurs expérimentales sont plus prononcés que les pics obtenus par calcul numérique.
- 2- Un décalage est observé entre la fréquence des pics. Ce décalage est négligeable pour les hautes fréquences (> 2.5 GHz), mais il est plus présent sur les basses fréquences.

Les différences entre les deux courbes peuvent s'expliquer par les imperfections dans la partie expérimentale, dues aux conditions suivantes :

- 1- Extension des électrodes : dans les simulations, les extensions sont créées en augmentant la longueur des électrodes. Il n'y a pas de discontinuité ou de mélange de métal, contrairement à la structure réelle où des trous sont creusés dans le PES pour

atteindre les électrodes. Les extensions sont réalisées en soudant des fils métalliques aux électrodes.

- 2- La soudure : dans la structure réelle, les connexions sont réalisées en soudant des fils métalliques aux électrodes. La soudure est réalisée avec un alliage métallique. Dans les simulations, les connexions sont réalisées avec du PEC.
- 3- Position des électrodes dans le milieu biologique : dans les simulations, les électrodes étaient placées dans le fond de la boîte Pétri. Cependant, lors de la manipulation, elles peuvent se déplacer.

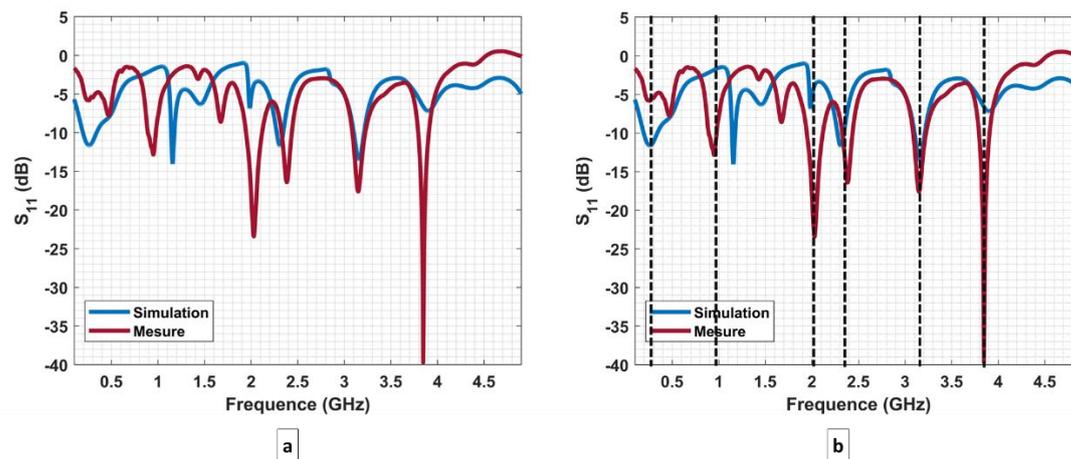


Figure 97 : a) Les valeurs de S_{11} obtenues par simulations numériques (en bleu) et par mesures expérimentales (bordeaux) et b) le même graphe avec en plus les pics identifiés par des lignes pointillées noires.

Conclusion sur la connexion de la fibre

Pour conclure, nous avons testé une méthode de connexion permettant de relier la fibre à une source et à une charge en même temps.

La structure de connexion était formée d'une ligne microruban reliée à deux connecteurs SMA. Une extension des électrodes a été également créée pour pouvoir les connecter aux autres composants.

Nous avons ensuite réalisé une caractérisation fréquentielle numérique et expérimentale de la fibre lorsque les extensions des électrodes étaient plongées dans un milieu de culture biologique. Les résultats ont montré la présence de plusieurs bandes passantes, et donc la possibilité de transmettre plusieurs fréquences aux échantillons biologiques. La comparaison entre le résultat de simulation et de mesure a montré un bon accord entre les deux.

III.4. Conclusion

Dans ce chapitre nous avons présenté un état de l'art sur les applicateurs d'impulsions, leurs utilisations et leurs limitations.

Nous avons proposé un nouvel applicateur hybride optoélectronique, destiné principalement aux applications endoscopiques. Cet applicateur permettra grâce aux effets d'optique non linéaire de visualiser la cible avant de lui transmettre, à travers deux électrodes métalliques, l'énergie d'impulsions électriques. La géométrie et les caractéristiques de cet applicateur étaient détaillées dans ce chapitre. Le but de réaliser une étude fréquentielle et de tester la capacité de ce dernier à transmettre des impulsions, a été atteint pour deux longueurs différentes de la fibre : 1.5 mm et 5 cm.

Suite à ces simulations, des changements dans la géométrie de la fibre ont été proposés afin de la rendre plus adaptée à la transmission d'impulsions et plus compatible à l'insertion dans un circuit électrique.

Enfin, un système de connexion permettant de relier l'applicateur en question à une source et à une charge a été proposé. Ce système de connexion est constitué de deux lignes microrubans connectées par une base et un diélectrique commun, et de deux connecteurs SMA. Une extension des électrodes a été créée en réalisant des trous dans la couche externe du PES et en soudant des cylindres métalliques de la même dimension que les électrodes.

L'impédance caractéristique de la fibre a peu d'influence pour des longueurs courtes de fibre, mais cela devient critique pour des applications d'endoscopie. Dans ce dernier cas, il est important de concevoir une fibre présentant une impédance caractéristique proche de 50 Ohms, afin de limiter la désadaptation à l'entrée de la fibre. La détermination de l'impédance BF de la fibre avec les électrodes plongées dans la solution est intéressante et permet d'imaginer ce qu'il pourrait se passer en conditions réelles d'utilisation.

Conclusion générale et perspectives

Dans ce manuscrit, nous avons présenté les effets des impulsions électriques sur les cellules vivantes et leur application dans le domaine biomédical. Ces effets font l'objet de diverses études approfondies notamment depuis leur utilisation dans les domaines thérapeutiques d'abord avec l'électroporation et l'électro-fusion cellulaire par Neumann et ses collègues dans les années 80 et, ensuite, par Lluís Mir et ses collègues pour l'électrochimiothérapie dans les années 90.

Dans le premier chapitre, nous avons présenté brièvement les effets des impulsions électriques de différentes durées sur les cellules biologiques en passant du domaine des ms jusqu'aux subnanosecondes. Parmi ces effets, nous nous sommes intéressés à l'électroporation dans ses deux formes réversible et irréversible. En effet, l'électroporation est largement utilisée dans différentes applications telles que la science environnementale, l'agroalimentaire et le biomédical. Par exemple, dans l'environnemental, l'électroporation irréversible est utilisée pour éviter les phénomènes du « biofouling » sur les surfaces. En agroalimentaire, les deux formes d'électroporation sont appliquées pour assurer, par exemple, une meilleure conservation des aliments ou pour réaliser une nouvelle méthode d'extraction des jus. En biomédical, l'électroporation est utilisée pour mettre en place des traitements innovants de différentes maladies, notamment le cancer. Ces traitements peuvent inclure, en électroporation réversible, l'électrochimiothérapie, qui permet de traiter des tumeurs locales et permettant de réduire les effets nocifs de la chimiothérapie sur le corps entier. Cette procédure est également utilisée pour réaliser l'ablation cardiaque et le traitement des masses tumorales. En outre, l'application de l'électroporation, peut engendrer l'apoptose c'est-à-dire, le suicide autoprogrammé des cellules ciblées.

Nous avons ensuite présenté la chaîne d'exposition des cellules biologiques aux impulsions. Afin d'exposer des cibles biologiques aux champs électriques intenses, il faut d'abord générer les champs, et ensuite les transmettre jusqu'à la cible, dans ce qu'on appelle une chaîne d'exposition. Cette chaîne est typiquement composée d'un **générateur** d'impulsions, d'un **applicateur** adapté connecté à la **cible**. Dans les deux autres chapitres de cette thèse, nous avons discuté de deux éléments principaux d'une chaîne d'exposition : le générateur d'impulsions et l'applicateur.

Dans le chapitre II, nous avons réalisé un état de l'art sur les générateurs d'impulsions, avant de présenter une étude détaillée sur deux nouveaux générateurs d'impulsions mis en place au cours de cette thèse. Ces générateurs sont basés sur le principe des ondes gelées et sont principalement constitués de deux commutateurs optoélectroniques, les PCSSs, reliés par une ligne de transmission métallique et commutés par des impulsions lasers à 1064 nm. Tous ces éléments étaient regroupés dans un seul boîtier métallique compact avec des ports coaxiaux connectés à une terminaison, une source DC de haute tension et à la sortie.

Les deux générateurs ont permis, grâce à leur structure compacte, de générer des impulsions d'une durée aussi courte que 0.9 ns et ~ 0.3 ns. Le changement de la terminaison connectée au port 2 du boîtier métallique a permis de générer trois différentes formes d'impulsions : unipolaire, bipolaire et paire, pour une charge de 50 Ohms, un court-circuit et un circuit ouvert, respectivement. Des délais allant de 10 ns jusqu'à 200 ns, entre les deux polarités d'une même impulsion, ont été introduits en utilisant des câbles de longueurs variables entre le port n°2 et la terminaison du circuit. À noter que, 1 mètre de câble correspond à 10 ns de délai. Pour le premier générateur (0.9 ns), plusieurs tensions de polarisation allant

de 2 kV à 10 kV ont été délivrées par la source de haute tension DC. L'effet de l'augmentation de la tension de polarisation sur les paramètres des impulsions, tels que la durée, le temps de montée et l'amplitude, a également été testé.

Des caractérisations fréquentielles des boîtiers métalliques et des câbles utilisés ont été effectuées en connectant les structures étudiées à un VNA (Analyseur de Réseau Vectoriel). Ces mesures ont montré que les boîtiers métalliques et les câbles étaient adaptés pour la transmission des impulsions générées.

Enfin, un troisième générateur d'impulsions, d'une durée de l'ordre de 100 ps, a été mis en place. Ce générateur se base toujours sur le même principe de l'onde gelée et contient également deux commutateurs de type PCSS. La principale différence entre ce générateur et les deux autres réside dans le fait que la liaison entre les deux PCSS se fait ici par une ligne microruban, permettant d'obtenir une structure encore plus compacte et par conséquent des impulsions plus courtes. Ce générateur est activé avec un laser femtoseconde à 1030 nm.

La faisabilité d'une spectroscopie micro-ondes mono-coup avec les impulsions générées par le dernier générateur a été testée. Pour cela, un résonateur diélectrique a été placé dans une cellule TEM, et les spectres d'absorption ont été identifiés à l'aide de deux approches, numérique et expérimentale. Dans le cadre de la partie numérique, le comportement du système, composé de la cellule TEM et du résonateur diélectrique, vis-à-vis d'une excitation extérieure, a été simulé sous CST. À partir de ces simulations, nous avons extrait le paramètre de transmission, que nous avons comparé avec le spectre d'absorption mesuré expérimentalement. La similitude entre les fréquences des pics obtenues par les deux approches a confirmé la validité de la méthode de spectroscopie mono-coup testée.

Le chapitre III était consacré à l'étude des applicateurs. La première partie est constituée d'une bibliographie sur les différents types d'applicateurs utilisés pour des expositions *in vitro*, *in vivo* ou cliniques. Ces applicateurs se divisent en deux catégories principales : les applicateurs sans contact avec la cible, comme par exemple les antennes et les cellules TEM, et les applicateurs en contact direct avec la cible, qui incluent les applicateurs à électrodes planaires et filaires.

Ensuite, nous avons présenté un nouvel applicateur hybride optoélectronique HyBOE conçu pour un usage endoscopique. Cet applicateur de diamètre total de 620 μm est basé sur une fibre multimodale permettant d'améliorer le diagnostic en se référant à des effets d'optique non linéaire, le M-CARS (Multiplexed Coherent AntiStokes Raman Scattering) plus précisément. L'applicateur contient également deux électrodes cylindriques de chaque côté de la fibre multimodale centrale, qui peuvent servir à la transmission d'impulsions vers une cible biologique. L'utilisation d'un tel applicateur est potentiellement intéressante car elle permet d'atteindre des zones plus profondes et difficiles d'accès grâce à sa flexibilité et sa petite taille. L'objectif à terme est également de réaliser le diagnostic et l'exposition dans une seule procédure très peu invasive.

Une caractérisation fréquentielle numérique de l'applicateur HyBOE a été réalisée à l'aide d'un logiciel de modélisation électromagnétique. Les simulations ont été effectuées sous CST en utilisant deux longueurs différentes de la fibre : 1,5 mm et 5 cm.

Pour la petite fibre (1.5 mm), les simulations ont montré que la structure est bien adaptée pour transmettre des impulsions ayant une fréquence entre 0 et 3 GHz. Au-delà de cette valeur, le seuil de -10 dB pour la réflexion est dépassé, contrairement au cas de la

transmission, où le seuil de -1 dB n'est atteint que dans une bande de fréquence très proche de 5 GHz. En ce qui concerne la résistance de la ligne, sa valeur reste proche de 50 Ohms même pour les hautes fréquences (56 Ohms à 5 GHz).

Pour la fibre de 5 cm, les simulations ont montré que la structure présente des bandes passantes, où la transmission des impulsions électriques peut se faire, mais aussi des bandes à haute réflectivité. La résistance de la ligne varie également avec ces bandes : des pics de valeurs très élevées sont observés dans les bandes de réflexion, tandis que, pour les bandes passantes, les valeurs d'impédance se rapprochent des 50 Ohms.

Afin d'élargir les bandes passantes pour la fibre de 5 cm et d'obtenir une impédance caractéristique de 50 Ohms pour la fibre de 1,5 mm, des modifications de la géométrie de cet applicateur ont été proposées afin d'optimiser son adaptabilité pour la transmission des impulsions et sa compatibilité avec d'autres éléments éventuels d'un circuit électrique le reliant au générateur d'impulsions.

Un circuit de connexion constitué de deux lignes de transmission microruban et relié à deux connecteurs SMA a été proposé. Ce montage a été réalisé expérimentalement et évalué numériquement, et les valeurs des coefficients de réflexion, obtenues par les deux approches, ont été comparées et ont montré une similitude.

La prochaine étape sera de transmettre les impulsions électriques générées dans le chapitre II via l'applicateur du chapitre III vers un milieu biologique et d'observer les effets obtenus suite à cette exposition. Il sera aussi intéressant de réaliser une caractérisation fréquentielle expérimentale de la géométrie proposée de l'applicateur à quatre électrodes et de tester sa capacité à transmettre les impulsions. La manière dont les électrodes ont été connectées peut également être améliorée en éliminant une partie de la couche externe de l'applicateur et en faisant sortir les électrodes directement sans avoir besoin de prolongation. Cette approche permettra de garder une distance de séparation de 300 μm entre les électrodes. Elle permettra également d'éliminer toute sorte d'incompatibilité due à la soudure et aux mélanges métalliques entre l'étain (composant des électrodes) et l'alliage métallique utilisé dans la création des extensions des électrodes.

La combinaison des deux effets, i.e., la propagation des impulsions lasers dans la fibre multimodale centrale et des impulsions électriques dans les électrodes, pourra être testée pour identifier l'effet de l'un sur l'autre.

La dernière étape consistera au passage des études *in vitro* aux études *in vivo* et ensuite, à plus long terme, aux études cliniques afin de tester cet applicateur comme un nouvel outil de diagnostic et de traitement, engendrant le moins possible d'endommagement sur les tissus lors de sa pénétration et offrant un meilleur niveau de confort aux patients.

Références bibliographiques

- [1] « Champs électromagnétiques. Ce qu'il faut retenir - Risques - INRS ». Consulté le: 12 juin 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.inrs.fr/risques/champs-electromagnetiques/ce-qu-il-faut-retenir.html>
- [2] Y. Zhao *et al.*, « Multiple Injections of Electroporated Autologous T Cells Expressing a Chimeric Antigen Receptor Mediate Regression of Human Disseminated Tumor », *Cancer Res.*, vol. 70, n° 22, p. 9053-9061, nov. 2010, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2880.
- [3] C. B. Arena *et al.*, « High-frequency irreversible electroporation (H-FIRE) for non-thermal ablation without muscle contraction », *Biomed. Eng. OnLine*, vol. 10, n° 1, p. 102, nov. 2011, doi: 10.1186/1475-925X-10-102.
- [4] R. V. Davalos, L. M. Mir, et B. Rubinsky, « Tissue Ablation with Irreversible Electroporation », *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 33, n° 2, p. 223-231, févr. 2005, doi: 10.1007/s10439-005-8981-8.
- [5] E. Neumann, A. E. Sowers, et C. A. Jordan, Éd., « Electroporation and Electrofusion in Cell Biology », Boston, MA: Springer US, 1989. doi: 10.1007/978-1-4899-2528-2.
- [6] K. H. Schoenbach *et al.*, « The Effect of Intense Subnanosecond Electrical Pulses on Biological Cells », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 36, n° 2, p. 414-422, avr. 2008, doi: 10.1109/TPS.2008.918786.
- [7] S. Toepfl, V. Heinz, et D. Knorr, « 4 - Overview of Pulsed Electric Field Processing for Food », in *Emerging Technologies for Food Processing*, D.-W. Sun, Éd., London: Academic Press, 2005, p. 69-97. doi: 10.1016/B978-012676757-5/50006-2.
- [8] C. Piyadasa *et al.*, « The application of electromagnetic fields to the control of the scaling and biofouling of reverse osmosis membranes - A review », *Desalination*, vol. 418, p. 19-34, sept. 2017, doi: 10.1016/j.desal.2017.05.017.
- [9] P. Butkus, A. Murauskas, S. Tolvaišienė, et V. Novickij, « Concepts and Capabilities of In-House Built Nanosecond Pulsed Electric Field (nsPEF) Generators for Electroporation: State of Art », *Appl. Sci.*, vol. 10, n° 12, Art. n° 12, janv. 2020, doi: 10.3390/app10124244.
- [10] V. Malyško-Ptašinskė, G. Staigvila, et V. Novickij, « Invasive and non-invasive electrodes for successful drug and gene delivery in electroporation-based treatments », *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 10, 2023, Consulté le: 10 juillet 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2022.1094968>
- [11] D. Arnaud-Cormos, V. Couderc, et P. Leveque, « Photoconductive switching for pulsed high-voltage generators », in *Handbook of Electroporation*, vol. 2, 2017, p. 837-857. doi: 10.1007/978-3-319-32886-7_208.
- [12] A. Ennabili, *Biologie générale. Notes de cours.* 2023. doi: 10.13140/RG.2.2.32686.79681.
- [13] S. Engelhardt, « Characterization of the Cell-Sensor Contact with Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy », janv. 2007.
- [14] G. L. Science, « The Cell - Structure and Functions (Synopsis Points) ». Consulté le: 1 octobre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://golifescience.com/structure-and-function-of-the-cell/>

- [15] Y. Zhao *et al.*, « A microfluidic system enabling continuous characterization of specific membrane capacitance and cytoplasm conductivity of single cells in suspension », *Biosens. Bioelectron.*, vol. 43, p. 304-307, mai 2013, doi: 10.1016/j.bios.2012.12.035.
- [16] « Ultrashort electrical pulses open a new gateway into biological cells | IEEE Journals & Magazine | IEEE Xplore ». Consulté le: 1 octobre 2023. [En ligne]. Disponible sur: https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/1306682?casa_token=ptt4yFPZ-okAAAAA:rzALOOXj6MtVlxU2DEKBnH3-sAEV7IzWc_q8xLjLrmjeCwkD11EVHx7sjbGug1LD8X66MXNqh6VC
- [17] K. H. Schoenbach, S. J. Beebe, et E. S. Buescher, « Intracellular effect of ultrashort electrical pulses », *Bioelectromagnetics*, vol. 22, n° 6, p. 440-448, 2001, doi: 10.1002/bem.71.
- [18] F. André et L. M. Mir, « DNA electrotransfer: its principles and an updated review of its therapeutic applications », *Gene Ther.*, vol. 11, n° 1, Art. n° 1, oct. 2004, doi: 10.1038/sj.gt.3302367.
- [19] J. Teissié *et al.*, « Recent biotechnological developments of electropulsation. A prospective review », *Bioelectrochemistry*, vol. 55, n° 1, p. 107-112, janv. 2002, doi: 10.1016/S1567-5394(01)00138-4.
- [20] L. M. Mir, « Therapeutic perspectives of in vivo cell electropermeabilization », *Bioelectrochemistry*, vol. 53, n° 1, p. 1-10, janv. 2001, doi: 10.1016/S0302-4598(00)00112-4.
- [21] « Gene transfer into mouse lymphoma cells by electroporation in high electric fields. | The EMBO Journal ». Consulté le: 12 juin 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.embopress.org/doi/abs/10.1002/j.1460-2075.1982.tb01257.x>
- [22] J. A. Nollet, *Recherches sur les causes particulieres des phenomenes electriques et sur les effets nuisibles ou avantageux, qu'on peut en attendre*. Paris, 1749.
- [23] B. Frankenhaeuser et L. Widén, « Anode break excitation in desheathed frog nerve », *J. Physiol.*, vol. 131, n° 1, p. 243-247, janv. 1956.
- [24] R. Stämpfli et M. Willi, « Membrane potential of a ranvier node measured after electrical destruction of its membrane », *Experientia*, vol. 13, n° 7, p. 297-298, juill. 1957, doi: 10.1007/BF02158430.
- [25] L. M. Mir, S. Orlowski, B. Poddevin, et J. Belehradek, « Electrochemotherapy tumor treatment is improved by interleukin-2 stimulation of the host's defenses », *Eur. Cytokine Netw.*, vol. 3, n° 3, p. 331-334, mai 1992.
- [26] M. L. Yarmush, A. Golberg, G. Serša, T. Kotnik, et D. Miklavčič, « Electroporation-Based Technologies for Medicine: Principles, Applications, and Challenges », *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 16, n° 1, p. 295-320, 2014, doi: 10.1146/annurev-bioeng-071813-104622.
- [27] H. Aihara et J. Miyazaki, « Gene transfer into muscle by electroporation in vivo », *Nat. Biotechnol.*, vol. 16, n° 9, Art. n° 9, sept. 1998, doi: 10.1038/nbt0998-867.
- [28] C. Favard, D. S. Dean, et M.-P. Rols, « Electrotransfer as a Non Viral Method of Gene Delivery », *Curr. Gene Ther.*, vol. 7, n° 1, p. 67-77, févr. 2007, doi: 10.2174/156652307779940207.
- [29] T. Kotnik, W. Frey, M. Sack, S. Haberl Meglič, M. Peterka, et D. Miklavcic, « Electroporation-based applications in biotechnology », *Trends Biotechnol.*, vol. 33, p. 480-488, août 2015, doi: 10.1016/j.tibtech.2015.06.002.

- [30] D. Palanker, A. Vankov, Y. Freyvert, et P. Huie, « Pulsed electrical stimulation for control of vasculature: temporary vasoconstriction and permanent thrombosis », *Bioelectromagnetics*, vol. 29, n° 2, p. 100-107, févr. 2008, doi: 10.1002/bem.20368.
- [31] B. Rubinsky, J. Edd, et L. Horowitz, « Electroporation to interrupt blood flow », US20050171574A1, 4 août 2005 Consulté le: 12 juin 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://patents.google.com/patent/US20050171574A1/en>
- [32] L. H. Ramirez *et al.*, « Electrochemotherapy on liver tumours in rabbits », *Br. J. Cancer*, vol. 77, n° 12, p. 2104-2111, juin 1998, doi: 10.1038/bjc.1998.354.
- [33] J. Gehl, T. Skovsgaard, et L. M. Mir, « Vascular reactions to in vivo electroporation: characterization and consequences for drug and gene delivery », *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1569, n° 1-3, p. 51-58, janv. 2002, doi: 10.1016/s0304-4165(01)00233-1.
- [34] G. Sersa, M. Cemazar, C. S. Parkins, et D. J. Chaplin, « Tumour blood flow changes induced by application of electric pulses », *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990*, vol. 35, n° 4, p. 672-677, avr. 1999, doi: 10.1016/s0959-8049(98)00426-2.
- [35] L. C. Heller et R. Heller, « Electroporation Gene Therapy Preclinical and Clinical Trials for Melanoma », *Curr. Gene Ther.*, vol. 10, n° 4, p. 312-317, août 2010, doi: 10.2174/156652310791823489.
- [36] M. Cemazar, T. Jarm, et G. Sersa, « Cancer Electrogene Therapy with Interleukin-12 », *Curr. Gene Ther.*, vol. 10, n° 4, p. 300-311, août 2010, doi: 10.2174/156652310791823425.
- [37] N. Y. Sardesai et D. B. Weiner, « Electroporation delivery of DNA vaccines: prospects for success », *Curr. Opin. Immunol.*, vol. 23, n° 3, p. 421-429, juin 2011, doi: 10.1016/j.coi.2011.03.008.
- [38] A. V. Titomirov, S. Sukharev, et E. Kistanova, « In vivo electroporation and stable transformation of skin cells of newborn mice by plasmid DNA », *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gene Struct. Expr.*, vol. 1088, n° 1, p. 131-134, janv. 1991, doi: 10.1016/0167-4781(91)90162-F.
- [39] M.-P. Rols, C. Delteil, M. Golzio, P. Dumond, S. Cros, et J. Teissie, « In vivo electrically mediated protein and gene transfer in murine melanoma », *Nat. Biotechnol.*, vol. 16, n° 2, Art. n° 2, févr. 1998, doi: 10.1038/nbt0298-168.
- [40] R. Heller *et al.*, « In vivo gene electroinjection and expression in rat liver », *FEBS Lett.*, vol. 389, n° 3, p. 225-228, 1996, doi: 10.1016/0014-5793(96)00590-X.
- [41] L. C. Heller et R. Heller, « In Vivo Electroporation for Gene Therapy », *Hum. Gene Ther.*, vol. 17, n° 9, p. 890-897, sept. 2006, doi: 10.1089/hum.2006.17.890.
- [42] M. Cemazar et G. Sersa, « Electrotransfer of therapeutic molecules into tissues », *Curr. Opin. Mol. Ther.*, vol. 9, n° 6, p. 554-562, déc. 2007.
- [43] M. Nomura *et al.*, « In vivo induction of cytotoxic T lymphocytes specific for a single epitope introduced into an unrelated molecule », *J. Immunol. Methods*, vol. 193, n° 1, p. 41-49, juin 1996, doi: 10.1016/0022-1759(96)00041-5.
- [44] M. Rosati *et al.*, « Increased immune responses in rhesus macaques by DNA vaccination combined with electroporation », *Vaccine*, vol. 26, n° 40, p. 5223-5229, sept. 2008, doi: 10.1016/j.vaccine.2008.03.090.
- [45] S. R. Best *et al.*, « Administration of HPV DNA vaccine via electroporation elicits the strongest CD8+ T cell immune responses compared to intramuscular injection and intradermal gene gun delivery », *Vaccine*, vol. 27, n° 40, p. 5450-5459, sept. 2009, doi: 10.1016/j.vaccine.2009.07.005.

- [46] S. van Drunen Littel-van den Hurk et D. Hannaman, « Electroporation for DNA immunization: clinical application », *Expert Rev. Vaccines*, vol. 9, n° 5, p. 503-517, mai 2010, doi: 10.1586/erv.10.42.
- [47] B. D. Livingston, S. F. Little, A. Luxembourg, B. Ellefsen, et D. Hannaman, « Comparative performance of a licensed anthrax vaccine versus electroporation based delivery of a PA encoding DNA vaccine in rhesus macaques », *Vaccine*, vol. 28, n° 4, p. 1056-1061, janv. 2010, doi: 10.1016/j.vaccine.2009.10.111.
- [48] S. Guo, G. Sersa, et R. Heller, « Editorial: Pulsed electric field based technologies for oncology applications », *Front. Oncol.*, vol. 13, p. 1183900, mars 2023, doi: 10.3389/fonc.2023.1183900.
- [49] A. I. Daud *et al.*, « Phase I Trial of Interleukin-12 Plasmid Electroporation in Patients With Metastatic Melanoma », *J. Clin. Oncol.*, vol. 26, n° 36, p. 5896-5903, déc. 2008, doi: 10.1200/JCO.2007.15.6794.
- [50] M. E. Davis *et al.*, « Evidence of RNAi in humans from systemically administered siRNA via targeted nanoparticles », *Nature*, vol. 464, n° 7291, Art. n° 7291, avr. 2010, doi: 10.1038/nature08956.
- [51] K. Trontelj, M. Reberšek, M. Kandušer, V. Č. Šerbec, M. Šprohar, et D. Miklavčič, « Optimization of bulk cell electrofusion in vitro for production of human–mouse heterohybridoma cells », *Bioelectrochemistry*, vol. 74, n° 1, p. 124-129, nov. 2008, doi: 10.1016/j.bioelechem.2008.06.003.
- [52] U. von dem Esche *et al.*, « Passive vaccination with a human monoclonal antibody: Generation of antibodies and studies for efficacy in Bacillus anthracis infections », *Immunobiology*, vol. 216, n° 7, p. 847-853, juill. 2011, doi: 10.1016/j.imbio.2010.12.001.
- [53] I. Edhemovic *et al.*, « Electrochemotherapy: A New Technological Approach in Treatment of Metastases in the Liver », *Technol. Cancer Res. Treat.*, vol. 10, n° 5, p. 475-485, oct. 2011, doi: 10.7785/tcrt.2012.500224.
- [54] L. M. Mir, « Bases and rationale of the electrochemotherapy », *Eur. J. Cancer Suppl.*, vol. 4, n° 11, p. 38-44, nov. 2006, doi: 10.1016/j.ejcsup.2006.08.005.
- [55] L. M. Mir *et al.*, « [Electrochemotherapy, a new antitumor treatment: first clinical trial] », *C. R. Acad. Sci. III*, vol. 313, n° 13, p. 613-618, janv. 1991.
- [56] L. M. Mir *et al.*, « Effective treatment of cutaneous and subcutaneous malignant tumours by electrochemotherapy », *Br. J. Cancer*, vol. 77, n° 12, Art. n° 12, juin 1998, doi: 10.1038/bjc.1998.388.
- [57] R. Heller, « Treatment of cutaneous nodules using electrochemotherapy », *J. Fla. Med. Assoc.*, vol. 82, n° 2, p. 147-150, févr. 1995.
- [58] G. Serša, B. Štabuc, M. Čemažar, D. Miklavčič, et Z. Rudolf, « Electrochemotherapy with Cisplatin: Clinical Experience in Malignant Melanoma Patients¹ », *Clin. Cancer Res.*, vol. 6, n° 3, p. 863-867, mars 2000.
- [59] M. Cemazar, M. Golzio, J.-M. Escoffre, B. Couderc, G. Sersa, et J. Teissié, « In vivo imaging of tumor growth after electrochemotherapy with cisplatin », *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 348, n° 3, p. 997-1002, sept. 2006, doi: 10.1016/j.bbrc.2006.07.132.
- [60] G. Sersa, D. Miklavcic, M. Cemazar, Z. Rudolf, G. Pucihar, et M. Snoj, « Electrochemotherapy in treatment of tumours », *Eur. J. Surg. Oncol. EJSO*, vol. 34, n° 2, p. 232-240, févr. 2008, doi: 10.1016/j.ejso.2007.05.016.
- [61] C. Kunte *et al.*, « Electrochemotherapy in the treatment of metastatic malignant melanoma: A prospective cohort study by InspECT », *Br. J. Dermatol.*, vol. 176, janv. 2017, doi: 10.1111/bjd.15340.

- [62] R. Domanico, S. Trapasso, M. Santoro, D. Pingitore, et E. Allegra, « Electrochemotherapy in combination with chemoradiotherapy in the treatment of oral carcinomas in advanced stages of disease: Efficacy, safety, and clinical outcomes in a small number of selected cases », *Drug Des. Devel. Ther.*, vol. 9, p. 1185-91, févr. 2015, doi: 10.2147/DDDT.S75752.
- [63] S. Orłowski, J. Belehradek, C. Paoletti, et L. M. Mir, « Transient electroporation of cells in culture: Increase of the cytotoxicity of anticancer drugs », *Biochem. Pharmacol.*, vol. 37, n° 24, p. 4727-4733, déc. 1988, doi: 10.1016/0006-2952(88)90344-9.
- [64] L. M. Mir, S. Orłowski, J. Belehradek, et C. Paoletti, « Electrochemotherapy potentiation of antitumor effect of bleomycin by local electric pulses », *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, vol. 27, n° 1, p. 68-72, janv. 1991, doi: 10.1016/0277-5379(91)90064-K.
- [65] G. Serša, M. Čemažar, et D. Miklavčič, « Antitumor Effectiveness of Electrochemotherapy with cis-Diamminedichloroplatinum(II) in Mice1 », *Cancer Res.*, vol. 55, n° 15, p. 3450-3455, août 1995.
- [66] « Full article: Electrochemotherapy for large cutaneous recurrence of breast cancer: A phase II clinical trial ». Consulté le: 21 juin 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/0284186X.2012.685524>
- [67] G. Sersa, T. Cufer, S. M. Paulin, M. Cemazar, et M. Snoj, « Electrochemotherapy of chest wall breast cancer recurrence », *Cancer Treat. Rev.*, vol. 38, n° 5, p. 379-386, août 2012, doi: 10.1016/j.ctrv.2011.07.006.
- [68] M. Gargiulo, A. Papa, P. Capasso, M. Moio, E. Cubicciotti, et S. Parascandolo, « Electrochemotherapy for Non-Melanoma Head and Neck Cancers: Clinical Outcomes in 25 Patients », *Ann. Surg.*, vol. 255, n° 6, p. 1158, juin 2012, doi: 10.1097/SLA.0b013e31824f68b2.
- [69] D. Miklavčič *et al.*, « Electrochemotherapy: technological advancements for efficient electroporation-based treatment of internal tumors », *Med. Biol. Eng. Comput.*, vol. 50, n° 12, p. 1213-1225, déc. 2012, doi: 10.1007/s11517-012-0991-8.
- [70] N. Esmaili et M. Friebe, « Electrochemotherapy: A Review of Current Status, Alternative IGP Approaches, and Future Perspectives », *J. Healthc. Eng.*, vol. 2019, p. 2784516, janv. 2019, doi: 10.1155/2019/2784516.
- [71] « Electrochemotherapy of tumors as in situ vaccination boosted by immunogene electrotransfer | SpringerLink ». Consulté le: 21 juin 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00262-015-1724-2>
- [72] R. Benevento, A. Santoriello, G. Perna, et S. Canonico, « Electrochemotherapy of cutaneous metastasis from breast cancer in elderly patients: a preliminary report », *BMC Surg.*, vol. 12, n° 1, p. S6, nov. 2012, doi: 10.1186/1471-2482-12-S1-S6.
- [73] G. Schmidt, I. Juhasz-Böss, E.-F. Solomayer, et D. Herr, « Electrochemotherapy in Breast Cancer: A Review of References », *Geburtshilfe Frauenheilkd.*, vol. 74, n° 06, p. 557-562, juin 2014, doi: 10.1055/s-0034-1368538.
- [74] G. L. Colombo, S. D. Matteo, et L. M. Mir, « Cost-effectiveness analysis of electrochemotherapy with the Cliniporator™ vs other methods for the control and treatment of cutaneous and subcutaneous tumors », *Ther. Clin. Risk Manag.*, vol. 4, n° 2, p. 541-548, avr. 2008, doi: 10.2147/TCRM.S2780.
- [75] B. Mali *et al.*, « Tumor size and effectiveness of electrochemotherapy », *Radiol. Oncol.*, vol. 47, n° 1, p. 32-41, janv. 2013, doi: 10.2478/raon-2013-0002.
- [76] A. Testori *et al.*, « Local and intralesional therapy of in-transit melanoma metastases », *J. Surg. Oncol.*, vol. 104, n° 4, p. 391-396, 2011, doi: 10.1002/jso.22029.

- [77] Y. Tamzali, L. Borde, M. P. Rols, M. Golzio, F. Lyazrhi, et J. Teissie, « Successful treatment of equine sarcoids with cisplatin electrochemotherapy: A retrospective study of 48 cases », *Equine Vet. J.*, vol. 44, n° 2, p. 214-220, 2012, doi: 10.1111/j.2042-3306.2011.00425.x.
- [78] L. M. Mir *et al.*, « First clinical trial of cat soft-tissue sarcomas treatment by electrochemotherapy », *Br. J. Cancer*, vol. 76, n° 12, Art. n° 12, déc. 1997, doi: 10.1038/bjc.1997.606.
- [79] V. Kodre, M. Cemazar, J. Pecar, G. Sersa, A. Cőr, et N. Tozon, « Electrochemotherapy Compared to Surgery for Treatment of Canine Mast Cell Tumours », *In Vivo*, vol. 23, n° 1, p. 55-62, janv. 2009.
- [80] M. P. Rols, Y. Tamzali, et J. Teissié, « Electrochemotherapy of horses. A preliminary clinical report », *Bioelectrochemistry*, vol. 55, n° 1, p. 101-105, janv. 2002, doi: 10.1016/S1567-5394(01)00156-6.
- [81] S. K. Frandsen, H. Gissel, P. Hojman, T. Tramm, J. Eriksen, et J. Gehl, « Direct Therapeutic Applications of Calcium Electroporation to Effectively Induce Tumor Necrosis », *Cancer Res.*, vol. 72, n° 6, p. 1336-1341, mars 2012, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3782.
- [82] S. K. Frandsen, H. Gissel, P. Hojman, J. Eriksen, et J. Gehl, « Calcium electroporation in three cell lines: a comparison of bleomycin and calcium, calcium compounds, and pulsing conditions », *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.*, vol. 1840, n° 3, p. 1204-1208, mars 2014, doi: 10.1016/j.bbagen.2013.12.003.
- [83] E. L. Hansen, E. B. Sozer, S. Romeo, S. K. Frandsen, P. T. Vernier, et J. Gehl, « Dose-Dependent ATP Depletion and Cancer Cell Death following Calcium Electroporation, Relative Effect of Calcium Concentration and Electric Field Strength », *PLOS ONE*, vol. 10, n° 4, p. e0122973, avr. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0122973.
- [84] S. K. Frandsen, M. Vissing, et J. Gehl, « A Comprehensive Review of Calcium Electroporation—A Novel Cancer Treatment Modality », *Cancers*, vol. 12, n° 2, Art. n° 2, févr. 2020, doi: 10.3390/cancers12020290.
- [85] « Irreversible Electroporation: A Novel Image-Guided Cancer Therapy ». Consulté le: 21 juin 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.gutnliver.org/journal/view.html?doi=10.5009/gnl.2010.4.S1.S99>
- [86] J. A. Vogel *et al.*, « Time-Dependent Impact of Irreversible Electroporation on Pancreas, Liver, Blood Vessels and Nerves: A Systematic Review of Experimental Studies », *PLOS ONE*, vol. 11, n° 11, p. e0166987, nov. 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0166987.
- [87] B. Rubinsky, *Irreversible Electroporation*. Springer Science & Business Media, 2009.
- [88] L. Miller, J. Leor, et B. Rubinsky, « Cancer Cells Ablation with Irreversible Electroporation », *Technol. Cancer Res. Treat.*, vol. 4, n° 6, p. 699-705, déc. 2005, doi: 10.1177/153303460500400615.
- [89] J. F. Edd, L. Horowitz, R. V. Davalos, L. M. Mir, et B. Rubinsky, « In vivo results of a new focal tissue ablation technique: irreversible electroporation », *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 53, n° 7, p. 1409-1415, juill. 2006, doi: 10.1109/TBME.2006.873745.
- [90] B. Rubinsky, G. Onik, et P. Mikus, « Irreversible Electroporation: A New Ablation Modality — Clinical Implications », *Technol. Cancer Res. Treat.*, vol. 6, n° 1, p. 37-48, févr. 2007, doi: 10.1177/153303460700600106.
- [91] G. Onik et B. Rubinsky, « Irreversible Electroporation: First Patient Experience Focal Therapy of Prostate Cancer », in *Irreversible Electroporation*, B. Rubinsky, Éd., in Series in Biomedical Engineering. , Berlin, Heidelberg: Springer, 2010, p. 235-247. doi: 10.1007/978-3-642-05420-4_10.

- [92] A. Ivorra et B. Rubinsky, « In vivo electrical impedance measurements during and after electroporation of rat liver », *Bioelectrochemistry*, vol. 70, n° 2, p. 287-295, mai 2007, doi: 10.1016/j.bioelechem.2006.10.005.
- [93] M. Phillips, E. Maor, et B. Rubinsky, « Principles of Tissue Engineering With Nonthermal Irreversible Electroporation », *J. Heat Transf.*, vol. 133, n° 011004, sept. 2010, doi: 10.1115/1.4002301.
- [94] A. Sugrue *et al.*, « Irreversible electroporation for catheter-based cardiac ablation: a systematic review of the preclinical experience », *J. Interv. Card. Electrophysiol.*, vol. 55, n° 3, p. 251-265, sept. 2019, doi: 10.1007/s10840-019-00574-3.
- [95] P. T. Kingham *et al.*, « Ablation of Perivascular Hepatic Malignant Tumors with Irreversible Electroporation », *J. Am. Coll. Surg.*, vol. 215, n° 3, p. 379, sept. 2012, doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2012.04.029.
- [96] C.-Y. Hsiao, P.-C. Yang, X. Li, et K.-W. Huang, « Clinical impact of irreversible electroporation ablation for unresectable hilar cholangiocarcinoma », *Sci. Rep.*, vol. 10, n° 1, Art. n° 1, juill. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-67772-2.
- [97] F. Colletini *et al.*, « Image-guided Irreversible Electroporation of Localized Prostate Cancer: Functional and Oncologic Outcomes », *Radiology*, vol. 292, n° 1, p. 250-257, juill. 2019, doi: 10.1148/radiol.2019181987.
- [98] E. Ben-David *et al.*, « Irreversible Electroporation: Treatment Effect Is Susceptible to Local Environment and Tissue Properties », *Radiology*, vol. 269, n° 3, p. 738-747, déc. 2013, doi: 10.1148/radiol.13122590.
- [99] « Understanding the role of calcium-mediated cell death in high-frequency irreversible electroporation | Elsevier Enhanced Reader ». Consulté le: 15 mai 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1567539419303627?token=45C405467885DC8894A1F58A2FFBEEA5FC3A1A25B64D34EA7B7B77F020F58ABEC3150B4198A863A93F4E8E0C5F6DEAF5&originRegion=eu-west-1&originCreation=20230515053800>
- [100] I. Praporscic, S. Ghnimi, et E. Vorobiev, « Enhancement of Pressing of Sugar Beet Cuts by Combined Ohmic Heating and Pulsed Electric Field Treatment », *J. Food Process. Preserv.*, vol. 29, n° 5-6, p. 378-389, 2005, doi: 10.1111/j.1745-4549.2005.00035.x.
- [101] M. Fincan, F. DeVito, et P. Dejmek, « Pulsed electric field treatment for solid-liquid extraction of red beetroot pigment », *J. Food Eng.*, vol. 64, n° 3, p. 381-388, sept. 2004, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2003.11.006.
- [102] K. El-Belghiti, A. Moubarik, et E. Vorobiev, « Aqueous Extraction of Solutes from Fennel (foeniculum Vulgare) Assisted by Pulsed Electric Field », *J. Food Process Eng.*, vol. 31, n° 4, p. 548-563, 2008, doi: 10.1111/j.1745-4530.2007.00175.x.
- [103] F. Zhang, M. Tian, M. Du, et T. Fang, « Enhancing the activity of pectinase using pulsed electric field (PEF) treatment », *J. Food Eng.*, vol. 205, p. 56-63, juill. 2017, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.02.023.
- [104] S. Y. Ho, G. S. Mittal, et J. D. Cross, « Effects of high field electric pulses on the activity of selected enzymes », *J. Food Eng.*, vol. 31, n° 1, p. 69-84, janv. 1997, doi: 10.1016/S0260-8774(96)00052-0.
- [105] N. Najim et K. J. Aryana, « A mild pulsed electric field condition that improves acid tolerance, growth, and protease activity of *Lactobacillus acidophilus* LA-K and *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* LB-12 », *J. Dairy Sci.*, vol. 96, n° 6, p. 3424-3434, juin 2013, doi: 10.3168/jds.2012-5842.

- [106] « Reversible electroporation caused by pulsed electric field – Opportunities and challenges for the food sector - ScienceDirect ». Consulté le: 6 octobre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224423002273>
- [107] J. García-Parra *et al.*, « Effect of high-hydrostatic pressure and moderate-intensity pulsed electric field on plum », *Food Sci. Technol. Int.*, vol. 24, n° 2, p. 145-160, mars 2018, doi: 10.1177/1082013217735965.
- [108] « Effects of Pulsed Electric Fields on the Bioactive Compound Content and Antioxidant Capacity of Tomato Fruit | Journal of Agricultural and Food Chemistry ». Consulté le: 7 octobre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf205216m>
- [109] A. Golberg, J. Fischer, et B. Rubinsky, « The Use of Irreversible Electroporation in Food Preservation », in *Irreversible Electroporation*, B. Rubinsky, Éd., in Series in Biomedical Engineering. , Berlin, Heidelberg: Springer, 2010, p. 273-312. doi: 10.1007/978-3-642-05420-4_13.
- [110] « A review of sublethal effects of pulsed electric field on cells in food processing | Elsevier Enhanced Reader ». Consulté le: 15 mai 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0260877417305101?token=1E0BFC7B7915072D8BD7124B216AC16CF02D487FF9C0DFAF53173F7300DF9D4647D67EB97B336247DA1870164ADE27E5&originRegion=eu-west-1&originCreation=20230515033017>
- [111] J. Mosqueda-Melgar, R. M. Raybaudi-Massilia, et O. Martín-Belloso, « Microbiological shelf life and sensory evaluation of fruit juices treated by high-intensity pulsed electric fields and antimicrobials », *Food Bioprod. Process.*, vol. 90, n° 2, p. 205-214, avr. 2012, doi: 10.1016/j.fbp.2011.03.004.
- [112] A. Alahakoon, F. Faridnia, P. Bremer, P. Silcock, et I. Oey, « Pulsed Electric Fields Effects on Meat Tissue Quality and Functionality », in *Handbook of Electroporation*, 2016. doi: 10.1007/978-3-319-32886-7_179.
- [113] C. Arroyo, D. Lascorz, L. O'Dowd, F. Noci, J. Arimi, et J. G. Lyng, « Effect of Pulsed Electric Field treatments at various stages during conditioning on quality attributes of beef longissimus thoracis et lumborum muscle », *Meat Sci.*, vol. 99, p. 52-59, janv. 2015, doi: 10.1016/j.meatsci.2014.08.004.
- [114] « Marine Biofouling Management Services Australia | Biofouling Management Plan », <https://www.franmarine.com.au/>. Consulté le: 17 mai 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.franmarine.com.au/biofouling-management/>
- [115] FULLER, George Warren, « Report on the investigations into the purification of the Ohio River water: at Louisville, Kentucky, made to the president and directors of the Louisville Water Company. », 1898.
- [116] R. Ramaswamy, R. Prabu Ramachandran, et V. Gowrisree, « High Voltage Pulsed Electric Field Application Using Titanium Electrodes for Bacterial Inactivation in Unpurified Water », *Jpn. J. Food Eng.*, vol. 20, n° 2, p. 63-70, juin 2019, doi: 10.11301/jsfe.19546.
- [117] J. R. McCoy *et al.*, « A multi-head intradermal electroporation device allows for tailored and increased dose DNA vaccine delivery to the skin », *Hum. Vaccines Immunother.*, vol. 11, n° 3, p. 746-754, mars 2015, doi: 10.4161/21645515.2014.978223.
- [118] A. L. Lagu, « Applications of capillary electrophoresis in biotechnology », *ELECTROPHORESIS*, vol. 20, n° 15-16, p. 3145-3155, 1999, doi: 10.1002/(SICI)1522-2683(19991001)20:15/16<3145::AID-ELPS3145>3.0.CO;2-0.

- [119] S.-H. Chiou et S.-H. Wu, « Evaluation of commonly used electrophoretic methods for the analysis of proteins and peptides and their application to biotechnology », *Anal. Chim. Acta*, vol. 383, n° 1, p. 47-60, mars 1999, doi: 10.1016/S0003-2670(98)00487-5.
- [120] H. Zhang et W. Jin, « Analysis of amino acids in individual human erythrocytes by capillary electrophoresis with electroporation for intracellular derivatization and laser-induced fluorescence detection », *ELECTROPHORESIS*, vol. 25, n° 3, p. 480-486, 2004, doi: 10.1002/elps.200305642.
- [121] S. Barany, « Electrophoresis in strong electric fields », *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 147-148, p. 36-43, mars 2009, doi: 10.1016/j.cis.2008.10.006.
- [122] « Electrophoresis of cells and the biological relevance of surface charge - Mehrishi - 2002 - ELECTROPHORESIS - Wiley Online Library ». Consulté le: 7 octobre 2023. [En ligne]. Disponible sur: [https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/1522-2683\(200207\)23:13%3C1984::AID-ELPS1984%3E3.0.CO;2-U?casa_token=nWA2t_l-RXUAAAAA:ijmJ8ZabjYB31pkwgCNjXYKAwCAOVW2NX6ai_2AfP4Nzut-Q7QVIkvrTOMosK076VQ6c3JxOGIPM9A](https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/1522-2683(200207)23:13%3C1984::AID-ELPS1984%3E3.0.CO;2-U?casa_token=nWA2t_l-RXUAAAAA:ijmJ8ZabjYB31pkwgCNjXYKAwCAOVW2NX6ai_2AfP4Nzut-Q7QVIkvrTOMosK076VQ6c3JxOGIPM9A)
- [123] I. Ermolina et H. Morgan, « The electrokinetic properties of latex particles: comparison of electrophoresis and dielectrophoresis », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 285, n° 1, p. 419-428, mai 2005, doi: 10.1016/j.jcis.2004.11.003.
- [124] J. P. Camp et A. T. Capitano, « Size-dependent mobile surface charge model of cell electrophoresis », *Biophys. Chem.*, vol. 113, n° 2, p. 115-122, févr. 2005, doi: 10.1016/j.bpc.2004.07.034.
- [125] C. Ionescu-Zanetti, A. Blatz, et M. Khine, « Electrophoresis-assisted single-cell electroporation for efficient intracellular delivery », *Biomed. Microdevices*, vol. 10, n° 1, p. 113-116, févr. 2008, doi: 10.1007/s10544-007-9115-x.
- [126] Y.-S. Choi, Y.-J. Kim, M. Im, B.-G. Kim, K.-S. Yun, et E. Yoon, « Three Dimensional Electrode Structure Controlled by Dielectrophoresis for Flow-Through Micro Electroporation System », in *19th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems*, janv. 2006, p. 466-469. doi: 10.1109/MEMSYS.2006.1627837.
- [127] T. S. Santra et F. G. Tseng, « Recent Trends on Micro/Nanofluidic Single Cell Electroporation », *Micromachines*, vol. 4, n° 3, Art. n° 3, sept. 2013, doi: 10.3390/mi4030333.
- [128] S. I. Sukharev, V. A. Klenchin, S. M. Serov, L. V. Chernomordik, et Chizmadzhev YuA, « Electroporation and electrophoretic DNA transfer into cells. The effect of DNA interaction with electropores », *Biophys. J.*, vol. 63, n° 5, p. 1320-1327, nov. 1992, doi: 10.1016/S0006-3495(92)81709-5.
- [129] K. H. Schoenbach *et al.*, « Bioelectric Effects of Intense Nanosecond Pulses », *IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul.*, vol. 14, n° 5, p. 1088-1109, oct. 2007, doi: 10.1109/TDEI.2007.4339468.
- [130] M. Breton et L. M. Mir, « Microsecond and nanosecond electric pulses in cancer treatments », *Bioelectromagnetics*, vol. 33, n° 2, p. 106-123, 2012, doi: 10.1002/bem.20692.
- [131] G. L. Craviso, S. Choe, P. Chatterjee, I. Chatterjee, et P. T. Vernier, « Nanosecond Electric Pulses: A Novel Stimulus for Triggering Ca²⁺ Influx into Chromaffin Cells Via Voltage-Gated Ca²⁺ Channels », *Cell. Mol. Neurobiol.*, vol. 30, n° 8, p. 1259-1265, nov. 2010, doi: 10.1007/s10571-010-9573-1.
- [132] S. S. Scarlett, J. A. White, P. F. Blackmore, K. H. Schoenbach, et J. F. Kolb, « Regulation of intracellular calcium concentration by nanosecond pulsed electric

- fields », *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.*, vol. 1788, n° 5, p. 1168-1175, mai 2009, doi: 10.1016/j.bbamem.2009.02.006.
- [133] A. Kielbik *et al.*, « Effects of high-frequency nanosecond pulses on prostate cancer cells », *Sci. Rep.*, vol. 11, p. 15835, août 2021, doi: 10.1038/s41598-021-95180-7.
- [134] B. P. Lassiter, S. Guo, et S. J. Beebe, « Nano-Pulse Stimulation Ablates Orthotopic Rat Hepatocellular Carcinoma and Induces Innate and Adaptive Memory Immune Mechanisms that Prevent Recurrence », *Cancers*, vol. 10, n° 3, Art. n° 3, mars 2018, doi: 10.3390/cancers10030069.
- [135] R. Chen *et al.*, « A protective effect after clearance of orthotopic rat hepatocellular carcinoma by nanosecond pulsed electric fields », *Eur. J. Cancer*, vol. 50, n° 15, p. 2705-2713, oct. 2014, doi: 10.1016/j.ejca.2014.07.006.
- [136] J. Zhao *et al.*, « Antitumor Effect and Immune Response of Nanosecond Pulsed Electric Fields in Pancreatic Cancer », *Front. Oncol.*, vol. 10, 2021, Consulté le: 12 juin 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2020.621092>
- [137] K. H. Schoenbach, S. Katsuki, R. H. Stark, E. S. Buescher, et S. J. Beebe, « Bioelectrics-new applications for pulsed power technology », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 30, n° 1, p. 293-300, févr. 2002, doi: 10.1109/TPS.2002.1003873.
- [138] « Evidence of Protein Collective Motions on the Picosecond Timescale - ScienceDirect ». Consulté le: 7 juin 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006349511000087>
- [139] Y.-Y. Hua, X.-S. Wang, Y. Zhang, C.-G. Yao, X.-M. Zhang, et Z.-A. Xiong, « Intense picosecond pulsed electric fields induce apoptosis through a mitochondrial-mediated pathway in HeLa cells », *Mol. Med. Rep.*, vol. 5, n° 4, p. 981-987, avr. 2012, doi: 10.3892/mmr.2012.780.
- [140] « Cell stimulation and calcium mobilization by picosecond electric pulses - ScienceDirect ». Consulté le: 7 juin 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567539415000717>
- [141] R. Orlacchio, L. Carr, C. Palego, D. Arnaud-Cormos, et P. Leveque, « High-voltage 10 ns delayed paired or bipolar pulses for in vitro bioelectric experiments », *Bioelectrochemistry*, vol. 137, p. 107648, févr. 2021, doi: 10.1016/j.bioelechem.2020.107648.
- [142] T. Kotnik, L. M. Mir, K. Flisar, M. Puc, et D. Miklavčič, « Cell membrane electroporation by symmetrical bipolar rectangular pulses: Part I. Increased efficiency of permeabilization », *Bioelectrochemistry*, vol. 54, n° 1, p. 83-90, août 2001, doi: 10.1016/S1567-5394(01)00114-1.
- [143] V. V. Moroz, M. S. Bogushevich, A. M. Chernysh, E. K. Kozlova, et A. S. Sharakshane, « Effect of Defibrillation Pulses of Different Shapes on Biomembranes: Experimental Study », *Bull. Exp. Biol. Med.*, vol. 137, n° 2, p. 120-123, févr. 2004, doi: 10.1023/B:BEBM.0000028118.86481.f6.
- [144] « Electroporation of Cardiac Cell Membranes with Monophasic or Biphasic Rectangular Pulses - TOVAR - 1991 - Pacing and Clinical Electrophysiology - Wiley Online Library ». Consulté le: 7 octobre 2023. [En ligne]. Disponible sur: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1540-8159.1991.tb02785.x?casa_token=tyH30GKvnpEAAAAA:4DLD27FY1SRGCLvhrM1mdzw_dLlf9reiC75fxLBbLqWAu8o2RVTQO4zQTEcSd0t3pS71XZAyJ9q1UQ

- [145] T. Kotnik, G. Pucihar, M. Reberšek, D. Miklavčič, et L. M. Mir, « Role of pulse shape in cell membrane electropermeabilization », *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.*, vol. 1614, n° 2, p. 193-200, août 2003, doi: 10.1016/S0005-2736(03)00173-1.
- [146] E. Tekle, R. D. Astumian, et P. B. Chock, « Electroporation by using bipolar oscillating electric field: an improved method for DNA transfection of NIH 3T3 cells. », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 88, n° 10, p. 4230-4234, mai 1991, doi: 10.1073/pnas.88.10.4230.
- [147] M. Casciola *et al.*, « Cancellation of nerve excitation by the reversal of nanosecond stimulus polarity and its relevance to the gating time of sodium channels », *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 76, n° 22, p. 4539-4550, nov. 2019, doi: 10.1007/s00018-019-03126-0.
- [148] A. G. Pakhomov *et al.*, « Cancellation of cellular responses to nanoelectroporation by reversing the stimulus polarity », *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 71, n° 22, p. 4431-4441, nov. 2014, doi: 10.1007/s00018-014-1626-z.
- [149] S. Xiao, C. Zhou, E. Yang, et S. R. Rajulapati, « Nanosecond bipolar pulse generators for bioelectrics », *Bioelectrochemistry*, vol. 123, p. 77-87, oct. 2018, doi: 10.1016/j.bioelechem.2018.04.017.
- [150] L. Carr *et al.*, « A nanosecond pulsed electric field (nsPEF) can affect membrane permeabilization and cellular viability in a 3D spheroids tumor model », *Bioelectrochemistry*, vol. 141, p. 107839, oct. 2021, doi: 10.1016/j.bioelechem.2021.107839.
- [151] E. C. Gianulis, M. Casciola, S. Xiao, O. N. Pakhomova, et A. G. Pakhomov, « Electropermeabilization by uni- or bipolar nanosecond electric pulses: The impact of extracellular conductivity », *Bioelectrochemistry*, vol. 119, p. 10-19, févr. 2018, doi: 10.1016/j.bioelechem.2017.08.005.
- [152] E. C. Gianulis, J. Lee, C. Jiang, S. Xiao, B. L. Ibey, et A. G. Pakhomov, « Electroporation of mammalian cells by nanosecond electric field oscillations and its inhibition by the electric field reversal », *Sci. Rep.*, vol. 5, n° 1, p. 13818, sept. 2015, doi: 10.1038/srep13818.
- [153] S. Kohler, « Contribution au développement et à la dosimétrie multi-échelles de dispositifs pour l'exposition de cellules biologiques à des impulsions électriques nanosecondes et subnanosecondes de haute intensité », Thèse de doctorat, Limoges, 2013. Consulté le: 11 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2013LIMO4021>
- [154] K. Kinoshita *et al.*, « Electroporation of cell membrane visualized under a pulsed-laser fluorescence microscope », *Biophys. J.*, vol. 53, n° 6, p. 1015-1019, juin 1988, doi: 10.1016/S0006-3495(88)83181-3.
- [155] A. Kusumi *et al.*, « Development of a streak-camera-based time-resolved microscope fluorometer and its application to studies of membrane fusion in single cells », *Biochemistry*, vol. 30, n° 26, p. 6517-6527, juill. 1991, doi: 10.1021/bi00240a024.
- [156] B. L. Ibey, J. N. Bixler, C. C. Roth, et H. T. Beier, « Evaluation of membrane potential changes induced by unipolar and bipolar nanosecond pulsed electric fields », in *High-Speed Biomedical Imaging and Spectroscopy IV*, SPIE, mars 2019, p. 56-62. doi: 10.1117/12.2511189.
- [157] M. Fujiwara et W. Cieslik, « [33] - Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy: Two-Dimensional Distribution Measurement of Fluorescence Lifetime », in *Methods in Enzymology*, vol. 414, J. Inglese, Éd., in Measuring Biological Responses with Automated Microscopy, vol. 414. , Academic Press, 2006, p. 633-642. doi: 10.1016/S0076-6879(06)14033-1.

- [158] C. Biskup, T. Zimmer, et K. Benndorf, « FRET between cardiac Na⁺ channel subunits measured with a confocal microscope and a streak camera », *Nat. Biotechnol.*, vol. 22, n° 2, Art. n° 2, févr. 2004, doi: 10.1038/nbt935.
- [159] A. S. Kiester, B. L. Ibey, Z. N. Coker, A. G. Pakhomov, et J. N. Bixler, « Strobe photography mapping of cell membrane potential with nanosecond resolution », *Bioelectrochemistry*, vol. 142, p. 107929, déc. 2021, doi: 10.1016/j.bioelechem.2021.107929.
- [160] K. M. Balss, C. T. Avedisian, R. E. Cavicchi, et M. J. Tarlov, « Nanosecond Imaging of Microboiling Behavior on Pulsed-Heated Au Films Modified with Hydrophilic and Hydrophobic Self-Assembled Monolayers », *Langmuir*, vol. 21, n° 23, p. 10459-10467, nov. 2005, doi: 10.1021/la040137t.
- [161] W. Frey *et al.*, « Plasma Membrane Voltage Changes during Nanosecond Pulsed Electric Field Exposure », *Biophys. J.*, vol. 90, n° 10, p. 3608-3615, mai 2006, doi: 10.1529/biophysj.105.072777.
- [162] E. Abbe, « Beiträge zur Theorie des Mikroskops und der mikroskopischen Wahrnehmung », *Arch. Für Mikrosk. Anat.*, vol. 9, n° 1, p. 413-468, déc. 1873, doi: 10.1007/BF02956173.
- [163] F. Zernike, « Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects part II », *Physica*, vol. 9, n° 10, p. 974-986, déc. 1942, doi: 10.1016/S0031-8914(42)80079-8.
- [164] D. Gabor, « A New Microscopic Principle », *Nature*, vol. 161, n° 4098, Art. n° 4098, mai 1948, doi: 10.1038/161777a0.
- [165] « Quantitative Phase Imaging of Cells and Tissues | McGraw-Hill Education - Access Engineering ». Consulté le: 9 octobre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.accessengineeringlibrary.com/content/book/9780071663427>
- [166] Z. A. Steelman *et al.*, « Visualizing bleb mass dynamics in single cells using quantitative phase microscopy », *Appl. Opt.*, vol. 60, n° 25, p. G10-G18, sept. 2021, doi: 10.1364/AO.426147.
- [167] Shu Xiao, « Pulsed Power Generators », in *Ultrashort Electric Pulse Effects in Biology and Medicine*, in Series in BioEngineering. , 2021, p. 339-370.
- [168] L. Redondo et J. F. Silva, « 26 - Solid State Pulsed Power Electronics », in *Power Electronics Handbook (Third Edition)*, M. H. Rashid, Éd., Boston: Butterworth-Heinemann, 2011, p. 669-707. doi: 10.1016/B978-0-12-382036-5.00026-4.
- [169] J. Mankowski et M. Kristiansen, « A review of short pulse generator technology », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 28, n° 1, p. 102-108, févr. 2000, doi: 10.1109/27.842875.
- [170] Q. Zhang, G. V. Barbosa-Cánovas, et B. G. Swanson, « Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization », *J. Food Eng.*, vol. 25, n° 2, p. 261-281, janv. 1995, doi: 10.1016/0260-8774(94)00030-D.
- [171] O. Liebfried, « Review of Inductive Pulsed Power Generators for Railguns », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 45, n° 7, p. 1108-1114, juill. 2017, doi: 10.1109/TPS.2017.2686648.
- [172] P. Educ, « The RLCcircuit and the determination of inductance », p. 5.
- [173] S. W. H. de Haan et P. R. Willcock, « Comparison of the energy performance of pulse generation circuits for PEF », *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 3, n° 4, p. 349-356, déc. 2002, doi: 10.1016/S1466-8564(02)00069-3.
- [174] S. Kohler, S. E. Amari, V. Couderc, D. Arnaud-Cormos, et P. Leveque, « Flexible 50-Ohm high-voltage nanosecond pulse generator », in *2012 IEEE International Power*

- Modulator and High Voltage Conference (IPMHVC)*, juin 2012, p. 195-197. doi: 10.1109/IPMHVC.2012.6518712.
- [175] S. El Amari, « Développement et caractérisation de générateur optoélectronique d'impulsions de champ électrique nanoseconde et subnanoseconde de forte intensité : application au domaine biomédical », Thèse de doctorat, Limoges, 2011. Consulté le: 27 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2011LIMO4052>
- [176] S. El Amari *et al.*, « Kilovolt, Nanosecond, and Picosecond Electric Pulse Shaping by Using Optoelectronic Switching », *IEEE Photonics Technol. Lett.*, vol. 22, n° 21, p. 1577-1579, nov. 2010, doi: 10.1109/LPT.2010.2073458.
- [177] D. Arnaud-Cormos, R. P. O'Connor, P. Leveque, et V. Couderc, « Microchip Laser-Based Optoelectronic System for Kilovolt Picosecond Electromagnetic Pulse Generation », *IEEE Photonics Technol. Lett.*, vol. 25, n° 23, p. 2308-2310, déc. 2013, doi: 10.1109/LPT.2013.2285445.
- [178] S. Kohler, V. Couderc, R. P. O'Connor, D. Arnaud-Cormos, et P. Leveque, « A versatile high voltage nano- and sub-nanosecond pulse generator », *IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul.*, vol. 20, n° 4, p. 1201-1208, août 2013, doi: 10.1109/TDEI.2013.6571435.
- [179] M. V. Schneider, « Microstrip Lines for Microwave Integrated Circuits », *Bell Syst. Tech. J.*, vol. 48, n° 5, p. 1421-1444, 1969, doi: 10.1002/j.1538-7305.1969.tb04274.x.
- [180] S. R. Rajulapati, F. A. Husain, S. B. Ananthapadmanabha, K. H. Schoenbach, et S. Xiao, « Nanosecond biphasic pulse generators for biomedical applications », in *2013 19th IEEE Pulsed Power Conference (PPC)*, juin 2013, p. 1-4. doi: 10.1109/PPC.2013.6627493.
- [181] M. B. Ketchen *et al.*, « Generation of subpicosecond electrical pulses on coplanar transmission lines », *Appl. Phys. Lett.*, vol. 48, n° 12, p. 751-753, mars 1986, doi: 10.1063/1.96709.
- [182] Auston, D. H. et Chi H. Lee, « Picosecond Optoelectronic Devices », New York: Academic, 1984.
- [183] D. Arnaud-Cormos, V. Couderc, et P. Leveque, « Photoconductive Switching for Pulsed High-Voltage Generators », in *Handbook of Electroporation*, vol. 2, 4 vol., 2017, p. 837-859.
- [184] P. M. Narayanan, « Microstrip Transmission Line Method for Broadband Permittivity Measurement of Dielectric Substrates », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 62, n° 11, p. 2784-2790, nov. 2014, doi: 10.1109/TMTT.2014.2354595.
- [185] « Câble coaxial intérieur – Classe A 17 dB Triple blindage, âme acier cuivré ». Consulté le: 27 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.cae-groupe.com/17vxtcphy.html>
- [186] M. Erwin, « Verfahren zur Schlagprüfung von Isolatoren und anderen elektrischen Vorrichtungen », *Dtsch. Reichspatent No 455933*, 1928, Consulté le: 7 novembre 2022. [En ligne]. Disponible sur: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1571135650686440960>
- [187] W. J. Carey et J. R. Mayes, « Marx generator design and performance », in *Conference Record of the Twenty-Fifth International Power Modulator Symposium, 2002 and 2002 High-Voltage Workshop.*, juin 2002, p. 625-628. doi: 10.1109/MODSYM.2002.1189556.
- [188] H. Zhang, T. Shu, et Z. Zhang, « An ultra-compact 260 MW PFN-Marx generator », in *2020 IEEE International Conference on High Voltage Engineering and Application (ICHVE)*, sept. 2020, p. 1-4. doi: 10.1109/ICHVE49031.2020.9279608.

- [189] H. Li, H.-J. Ryoo, J.-S. Kim, G.-H. Rim, Y.-B. Kim, et J. Deng, « Development of Rectangle-Pulse Marx Generator Based on PFN », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 37, n° 1, p. 190-194, janv. 2009, doi: 10.1109/TPS.2008.2007730.
- [190] Y. Achour, J. Starzynski, et J. Rabkowski, « Modular Marx Generator Based on SiC-MOSFET Generating Adjustable Rectangular Pulses », *Energies*, vol. 14, juin 2021, doi: 10.3390/en14123492.
- [191] Y. Achour, J. Starzynski, et K. Jakubiuk, « New Architecture of Solid-State High-Voltage Pulse Generators », *Energies*, vol. 15, p. 4823, juill. 2022, doi: 10.3390/en15134823.
- [192] A. Kandratsyev, U. Sabaleuski, L. M. Redondo, et A. Pakhomov, « Four Channel 6.5 kV, 65 A, 100 ns-100 μ s Generator with Advanced Control of Pulse and Burst Protocols for Biomedical and Biotechnological Applications », *Appl. Sci.*, vol. 11, p. 11782, déc. 2021, doi: 10.3390/app112411782.
- [193] A. de Angelis, J. F. Kolb, L. Zeni, et K. H. Schoenbach, « Kilovolt Blumlein pulse generator with variable pulse duration and polarity », *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 79, n° 4, p. 044301, avr. 2008, doi: 10.1063/1.2901609.
- [194] G. M. Loubriel *et al.*, « Photoconductive semiconductor switches », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 25, n° 2, p. 124-130, avr. 1997, doi: 10.1109/27.602482.
- [195] A. V. Martinez et V. Aboites, « High-efficiency low-pressure Blumlein nitrogen laser », *IEEE J. Quantum Electron.*, vol. 29, n° 8, p. 2364-2370, août 1993, doi: 10.1109/3.245567.
- [196] M. Behrend *et al.*, « Pulse generators for pulsed electric field exposure of biological cells and tissues », *IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul.*, vol. 10, n° 5, p. 820-825, oct. 2003, doi: 10.1109/TDEI.2003.1237331.
- [197] A. de Angelis, L. Zeni, et G. Leone, « Blumlein configuration for variable length high-voltage pulse generation by simultaneous switch control », *Electron. Lett.*, vol. 42, n° 4, p. 205-207, févr. 2006, doi: 10.1049/el:20062762.
- [198] A. Bharagv, R. Kumar, S. Tapan, L. Gupta, et A. R. Gupta, « High Voltage and its Applications: A Review », in *2018 IEEE 8th Power India International Conference (PIICON)*, déc. 2018, p. 1-6. doi: 10.1109/POWERI.2018.8704370.
- [199] M. Facta, Hermawan, Z. Salam, et Z. Buntat, « Piezoelectric transformer with pulse dropping technique for high voltage generation », in *2016 2nd International Conference of Industrial, Mechanical, Electrical, and Chemical Engineering (ICIMECE)*, oct. 2016, p. 10-13. doi: 10.1109/ICIMECE.2016.7910415.
- [200] A. V. Carazo, « 50 Years Of Piezoelectric Transformers. Trends In The Technology », *MRS Online Proc. Libr. OPL*, vol. 785, p. D1.7, janv. 2003, doi: 10.1557/PROC-785-D1.7.
- [201] A. Benwell, S. Kovaleski, et M. Kemp, « A resonantly driven piezoelectric transformer for high voltage generation », in *2008 IEEE International Power Modulators and High-Voltage Conference*, mai 2008, p. 113-116. doi: 10.1109/IPMC.2008.4743592.
- [202] J. A. VanGordon, B. B. Gall, S. D. Kovaleski, E. A. Baxter, R. Almeida, et J. W. Kwon, « High voltage production from shaped piezoelectric transformers and piezoelectric transformer based circuits », in *2010 IEEE International Power Modulator and High Voltage Conference*, mai 2010, p. 334-337. doi: 10.1109/IPMHVC.2010.5958361.
- [203] V. Loyau, Y.-P. Liu, et F. Costa, « Analyses of the Heat Dissipated by Losses in a Piezoelectric Transformer », *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 56, n° 8, p. 1745-1752, août 2009, doi: 10.1109/TUFFC.2009.1239.

- [204] T. Heeren, J. T. Camp, J. F. Kolb, K. H. Schoenbach, S. Katsuki, et H. Akiyama, « 250 kV sub-nanosecond pulse generator with adjustable pulse-width », *IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul.*, vol. 14, n° 4, p. 884-888, août 2007, doi: 10.1109/TDEI.2007.4286520.
- [205] G. Schaefer, M. Kristiansen, et A. H. Guenther, *Gas Discharge Closing Switches*. Springer Science & Business Media, 2013.
- [206] Y. Achour, J. Starzynski, et A. Łasica, « Compact nanosecond pulse generator based on IGBT and spark gap cooperation », *Bull. Pol. Acad. Sci. Tech. Sci.*, vol. 68, p. 377-388, avr. 2020, doi: 10.24425/bpasts.2020.131845.
- [207] K. Schoenbach, J. Kolb, S. Xiao, S. Katsuki, Y. Minamitani, et R. Joshi, « Electrical breakdown of water in microgaps », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 17, n° 2, p. 024010, mai 2008, doi: 10.1088/0963-0252/17/2/024010.
- [208] W. Jiang *et al.*, « Compact solid-State switched pulsed power and its applications », *Proc. IEEE*, vol. 92, n° 7, p. 1180-1196, juill. 2004, doi: 10.1109/JPROC.2004.829003.
- [209] M. Akiyama, T. Sakugawa, S. H. R. Hosseini, E. Shiraishi, T. Kiyam, et H. Akiyama, « High-Performance Pulsed-Power Generator Controlled by FPGA », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 38, n° 10, p. 2588-2592, oct. 2010, doi: 10.1109/TPS.2010.2042463.
- [210] R. W. Crowe, J. K. Bragg, et V. G. Thomas, « Space Charge Formation and the Townsend Mechanism of Spark Breakdown in Gases », *Phys. Rev.*, vol. 96, n° 1, p. 10-14, oct. 1954, doi: 10.1103/PhysRev.96.10.
- [211] B. S. I, « Theory of the Development of a Spark Channel », *Sov Phys-Tech Phys*, vol. 34, p. 1068, 1958.
- [212] K. Yan, E. J. M. van Heesch, S. A. Nair, et A. J. M. Pemen, « A triggered spark-gap switch for high-repetition rate high-voltage pulse generation », *J. Electrostat.*, vol. 57, n° 1, p. 29-33, janv. 2003, doi: 10.1016/S0304-3886(02)00093-1.
- [213] « Eclateur à gaz ESKA BT-680.230 sortie axiale 230 V 20 kA, 20 A 1 pc(s) - Conrad Electronic France ». Consulté le: 27 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.conrad.fr/fr/p/eclateur-a-gaz-eska-bt-680-230-sortie-axiale-230-v-20-ka-20-a-1-pc-s-532843.html>
- [214] J. R. Mayes, W. J. Carey, et W. C. Nunnally, « Spark gap triggering with photoconductive switches », in *Digest of Technical Papers. 12th IEEE International Pulsed Power Conference. (Cat. No.99CH36358)*, juin 1999, p. 1203-1206 vol.2. doi: 10.1109/PPC.1999.823738.
- [215] H. Matsuki, K. Inoue, et E. Hanamura, « Multiple coherent anti-Stokes Raman scattering due to phonon grating in $\text{K}\text{Nb}\text{O}_3$ induced by crossed beams of two-color femtosecond pulses », *Phys. Rev. B*, vol. 75, n° 2, p. 024102, janv. 2007, doi: 10.1103/PhysRevB.75.024102.
- [216] S. L. Moran et L. W. Hardesty, « High-repetition-rate hydrogen spark gap », *IEEE Trans. Electron Devices*, vol. 38, n° 4, p. 726-730, avr. 1991, doi: 10.1109/16.75197.
- [217] T. Huiskamp, N. Takamura, T. Namihira, et A. J. M. Pemen, « Matching a Nanosecond Pulse Source to a Streamer Corona Plasma Reactor With a DC Bias », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 43, n° 2, p. 617-624, févr. 2015, doi: 10.1109/TPS.2015.2388631.
- [218] L. Chuan, W. Wenchuan, Z. Lin, L. Mingjia, et Z. Jianhua, « Development of 650 kV 2 ns high voltage pulse generator », *强激光与粒子束*, vol. 26, n° 12, p. 120102, déc. 2014, doi: 10.11884/HPLPB201426.120102.
- [219] J. M. Koutsoubis et S. J. MacGregor, « Electrode erosion and lifetime performance of a high repetition rate, triggered, corona-stabilized switch in air », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 33, n° 9, p. 1093, mai 2000, doi: 10.1088/0022-3727/33/9/309.

- [220] A. Chaney et R. Sundararajan, « Simple MOSFET-based high-voltage nanosecond pulse circuit », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 32, n° 5, p. 1919-1924, oct. 2004, doi: 10.1109/TPS.2004.835966.
- [221] L. Zou, S. Gupta, et C. Caloz, « A Simple Picosecond Pulse Generator Based on a Pair of Step Recovery Diodes », *IEEE Microw. Wirel. Compon. Lett.*, vol. 27, n° 5, p. 467-469, mai 2017, doi: 10.1109/LMWC.2017.2690880.
- [222] J. M. Sanders, A. Kuthi, P. T. Vernier, Y.-H. Wu, C. Jiang, et M. A. Gundersen, « Scalable, compact, nanosecond pulse generator with a high repetition rate for biomedical applications requiring intense electric fields », in *2009 IEEE Pulsed Power Conference*, Washington, DC, USA: IEEE, juin 2009, p. 1418-1421. doi: 10.1109/PPC.2009.5386392.
- [223] W. Jiang, « Fast High Voltage Switching Using Stacked MOSFETs », *IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul.*, vol. 14, n° 4, p. 947-950, août 2007, doi: 10.1109/TDEI.2007.4286531.
- [224] S. El Amari, A. De Angelis, D. Arnaud-Cormos, V. Couderc, et P. Leveque, « Characterization of a Linear Photoconductive Switch Used in Nanosecond Pulsed Electric Field Generator », *IEEE Photonics Technol. Lett.*, vol. 23, n° 11, p. 673-675, juin 2011, doi: 10.1109/LPT.2011.2122251.
- [225] R. G. Arns, « The other transistor: early history of the metal-oxide semiconductor field-effect transistor », *Eng. Sci. Amp Educ. J.*, vol. 7, n° 5, p. 233-240, oct. 1998, doi: 10.1049/esej:19980509.
- [226] M. Azizi, J. J. van Oorschot, et T. Huiskamp, « Ultrafast Switching of SiC MOSFETs for High-Voltage Pulsed-Power Circuits », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 48, n° 12, p. 4262-4272, déc. 2020, doi: 10.1109/TPS.2020.3039372.
- [227] R. Sundararajan, J. Shao, E. Soundarajan, J. Gonzales, et A. Chaney, « Performance of solid-state high-voltage pulsers for biological applications-a preliminary study », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 32, n° 5, p. 2017-2025, oct. 2004, doi: 10.1109/TPS.2004.835944.
- [228] Y. He *et al.*, « 10-MHz High-Power Pulse Generator on Boost Module », *IEEE Trans. Ind. Electron.*, vol. 68, n° 7, p. 6286-6296, juill. 2021, doi: 10.1109/TIE.2020.2994860.
- [229] V. Novickij *et al.*, *Nanosecond Square-Wave Pulse Generator for Pulsed Electric Field Treatment of Biological Objects*. 2014.
- [230] Y. Mi, C. Bian, J. Wan, J. Xu, C. Yao, et C. Li, « A modular solid-state nanosecond pulsed generator based on Blumlein-line and transmission line transformer with microstrip line », *IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul.*, vol. 24, n° 4, p. 2196-2202, 2017, doi: 10.1109/TDEI.2017.006368.
- [231] Y. Mi, C. Bian, P. Li, C. Yao, et C. Li, « A Modular Generator of Nanosecond Pulses With Adjustable Polarity and High Repetition Rate », *IEEE Trans. Power Electron.*, vol. 33, n° 12, p. 10654-10662, déc. 2018, doi: 10.1109/TPEL.2018.2805820.
- [232] P. Krishnaswamy, A. Kuthi, P. T. Vernier, et M. A. Gundersen, « Compact Subnanosecond Pulse Generator Using Avalanche Transistors for Cell Electroperturbation Studies », *IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul.*, vol. 14, n° 4, p. 873-877, août 2007, doi: 10.1109/TDEI.2007.4286518.
- [233] J. Li *et al.*, « Theoretical Analysis and Experimental Study on an Avalanche Transistor-Based Marx Generator », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 43, n° 10, p. 3399-3405, oct. 2015, doi: 10.1109/TPS.2015.2436373.

- [234] « A transistorized Marx bank circuit providing sub-nanosecond high-voltage pulses - IOPscience ». Consulté le: 3 octobre 2022. [En ligne]. Disponible sur: https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0957-0233/5/4/020/meta?casa_token=5i2v50V4eRkAAAAA:-Zd_-9nm_buoPgnHski4AMjYG5owl-M6FgilPxoWlwhBTjkLacfRQBCZbrRUd0bcTtNmOhCBj-zd
- [235] D. C. Sawko et J. Bartko, « Production of Fast Switching Power Thyristors by Proton Irradiation », *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, vol. 30, n° 2, p. 1756-1758, avr. 1983, doi: 10.1109/TNS.1983.4332634.
- [236] R. N. Arshad *et al.*, « Electrical systems for pulsed electric field applications in the food industry: An engineering perspective », *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 104, p. 1-13, oct. 2020, doi: 10.1016/j.tifs.2020.07.008.
- [237] « A Thyristor Generator of Microsecond Rectangular High-Voltage Pulses | SpringerLink ». Consulté le: 3 octobre 2022. [En ligne]. Disponible sur: <https://link.springer.com/article/10.1134/S0020441221030271>
- [238] B. V. Ivanov, A. A. Smirnov, et S. A. Shevchenko, « A study of charge losses in 4H-SiC drift step recovery diodes (DSRD) », in *2016 IEEE NW Russia Young Researchers in Electrical and Electronic Engineering Conference (EIconRusNW)*, févr. 2016, p. 51-52. doi: 10.1109/EIconRusNW.2016.7448116.
- [239] J. L. Moll et S. A. Hamilton, « Physical modeling of the step recovery diode for pulse and harmonic generation circuits », *Proc. IEEE*, vol. 57, n° 7, p. 1250-1259, juill. 1969, doi: 10.1109/PROC.1969.7229.
- [240] « Balanced pulse generator for UWB radar application | IEEE Conference Publication | IEEE Xplore ». Consulté le: 3 octobre 2022. [En ligne]. Disponible sur: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/6101039>
- [241] K. Piwowarski, « Comparison of photoconductive semiconductor switch parameters with selected switch devices in power systems », *Opto-Electron. Rev.* 2020 28 2 74-81, 2020, Consulté le: 15 novembre 2021. [En ligne]. Disponible sur: <https://journals.pan.pl/dlibra/publication/132502/edition/115770>
- [242] G. Renxi, Z. Yimen, Y. Linan, S. Shunxiang, Z. Tongyi, et Z. Yuming, « Characterization of the performance parameters of linear photoconductive semiconductor switches », in *2001 6th International Conference on Solid-State and Integrated Circuit Technology. Proceedings (Cat. No.01EX443)*, oct. 2001, p. 1270-1273 vol.2. doi: 10.1109/ICSICT.2001.982132.
- [243] H. Zhao, P. Hadizad, J. H. Hur, et M. A. Gundersen, « Avalanche injection model for the lock-on effect in III-V power photoconductive switches », *J. Appl. Phys.*, vol. 73, n° 4, p. 1807-1812, févr. 1993, doi: 10.1063/1.353190.
- [244] K. Ma, R. Urata, D. A. B. Miller, et J. S. Harria, « Low-temperature growth of GaAs on Si used for ultrafast photoconductive switches », *IEEE J. Quantum Electron.*, vol. 40, n° 6, p. 800-804, juin 2004, doi: 10.1109/JQE.2004.828234.
- [245] B. Vergne, V. Couderc, A. Barthelemy, D. Gontier, M. Lalande, et V. Bertrand, « High-Voltage Rectifier Diodes Used as Photoconductive Device for Microwave Pulse Generation », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 34, n° 5, p. 1806-1813, oct. 2006, doi: 10.1109/TPS.2006.883403.
- [246] L. V. Keldysh, « The effect of a strong electric field on the optical properties of insulating crystals », *Soviet Physics Jetp-Ussr*, p. 788-790, 1958.

- [247] H. Liu *et al.*, « Fast pulsed generator based on PCSS for killing pathogen in blood », in *2014 IEEE International Power Modulator and High Voltage Conference (IPMHVC)*, juin 2014, p. 439-442. doi: 10.1109/IPMHVC.2014.7287305.
- [248] « X200FG Datasheet | VMI - Datasheetspdf.com ». Consulté le: 27 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://datasheetspdf.com/datasheet/X200FG.html>
- [249] « Plano Convex Cylindrical Lens, 400 - 700 nm, BK7 », Laser 2000 GmbH. Consulté le: 29 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.laser2000.com/fr/fr/lentilles/80405-plano-convex-cylindrical-lens-ar--nm--400---700-bk7.html>
- [250] S. Wehbi, « Imagerie multimodale assistée par champ électrique pulsé », Thèse de doctorat, Limoges, 2021. Consulté le: 29 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2021LIMO0112>
- [251] A. Nefzi *et al.*, « Microdosimetry of Multi Electrodes Array in an RF Exposure System for In vitro Real-Time Recordings », in *2019 IEEE MTT-S International Microwave Biomedical Conference (IMBioC)*, mai 2019, p. 1-3. doi: 10.1109/IMBIOC.2019.8777765.
- [252] A. Nefzi, L. Carr, C. Dalmay, A. Pothier, P. Leveque, et D. Arnaud-Cormos, « Microdosimetry Using Rhodamine B Within Macro- and Microsystems for Radiofrequency Signals Exposures of Biological Samples », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 68, n° 3, p. 1142-1150, mars 2020, doi: 10.1109/TMTT.2019.2950191.
- [253] S. Kohler, R. P. O'Connor, T. D. T. Vu, P. Leveque, et D. Arnaud-Cormos, « Experimental Microdosimetry Techniques for Biological Cells Exposed to Nanosecond Pulsed Electric Fields Using Microfluorimetry », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 61, n° 5, p. 2015-2022, mai 2013, doi: 10.1109/TMTT.2013.2252917.
- [254] M. Cemazar et G. Sersa, « Recent Advances in Electrochemotherapy », *Bioelectricity*, vol. 1, n° 4, p. 204-213, déc. 2019, doi: 10.1089/bioe.2019.0028.
- [255] S. Xiao, « Pulse Delivery and Exposure Systems », in *Ultrashort Electric Pulse Effects in Biology and Medicine*, S. J. Beebe, R. Joshi, K. H. Schoenbach, et S. Xiao, Éd., in Series in BioEngineering. , Singapore: Springer, 2021, p. 373-384. doi: 10.1007/978-981-10-5113-5_16.
- [256] E. C. Gianulis, C. Labib, G. Saulis, V. Novickij, O. N. Pakhomova, et A. G. Pakhomov, « Selective susceptibility to nanosecond pulsed electric field (nsPEF) across different human cell types », *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 74, n° 9, p. 1741-1754, mai 2017, doi: 10.1007/s00018-016-2434-4.
- [257] Y. Yang, M. A. J. Moser, E. Zhang, W. Zhang, et B. Zhang, « Development of a statistical model for cervical cancer cell death with irreversible electroporation in vitro », *PLOS ONE*, vol. 13, n° 4, p. e0195561, avr. 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0195561.
- [258] Y. Yamamoto, S. Ogura, H. Katsura, K. Teranishi, Y. Uto, et N. Shimomura, « Consideration of pulse-width effects of nanosecond pulsed electric fields application on cancer cell », in *2017 IEEE 21st International Conference on Pulsed Power (PPC)*, juin 2017, p. 1-4. doi: 10.1109/PPC.2017.8291240.
- [259] J. Kulbacka *et al.*, « Nanosecond PEF Induces Oxidative Stress and Apoptosis via Proteasomal Activity Inhibition in Gastric Adenocarcinoma Cells with Drug Resistance », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, p. 12943, oct. 2022, doi: 10.3390/ijms232112943.
- [260] R. A. Vadlamani *et al.*, « Nanosecond pulsed electric field induced proliferation and differentiation of osteoblasts and myoblasts », *J. R. Soc. Interface*, vol. 16, n° 155, p. 20190079, juin 2019, doi: 10.1098/rsif.2019.0079.

- [261] G. L. Thompson, C. C. Roth, M. A. Kuipers, G. P. Tolstykh, H. T. Beier, et B. L. Ibey, « Permeabilization of the nuclear envelope following nanosecond pulsed electric field exposure », *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 470, n° 1, p. 35-40, janv. 2016, doi: 10.1016/j.bbrc.2015.12.092.
- [262] M. Tanori *et al.*, « Microsecond Pulsed Electric Fields: An Effective Way to Selectively Target and Radiosensitize Medulloblastoma Cancer Stem Cells », *Int. J. Radiat. Oncol.*, vol. 109, n° 5, p. 1495-1507, avr. 2021, doi: 10.1016/j.ijrobp.2020.11.047.
- [263] M. Grysz, Z. Madeja, et W. Korohoda, « Avoiding the side effects of electric current pulse application to electroporated cells in disposable small volume cuvettes assures good cell survival », *Cell. Mol. Biol. Lett.*, vol. 22, n° 1, p. 1, janv. 2017, doi: 10.1186/s11658-016-0030-0.
- [264] G. Banis *et al.*, « Design and Testing of a Disposable Flow Cuvette for Continuous Electroporation of a Bioreactor's Initial Algae Cultivation », *Magnetochemistry*, vol. 8, n° 11, Art. n° 11, nov. 2022, doi: 10.3390/magnetochemistry8110147.
- [265] « Advances in microfluidic strategies for single-cell research - ScienceDirect ». Consulté le: 26 août 2023. [En ligne]. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993622003053?casa_token=-aVUh7ded6MAAAAA:NXyCmTgNEyCoot1yx0Ay9lpvofqpG2kr9QeFWQ216BW5pvrZJdMIUT3IVVBCEMIzcVqd1BARU
- [266] « Flow-through micro-electroporation chip for high efficiency single-cell genetic manipulation - ScienceDirect ». Consulté le: 5 février 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924424703000505>
- [267] Y. Huang et B. Rubinsky, « Microfabricated electroporation chip for single cell membrane permeabilization », *Sens. Actuators Phys.*, vol. 89, n° 3, p. 242-249, avr. 2001, doi: 10.1016/S0924-4247(00)00557-4.
- [268] M. Khine, A. Lau, C. Ionescu-Zanetti, J. Seo, et L. P. Lee, « A single cell electroporation chip », *Lab. Chip*, vol. 5, n° 1, p. 38-43, 2005, doi: 10.1039/B408352K.
- [269] P.-H. Huang, S. Chen, A. L. Shiver, R. N. Culver, K. C. Huang, et C. R. Buie, « M-TUBE enables large-volume bacterial gene delivery using a high-throughput microfluidic electroporation platform », *PLOS Biol.*, vol. 20, n° 9, p. e3001727, sept. 2022, doi: 10.1371/journal.pbio.3001727.
- [270] Y.-J. Lo et U. Lei, « A Continuous Flow-through Microfluidic Device for Electrical Lysis of Cells », *Micromachines*, vol. 10, n° 4, Art. n° 4, avr. 2019, doi: 10.3390/mi10040247.
- [271] T. Geng et C. Lu, « Microfluidic electroporation for cellular analysis and delivery », *Lab Chip*, vol. 13, n° 19, p. 3803-3821, juill. 2013, doi: 10.1039/C3LC50566A.
- [272] A.-Y. Chang, X. Liu, H. Tian, L. Hua, Z. Yang, et S. Wang, « Microfluidic Electroporation Coupling Pulses of Nanoseconds and Milliseconds to Facilitate Rapid Uptake and Enhanced Expression of DNA in Cell Therapy », *Sci. Rep.*, vol. 10, n° 1, Art. n° 1, avr. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-63172-8.
- [273] Y.-C. Lin, C.-M. Jen, M.-Y. Huang, C.-Y. Wu, et X.-Z. Lin, « Electroporation microchips for continuous gene transfection », *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 79, n° 2, p. 137-143, oct. 2001, doi: 10.1016/S0925-4005(01)00859-0.
- [274] H.-Y. Wang, A. K. Bhunia, et C. Lu, « A microfluidic flow-through device for high throughput electrical lysis of bacterial cells based on continuous dc voltage », *Biosens. Bioelectron.*, vol. 22, n° 5, p. 582-588, déc. 2006, doi: 10.1016/j.bios.2006.01.032.
- [275] F. Pfisterer, N. Godino, T. Gerling, et M. Kirschbaum, « Continuous microfluidic flow-through protocol for selective and image-activated electroporation of single cells », *RSC Adv.*, vol. 13, n° 28, p. 19379-19387, 2023, doi: 10.1039/d3ra03100d.

- [276] L. Zhang, S. A. Getz, et A. Bordey, « Dual in Utero Electroporation in Mice to Manipulate Two Specific Neuronal Populations in the Developing Cortex », *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 9, 2022, Consulté le: 6 février 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2021.814638>
- [277] B. Al-Sakere *et al.*, « Tumor Ablation with Irreversible Electroporation », *PLOS ONE*, vol. 2, n° 11, p. e1135, nov. 2007, doi: 10.1371/journal.pone.0001135.
- [278] V. Novickij *et al.*, « Effects of Time Delay Between Unipolar Pulses in High Frequency Nano-Electrochemotherapy », *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 69, n° 5, p. 1726-1732, mai 2022, doi: 10.1109/TBME.2021.3129176.
- [279] C. K. Campla *et al.*, « Frmpd1 Facilitates Trafficking of G-Protein Transducin and Modulates Synaptic Function in Rod Photoreceptors of Mammalian Retina », *eNeuro*, vol. 9, n° 5, sept. 2022, doi: 10.1523/ENEURO.0348-22.2022.
- [280] J. G. Skeate, D. M. D. Silva, E. Chavez-Juan, S. Anand, R. Nuccitelli, et W. M. Kast, « Nano-Pulse Stimulation induces immunogenic cell death in human papillomavirus-transformed tumors and initiates an adaptive immune response », *PLOS ONE*, vol. 13, n° 1, p. e0191311, janv. 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0191311.
- [281] « Gene Electrotransfer Clinical Trials - ScienceDirect ». Consulté le: 6 février 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0065266014000078?via%3Dihub>
- [282] L. C. Heller, M. J. Jaroszeski, D. Coppola, A. N. McCray, J. Hickey, et R. Heller, « Optimization of cutaneous electrically mediated plasmid DNA delivery using novel electrode », *Gene Ther.*, vol. 14, n° 3, Art. n° 3, févr. 2007, doi: 10.1038/sj.gt.3302867.
- [283] T. Muramatsu, Y. Mizutani, Y. Ohmori, et J. Okumura, « Comparison of Three Nonviral Transfection Methods for Foreign Gene Expression in Early Chicken Embryos in Ovo », *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 230, n° 2, p. 376-380, janv. 1997, doi: 10.1006/bbrc.1996.5882.
- [284] Y.-H. Wu, D. Arnaud-Cormos, M. Casciola, J. M. Sanders, P. Leveque, et P. T. Vernier, « Moveable Wire Electrode Microchamber for Nanosecond Pulsed Electric-Field Delivery », *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 60, n° 2, p. 489-496, févr. 2013, doi: 10.1109/TBME.2012.2228650.
- [285] « Électrodes en platine, Tweezertrodes™ », VWR. Consulté le: 10 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://fr.vwr.com/store/product/8903069/electrodes-en-platine-tweezertrodestm>
- [286] « Platinum Needle L-Shaped Electrode for In Vivo Electroporation Applications ». Consulté le: 9 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.btxonline.com/platinum-needle-l-shaped-electrode.html>
- [287] R. E. Neal, R. Singh, H. C. Hatcher, N. D. Kock, S. V. Torti, et R. V. Davalos, « Treatment of breast cancer through the application of irreversible electroporation using a novel minimally invasive single needle electrode », *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 123, n° 1, p. 295-301, août 2010, doi: 10.1007/s10549-010-0803-5.
- [288] P. A. Garcia, R. V. Davalos, et D. Miklavcic, « A Numerical Investigation of the Electric and Thermal Cell Kill Distributions in Electroporation-Based Therapies in Tissue », *PLOS ONE*, vol. 9, n° 8, p. e103083, août 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0103083.
- [289] L. G. Campana *et al.*, « Electrochemotherapy – Emerging applications technical advances, new indications, combined approaches, and multi-institutional collaboration », *Eur. J. Surg. Oncol.*, vol. 45, n° 2, p. 92-102, févr. 2019, doi: 10.1016/j.ejso.2018.11.023.

- [290] L. W. Matthiessen *et al.*, « Management of cutaneous metastases using electrochemotherapy », *Acta Oncol.*, vol. 50, n° 5, p. 621-629, juin 2011, doi: 10.3109/0284186X.2011.573626.
- [291] L. G. Campana *et al.*, « Electrochemotherapy Treatment of Locally Advanced and Metastatic Soft Tissue Sarcomas: Results of a Non-Comparative Phase II Study », *World J. Surg.*, vol. 38, n° 4, p. 813-822, avr. 2014, doi: 10.1007/s00268-013-2321-1.
- [292] D. O. H. Suzuki, C. M. G. Marques, et M. M. M. Rangel, « Conductive Gel Increases the Small Tumor Treatment With Electrochemotherapy Using Needle Electrodes », *Artif. Organs*, vol. 40, n° 7, p. 705-711, 2016, doi: 10.1111/aor.12631.
- [293] J. Gehl *et al.*, « Updated standard operating procedures for electrochemotherapy of cutaneous tumours and skin metastases », *Acta Oncol.*, vol. 57, n° 7, p. 874-882, juill. 2018, doi: 10.1080/0284186X.2018.1454602.
- [294] A. Cvetkoska, E. Pirc, M. Reberšek, R. Magjarević, et D. Miklavčič, « Towards standardization of electroporation devices and protocols », *IEEE Instrum. Meas. Mag.*, vol. 23, n° 2, p. 74-81, avr. 2020, doi: 10.1109/MIM.2020.9062692.
- [295] D. Miklavčič, B. Mali, B. Kos, R. Heller, et G. Serša, « Electrochemotherapy: from the drawing board into medical practice », *Biomed. Eng. OnLine*, vol. 13, n° 1, p. 29, mars 2014, doi: 10.1186/1475-925X-13-29.
- [296] L. G. Campana *et al.*, « Electrochemotherapy in non-melanoma head and neck cancers: a retrospective analysis of the treated cases », *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.*, vol. 52, n° 10, p. 957-964, déc. 2014, doi: 10.1016/j.bjoms.2014.08.004.
- [297] Q. Li *et al.*, « Magnetic anchoring and guidance-assisted endoscopic irreversible electroporation for gastric mucosal ablation: a preclinical study in canine model », *Surg. Endosc.*, vol. 35, n° 10, p. 5665-5674, oct. 2021, doi: 10.1007/s00464-020-08245-5.
- [298] D. Soden *et al.*, « The Development of Novel Flexible Electrode Arrays for the Electrochemotherapy of Solid Tumour Tissue. (Potential for Endoscopic Treatment of Inaccessible Cancers) », in *The 26th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, sept. 2004, p. 3547-3550. doi: 10.1109/IEMBS.2004.1403997.
- [299] J. M. Lee *et al.*, « EUS-guided irreversible electroporation using endoscopic needle-electrode in porcine pancreas », *Surg. Endosc.*, vol. 33, n° 2, p. 658-662, févr. 2019, doi: 10.1007/s00464-018-6425-4.
- [300] J. Impellizeri, L. Aurisicchio, P. Forde, et D. M. Soden, « Electroporation in veterinary oncology », *Vet. J.*, vol. 217, p. 18-25, nov. 2016, doi: 10.1016/j.tvjl.2016.05.015.
- [301] P. F. Forde *et al.*, « Preclinical evaluation of an endoscopic electroporation system », *Endoscopy*, vol. 48, n° 5, p. 477-483, mai 2016, doi: 10.1055/s-0042-101343.
- [302] H. F. Hansen *et al.*, « Electrochemotherapy for colorectal cancer using endoscopic electroporation: a phase 1 clinical study », *Endosc. Int. Open*, vol. 08, n° 2, p. E124-E132, févr. 2020, doi: 10.1055/a-1027-6735.
- [303] F. M. Schipilliti *et al.*, « Electrochemotherapy for solid tumors: literature review and presentation of a novel endoscopic approach », *Radiol. Oncol.*, vol. 56, n° 3, p. 285-291, sept. 2022, doi: 10.2478/raon-2022-0022.
- [304] B. Trotovsek, B. Hadzialjevic, M. Cemazar, G. Sersa, et M. Djokic, « Laparoscopic electrochemotherapy for the treatment of hepatocellular carcinoma: Technological advancement », *Front. Oncol.*, vol. 12, 2022, Consulté le: 10 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2022.996269>

- [305] N. Wilke, C. Hibert, J. O'Brien, et A. Morrissey, « Silicon microneedle electrode array with temperature monitoring for electroporation », *Sens. Actuators Phys.*, vol. 123-124, p. 319-325, sept. 2005, doi: 10.1016/j.sna.2005.05.017.
- [306] T. Yang *et al.*, « Rolling microneedle electrode array (RoMEA) empowered nucleic acid delivery and cancer immunotherapy », *Nano Today*, vol. 36, p. 101017, févr. 2021, doi: 10.1016/j.nantod.2020.101017.
- [307] D. Huang *et al.*, « Efficient delivery of nucleic acid molecules into skin by combined use of microneedle roller and flexible interdigitated electroporation array », *Theranostics*, vol. 8, n° 9, p. 2361-2376, mars 2018, doi: 10.7150/thno.23438.
- [308] S.-O. Choi *et al.*, « An electrically active microneedle array for electroporation », *Biomed. Microdevices*, vol. 12, n° 2, p. 263-273, avr. 2010, doi: 10.1007/s10544-009-9381-x.
- [309] B. Surano, G. Leiva, G. Marshall, F. Maglietti, et C. Schebor, « Pulsed electric fields using a multiple needle chamber to improve bioactive compounds extraction from unprocessed *Opuntia ficus-indica* fruits », *J. Food Eng.*, vol. 317, p. 110864, mars 2022, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2021.110864.
- [310] O. Adeyanju, H. Al-Angari, et A. Sahakian, « The optimization of needle electrode number and placement for irreversible electroporation of hepatocellular carcinoma », *Radiol. Oncol.*, vol. 46, n° 2, p. 126-135, juin 2012, doi: 10.2478/v10019-012-0026-y.
- [311] « Electrodes – VGD Series | IGEA Medical ». Consulté le: 10 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.igeamedical.com/en/electrochemotherapy/products/electrodes/single-needle-vgd-series>
- [312] « Adjustable Electrodes – EPSA Series | IGEA Medical ». Consulté le: 10 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.igeamedical.com/en/electrochemotherapy/products/electrodes/adjustable-epsa-series>
- [313] « Fixed Electrodes – EPS Series | IGEA Medical ». Consulté le: 10 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.igeamedical.com/en/electrochemotherapy/products/electrodes/fixed-eps-series>
- [314] « Finger Electrodes – NFD Series | IGEA Medical ». Consulté le: 10 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.igeamedical.com/en/electrochemotherapy/products/electrodes/finger-nfd-series>
- [315] « STINGER Electrodes – EGPS Series | IGEA Medical ». Consulté le: 10 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.igeamedical.com/en/electrochemotherapy/products/electrodes/stinger-egps-series>
- [316] S. Kohler, T. D. T. Vu, P. T. Vernier, P. Leveque, et D. Arnaud-Cormos, « Characterization of a TEM cell-based setup for the exposure of biological cell suspensions to high-intensity nanosecond pulsed electric fields (nsPEFs) », in *2012 IEEE/MTT-S International Microwave Symposium Digest*, juin 2012, p. 1-3. doi: 10.1109/MWSYM.2012.6259503.
- [317] P. Kumar *et al.*, « A Hyperband Antenna to Launch and Focus Fast High-Voltage Pulses Onto Biological Targets », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 59, n° 4, p. 1090-1101, avr. 2011, doi: 10.1109/TMTT.2011.2114110.

- [318] S. Altunc, C. E. Baum, C. G. Christodoulou, E. Schamiloglu, et C. J. Buchenauer, « Focal waveforms for various source waveforms driving a prolate-spheroidal impulse radiating antenna (IRA) », *Radio Sci.*, vol. 43, n° 04, p. 1-9, août 2008, doi: 10.1029/2007RS003775.
- [319] S. Altunc, C. E. Baum, C. J. Buchenauer, C. G. Christodoulou, et E. Schamiloglu, « Design of a special dielectric lens for concentrating a subnanosecond electromagnetic pulse on a biological target », *IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul.*, vol. 16, n° 5, p. 1364-1375, oct. 2009, doi: 10.1109/TDEI.2009.5293950.
- [320] B. M. Novac, R. Xiao, P. Senior, L. Pécastaing, et I. R. Smith, « Generation of Intense PEFs Using a Prolate Spheroidal Reflector Attached to the Bipolar Former of a 10-GW Pulsed Power Generator », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 46, n° 10, p. 3547-3551, oct. 2018, doi: 10.1109/TPS.2018.2844160.
- [321] S. Xiao, M. A. Migliaccio, J. C. Camp, J. F. Kolb, K. H. Schoenbach, et C. E. Baum, « A wide-band focusing system for bioelectric applications », in *2007 16th IEEE International Pulsed Power Conference*, juin 2007, p. 744-747. doi: 10.1109/PPPS.2007.4651947.
- [322] « An Overview of Subnanosecond Pulsed Electric Field Biological Effects: Toward Contactless Technologies for Cancer Treatment | Bioelectricity ». Consulté le: 11 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/bioe.2022.0031>
- [323] « A quarter century of in vitro research: A new look at exposure methods - Guy - 1999 - Bioelectromagnetics - Wiley Online Library ». Consulté le: 11 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/\(SICI\)1521-186X\(1999\)20:4+%3C21::AID-BEM%3E3.0.CO;2-M?casa_token=CmgWWheAsGYAAAAA:W_b2ZS-Ohg75YfA3j7fzkHntZncWiDbtiF6Ay2ONsHFfeIL8jUGI2XiWDYpBjA4FWc6iVT8qn-FUNA](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/(SICI)1521-186X(1999)20:4+%3C21::AID-BEM%3E3.0.CO;2-M?casa_token=CmgWWheAsGYAAAAA:W_b2ZS-Ohg75YfA3j7fzkHntZncWiDbtiF6Ay2ONsHFfeIL8jUGI2XiWDYpBjA4FWc6iVT8qn-FUNA)
- [324] O. Zeni *et al.*, « Lack of Genotoxic Effects (Micronucleus Induction) in Human Lymphocytes Exposed In Vitro to 900 MHz Electromagnetic Fields », *Radiat. Res.*, vol. 160, n° 2, p. 152-158, août 2003, doi: 10.1667/RR3014.
- [325] A. Paffi *et al.*, « Microwave Exposure Systems for In Vivo Biological Experiments: A Systematic Review », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 61, n° 5, p. 1980-1993, mai 2013, doi: 10.1109/TMTT.2013.2246183.
- [326] A. Saran *et al.*, « Effects of Exposure of Newborn Patched1 Heterozygous Mice to GSM, 900 MHz », *Radiat. Res.*, vol. 168, n° 6, p. 733-740, déc. 2007, doi: 10.1667/RR1065R1.1.
- [327] C. Strutynski, L. Teulé-Gay, S. Danto, et T. Cardinal, « Optical Emission Detector Based on Plasma Discharge Generation at the Tip of a Multimaterial Fiber », *Sensors*, vol. 20, n° 8, Art. n° 8, janv. 2020, doi: 10.3390/s20082353.
- [328] krn5, « CST Studio Suite 3D EM simulation and analysis software ». Consulté le: 24 janvier 2022. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.3ds.com/products-services/simulia/products/cst-studio-suite/>
- [329] krn5, « Electromagnetic systems | CST Studio Suite ». Consulté le: 12 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.3ds.com/products-services/simulia/products/cst-studio-suite/electromagnetic-systems/>
- [330] krn5, « Electromagnetic Simulation Solvers | CST Studio Suite ». Consulté le: 12 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.3ds.com/products-services/simulia/products/cst-studio-suite/solvers/>
- [331] *Mesure des Caractéristiques des Matériaux Isolants Solides*. Ed. Techniques Ingénieur.

- [332] S. W. Lim, Y. Shimogaki, Y. Nakano, K. Tada, et H. Komiyama, « Reduction Mechanism in the Dielectric Constant of Fluorine-Doped Silicon Dioxide Film », *J. Electrochem. Soc.*, vol. 144, n° 7, p. 2531, juill. 1997, doi: 10.1149/1.1837850.
- [333] « Mechanical and dielectric properties of epoxy/dicyclopentadiene bisphenol cyanate ester/glass fabric composites », Consulté le: 5 octobre 2021. [En ligne]. Disponible sur: <https://core.ac.uk/reader/26095240>

Liste des publications et communications

I. Revues internationales à comité de lecture

- 1- N. Tabcheh, R. Orlacchio, V. Couderc, P. Leveque, et D. Arnaud-Cormos, « High Voltage Generator With Adjustable Delay Between Two Nanosecond Pulses », IEEE Photonics Technol. Lett., vol. 34, no 10, p. 553-556, mai 2022, doi: 10.1109/LPT.2022.3171399.
- 2- Sahar Wehbi, Nour Tabcheh, Alessandro Tonello, Rosa Orlacchio, Philippe Leveque, Delia Arnaud-Cormos, Tigran Mansuryan, Marc Fabert, Olivier Tantot, Sebastien Vergnole, Vincent Couderc « Temporal shaping of high-voltage picosecond electric pulses for electronic spectroscopy and bioelectric applications », Microw. Opt. Technol. Lett., vol. 65, no 2, p. 717-722, 2023, doi: 10.1002/mop.33547.

II. Communications avec actes de colloque à comité de lecture

- 1- N.Tabcheh, R. Orlacchio, C. Strutynski, S. Danto, T. Cardinal, V. Couderc, P. Leveque, D. Arnaud-Cormos, « High voltage sub-nanosecond pulses: generation and optoelectronic delivery system based on electrodes embedded in an optical fiber », Joint Meeting of the BioElectroMagnetics Society and the European BioElectromagnetics Association BioEM 2022, Nagoya Japon, Juin 2022.
- 2- Rosa Orlacchio, Nour Tabcheh, Delia Arnaud-Cormos, Philippe Leveque, « Ultrashort high-voltage pulse generators for simultaneous cellular permeabilization and endoscopic imaging for future biomedical applications », 4th World Congress on Electroporation in Copenhagen, Danemark, Octobre 2022.
- 3- Tigran Mansuryan, Nour Tabcheh, Marc Fabert, Katarzyna Krupa, Raphael Jauberteau, Alessandro Tonello, Claire Lefort, Mario Ferraro, Fabio Mangini, Mario Zitelli, Massimiliano Papi, Ivo Boskoski, Stefan Wabnitz, Vincent Couderc « Large band multiphoton microendoscope with single-core standard graded-index multimode fiber

based on spatial beam self-cleaning », Endoscopic Microscopy XVIII, SPIE, mars 2023, p. 67-71. doi: 10.1117/12.2652346.

- 4- Delia Arnaud-Cormos, Rosa Orlacchio, Nour Tabcheh , Vincent Couderc , Philippe Leveque « High-Voltage Generators for Nano- and Pico-second Pulsed Electric Fields Generation with Flexible Inter-polarity Delays », 2023 International Pulse Power Conference, San Antonio, Texas, Juin 2023.
- 5- Hafsa Tjiou, Nour Tabcheh, Philippe Leveque, Claire Dalmy, Delia Arnaud-Cormos « Planar microsystems for the exposure of biological samples to electromagnetic fields », IEEE MTT-S International Microwave Biomedical Conference IMBioC 2023, Leuven, Belgique, Septembre 2023.
- 6- N. Tabcheh, R. Orlacchio, V. Couderc, P. Leveque, D. Arnaud-Cormos, « Générateur haute tension d'impulsions électriques de 1 ns pour des applications biomédicales », at JNM 2022, Limoges France, Juin 2022.

Contribution aux technologies de génération d'impulsions électriques ultracourtes pour application dans le domaine de la bioélectricité

Les effets d'impulsions de courtes durées et de très hautes intensités sur les cellules vivantes sont de plus en plus étudiés. En effet, ce type d'exposition a montré une très grande efficacité dans plusieurs domaines de la vie quotidienne tels que les science environnementales, l'agroalimentaire et le biomédicale. Une chaîne d'exposition est composée de trois parties principales : un générateur d'impulsions, un applicateur adapté et une cible. Ce mémoire se focalise sur les deux premiers éléments de la chaîne d'exposition, c'est-à-dire, le générateur et l'applicateur. Dans ce contexte, nous présenterons, dans un premier temps, la mise en place de deux générateurs d'impulsions de très hautes tensions d'une durée d'environ 1 ns pour le premier et de 500 ps pour le second. Ces deux générateurs reposent sur le principe de l'onde gelée et permettront de générer trois types d'impulsions : unipolaires, bipolaires et paires, avec des délais ajustables de 10 ns à 200 ns entre les deux polarités d'une même impulsion. Dans un second temps, un nouvel applicateur hybride optoélectronique sera étudié par une double approche, numérique et expérimentale, afin de tester son adaptabilité ainsi que la possibilité de son intégration dans un circuit électronique. Les objectifs primordiaux consistent d'une part, à faciliter le diagnostic cellulaire des cibles endoscopiques, grâce aux effets d'optique non linéaire et d'autre part, à transmettre les impulsions électriques générées à des fins thérapeutiques, en vue de l'élimination de cellules malades au sein de la cible étudiée.

Mots-clés : générateur d'impulsions, applicateur optoélectronique, optique non linéaire, impulsions ultra courtes, électroporation, onde gelée.

Contribution to ultrashort electrical pulse generation technologies for bioelectricity applications

The effects of short duration and very high intensity pulses on living cells are increasingly studied. Indeed, this type of exposure has shown great effectiveness in several areas of daily life such as environmental science, agri-food and biomedical. An exposure chain is made-up of three main parts: a pulse generator, a suitable applicator and a target. This thesis focuses on the first two elements of the chain, that is to say, the generator and the applicator. In this context, we will first present the implementation of two very high voltage pulse generators with a duration of approximately 1 ns for the first and 500 ps for the second. These two generators are based on the principle of the frozen wave generator and will produce three types of pulses: unipolar, bipolar and pairs, with adjustable delays from 10 ns to 200 ns between the two polarities of the same pulse. Secondly, a new hybrid optoelectronic applicator will be studied using a dual approach, digital and experimental, in order to test its adaptability as well as the possibility of its integration into an electronic circuit. The primary objectives consist, on one hand, of facilitating the cellular diagnosis of endoscopic targets, thanks to nonlinear optical effects and on another hand, to transmit the electrical pulses generated for therapeutic purposes, with a view to eliminating diseased cells within the target studied.

Keywords : pulse generator, optoelectronic applicator, nonlinear optic, ultrashort pulses, electroporation, frozen wave.

