



HAL
open science

Conception et commande en boucle fermée de dispositifs de contrôle de trajectoires de cellules biologiques basé sur un actionnement par diélectrophorèse

Alexis Lefevre

► To cite this version:

Alexis Lefevre. Conception et commande en boucle fermée de dispositifs de contrôle de trajectoires de cellules biologiques basé sur un actionnement par diélectrophorèse. Automatique / Robotique. Université Bourgogne Franche-Comté, 2023. Français. NNT : 2023UBFCD059 . tel-04517512

HAL Id: tel-04517512

<https://theses.hal.science/tel-04517512v1>

Submitted on 22 Mar 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.

THÈSE DE DOCTORAT DE L'ÉTABLISSEMENT
UNIVERSITÉ BOURGOGNE FRANCHE-COMTÉ
PRÉPARÉE À L'UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ

ÉCOLE DOCTORALE N° 37

SCIENCES POUR L'INGÉNIEUR ET MICROTECHNIQUES

Doctorat d'Automatique

PAR

Alexis LEFEVRE

Conception et commande en boucle
fermée de dispositifs de contrôle de
trajectoires de cellules biologiques
basés sur un actionnement par
diélectrophorèse

Soutenue à Besançon le 27 novembre 2023

Composition du Jury :

Marie Frénéa-Robin	Professeur des Universités, Université Claude Bernard Lyon 1	Présidente du Jury
Xavier Brun	Professeur des Universités, INSA Lyon	Rapporteur
Christine Prella	Professeur des Universités, Université de Technologie de Compiègne	Rapporteuse
Federica Caselli	Assistant Professor, University of Rome Tor Vergata, Italy	Examinatrice
Sinan Haliyo	Maitre de Conférences HDR, Sorbonne Université, Paris	Examinateur
Zdeněk Hurák	Assistant Professor, Czech Technical University in Prague, Czech Republic	Examinateur
Michaël Gauthier	Directeur de Recherche CNRS, Institut FEMTO-ST, Besançon	Co-Directeur de thèse
Aude Bolopion	Directrice de Recherche CNRS, Institut FEMTO-ST, Besançon	Directrice de thèse

Remerciements

Ce manuscrit retranscrit les travaux qui ont été réalisés au cours des trois années de thèse effectuées à l'institut FEMTO-ST de Besançon. Ce chapitre final, qui est pourtant le premier à être lu, est consacré à toutes les personnes ayant participé directement et indirectement à ces travaux.

Dans un premier temps, je tiens à remercier les membres de mon jury de thèse, en commençant par Xavier Brun et Christine Prelle d'avoir accepté de rapporter mes travaux et pour les remarques présentes dans leur rapport respectif. Je tiens ensuite à remercier Sinan Haliyo, Zdenek Hurak, Marie Frénéa-Robin et Federica Caselli d'avoir accepté d'être examinateur ·rice lors de ma soutenance. Je remercie particulièrement Federica Caselli de m'avoir accueilli pendant un mois dans son équipe, et pour les travaux que nous avons conduits en collaboration. Ce fut une expérience très enrichissante. Enfin, je tiens à tous les remercier pour les conversations intéressantes ayant suivi la présentation de mes travaux.

Je tiens ensuite à remercier chaleureusement mes encadrants de thèse et amis, Aude Bolopion et Michaël Gautier, un très bon duo d'encadrement qui a rendu cette thèse très agréable.

Je remercie tous les membres du département AS2M de l'institut FEMTO-ST, ingénieur ·e ·s, technicien ·ne ·s, enseignant-chercheurs, doctorant ·e ·s et l'équipe administrative pour leur support et la bonne ambiance qu'ils créent au département.

Je souhaite ensuite remercier tous les membres de l'institut FEMTO-ST avec qui j'ai pu échanger au cours de ces travaux pour leur aide et leurs conseils. Particulièrement Annie Frelet-Barrand et son équipe grâce à qui j'ai pu acquérir les connaissances et compétences nécessaires à la manipulation de cellules dans un environnement adapté.

Je remercie les personnes qui, au-delà de la thèse, ont permis de rendre ces années à Besançon enrichissantes. C'est également avec eux que j'ai grandi et évolué, que ce soit à travers différentes aventures en montagne, en planche à voile ainsi qu'à travers la musique et le jeu de go. Merci à vous, Quentin, Kilian, Robin, Justine, Romero, André, Vianney, Vladimir, Bassem, Bruno, Simon, Benoît, Raphaël, Sylvain, Marlon...

Je remercie enfin ma famille, pour son soutien durant cette période, et particulièrement Laure pour m'avoir accompagné durant ces années, que ce soit au laboratoire, en escalade, en musique et tout simplement au quotidien.

Table des matières

Remerciements	iii
Table des matières	v
Liste des Figures	xi
Liste des Tables	xv
Introduction générale	1
I Méthode de positionnement d’objets biologiques ...	5
I.1 Manipulation avec contact	6
I.1.1 Micropipettes.....	6
I.1.2 Micropinces	7
I.1.3 Microscopes à forces atomiques (AFM).....	10
I.2 Manipulation sans contact avec effecteur	11
I.2.1 Actionnement par champ magnétique	11
I.2.2 Actionnement optique	13
I.2.3 Actionnement par champ électrique.....	15
I.3 Manipulation sans contact sans effecteur	16
I.3.1 Actionnement optique	17
I.3.2 Actionnement par ondes acoustiques	18
I.3.3 Actionnement par champs électriques	19
I.4 Détection et caractérisation des cellules	20
I.5 Bilan	22

II	Actionnement par diélectrophorèse	25
II.1	Principe de la diélectrophorèse (DEP)	26
II.1.1	Expression de la force de DEP	26
II.1.2	Modélisation électrique des objets micrométriques.....	28
II.2	Applications actuelles de la diélectrophorèse dans des puces microfluidiques	30
II.2.1	Puces microfluidiques	31
II.2.2	Systèmes d'actionnement en boucle ouverte par diélectrophorèse.....	33
II.2.3	Systèmes d'actionnement en boucle fermée par diélectrophorèse.....	34
II.3	Calcul du champ électrique	37
II.3.1	Différentes méthodes de calcul du champ électrique....	37
II.3.2	Calcul du champ électrique par série de Fourier	39
II.3.2.1	Formulation générale	39
II.3.2.2	Formulation pour deux dimensions avec des électrodes parallèles	41
II.3.2.3	Évaluation du modèle.....	45
II.3.3	Bilan	46
II.4	Conclusion et objectif de la thèse	46
III	Modélisation et commande en boucle fermée	49
III.1	Modèle direct	51
III.1.1	Gravité et force de traînée	53
III.1.2	Force de diélectrophorèse	54
III.1.3	Expression du modèle direct	55
III.2	Modèle inverse	57
III.2.1	Algorithme de recuit simulé.....	58
III.2.2	Étude paramétrique du recuit simulé.....	59
III.2.3	Bilan	60
III.3	Simulation de commande en boucle ouverte	61
III.3.1	Étude de suivis de trajectoire	61
III.3.1.1	Analyse d'une trajectoire à faible vitesse.....	62

III.3.1.2	Analyse d'une trajectoire à haute vitesse	64
III.3.2	Sensibilité aux erreurs d'estimations des paramètres . . .	65
III.4	Contrôle de trajectoire en boucle fermée	68
III.4.1	Architecture du contrôleur en boucle fermée	69
III.4.2	Traitement d'image, mesure de la position suivant \vec{x} . . .	70
III.4.3	Observateur, reconstruction de la position suivant \vec{y} . . .	71
III.4.4	Contrôleur PI	72
III.4.5	Simulation	73
III.5	Conclusion	74
IV	Plateforme expérimentale pour le suivi de trajec-	
	toires en boucle fermée	77
IV.1	Conception et réalisation	79
IV.1.1	Mise en place d'un environnement dédié à la manipu-	
	lation de cellules biologiques	80
IV.1.1.1	Environnement de travail dédié pour la ma-	
	nipulation d'objets biologiques	80
IV.1.1.2	Cellules et microbilles	81
IV.1.1.3	Définition d'un milieu dédié au contrôle de	
	cellules biologiques par diélectrophorèse	82
IV.1.1.4	Mise en place de protocoles expérimentaux . . .	84
IV.1.2	Les puces microfluidiques	86
IV.1.2.1	Puce microfluidique avec des électrodes en or .	87
IV.1.2.2	Puce microfluidique avec des électrodes en	
	ITO	89
IV.1.3	Calcul et génération des signaux	90
IV.1.3.1	Conception matériel	90
IV.1.3.2	Algorithme de traitement d'images	91
IV.1.3.3	Validation de la plateforme expérimentale . . .	92
IV.2	Résultats expérimentaux	94
IV.2.1	Expérience de suivi de trajectoires sur des cellules	94
IV.2.2	Expérience de suivi de trajectoires sur des microbilles .	98
IV.2.3	Discussion	101

IV.3	Conclusion	103
V	Commande avancée par diélectrophorèse	105
V.1	Contrôle 3D d’objets micrométriques	107
V.1.1	Conception de l’actionnement pour un contrôle en 3D .	107
V.1.2	Modèle direct et inverse	108
V.1.3	Algorithme de contrôle de suivi de trajectoire en 3D...	110
V.1.4	Simulation de contrôle de trajectoire en 3D.....	110
V.1.4.1	Manipulation d’une particule	111
V.1.4.2	Manipulation simultanée de deux particules..	111
V.1.5	Bilan	113
V.2	Dispositif de tri d’objets micrométriques tout élec- trique	115
V.2.1	Configuration des électrodes	116
V.2.2	Algorithme de détection de pics	117
V.2.2.1	Détection de pics par dérivation	117
V.2.2.2	Détection de pics par intégration.....	119
V.2.2.3	Validation en simulation	121
V.2.3	Actionnement	122
V.2.4	Plateforme expérimentale.....	123
V.2.4.1	Puce microfluidique.....	123
V.2.4.2	Génération et traitement des signaux.....	123
V.2.4.3	Milieu, microbilles et contrôle du fluide.....	126
V.2.4.4	Observation visuelle	127
V.2.5	Validations expérimentales.....	127
V.2.5.1	Changement de position de particules	128
V.2.5.2	Tri en fonction de la taille.....	131
V.2.6	Bilan	134
V.3	Conclusion	135
	Conclusions et perspectives	137

A	Code Python de calcul du champ électrique par série de Fourier dans le cas général.....	143
B	Développement du processus de gravure de l'ITO par plasma d'Argon.....	147
	B.1 Contexte.....	148
	B.2 Géométrie à graver.....	148
	B.3 Gravure humide ITO.....	148
	B.4 Gravure sèche ITO non recuit.....	150
	B.5 Gravure sèche d'ITO recuit.....	153
C	Code C++ de calcul du champ électrique par série de Fourier dans le cas de deux plans d'électrodes orthogonaux.....	157
D	Schéma électrique d'un multiplicateur de tensions.....	161
E	Explication détaillée du phénomène de perturbation de la mesure d'impédance induit par l'actionnement par diélectrophorèse.....	163
	Bibliographie.....	167

Liste des Figures

I.1	Exemple d'utilisation d'une micropipette pour le déplacement de cellules.	7
I.2	Micropince utilisant différents actionneurs.....	8
I.3	Exemple de deux micropinces permettant de réaliser de la manipulation avec contact.....	9
I.4	Présentation du FluidFM	10
I.5	Exemple de deux microrobots magnétiques manipulés par champs magnétiques.....	12
I.6	Exemple d'un microrobot pour la manipulation sans contact.	13
I.7	Présentation de l'actionnement optique à travers une explication du phénomène physique et deux exemples de manipulation.....	14
I.8	Présentation d'un dispositif de manipulation par pince optoélectronique (OET)/diélectrophorèse induite par la lumière (ODEP).....	15
I.9	Exemple de manipulation direct par actionnement optique.....	17
I.10	Principe de fonctionnement de l'acoustophorèse.....	19
I.11	Présentation d'un système de détection de cellules par impédance....	22
II.1	Illustration du principe de fonctionnement de la diélectrophorèse (DEP).....	27
II.2	Illustration de l'évolution de la force de diélectrophorèse F_{DEP} en fonction du carré du champ E^2 et du signe de f_{CM}	28
II.3	Représentation d'une cellule en utilisant le modèle "single shell".	29
II.4	Évolution de la partie réelle du facteur de Clausius-Mossotti en considérant un lymphocyte T.	30
II.5	Exemple de puces microfluidiques pour le déplacement de particules par diélectrophorèse.....	31
II.6	Résultats expérimentaux obtenus par Nie <i>et al.</i>	33
II.7	Exemples de systèmes d'actionnement en boucle fermée par diélectrophorèse	35

II.8	Tableau comparant les performances des différentes méthodes, semi-analytiques et analytiques.	39
II.9	Représentation schématique d'une cellule dans une puce microfluidique composée d'électrodes parallèles.	42
II.10	Représentation des conditions limites considérées permettant la détermination du potentiel électrique.	43
II.11	Comparaison de la norme du champ électrique calculée par le modèle par série de Fourier (FSM) et par éléments finis (FEM).....	45
III.1	Description du modèle direct sous forme de schéma bloc.	52
III.2	Comparaison des forces de diélectrophorèse calculée par le modèle basé sur les séries de Fourier et les éléments finis.	56
III.3	Représentation sous forme d'un schéma bloc du modèle inverse.	57
III.4	Étude paramétrique pour optimiser l'algorithme de recuit simulé. ...	60
III.5	Représentation sous forme d'un schéma bloc du simulateur permettant d'émuler un suivi de trajectoire en boucle ouverte.....	61
III.6	Simulation de suivi de trajectoire, à faible vitesse, en boucle ouverte sans perturbation.	63
III.7	Simulation de suivi de trajectoire, à haute vitesse, en boucle ouverte sans perturbation.	64
III.8	Étude sur l'impact de la densité et des imprécisions des paramètres de l'objet manipulé sur le suivi de trajectoire.	66
III.9	Simulation montrant l'impact d'une mauvaise estimation de rayon de la particule manipulée.	68
III.10	Principe de fonctionnement d'un contrôle en boucle fermée.....	69
III.11	Schéma bloc détaillé du fonctionnement du contrôleur en boucle fermée.	70
III.12	Analyse de l'influence de la décroissance de la force de diélectrophorèse suivant l'axe \vec{x} avec l'altitude.	71
III.13	Simulation permettant de valider l'observateur \tilde{y}	73
IV.1	Schéma bloc représentant le fonctionnement du dispositif expérimental.	80
IV.2	Évolution du potentiel transmembranaire en fonction de la norme du champ électrique.....	81
IV.3	Effet de l'osmolarité sur la forme des lymphocytes T.	82

IV.4	Étude de la concentration minimum de bleu de trypan permettant une bonne détection des cellules mortes.	83
IV.5	Analyse de l'impact du bleu de trypan à faible concentration sur le déplacement de cellules induit par diélectrophorèse.	84
IV.6	Illustration montrant les étapes de préparation de l'expérience après avoir laissé la BSA agir pendant dix minutes et rincé la puce.	86
IV.7	Image d'une puce avec des électrodes en ITO (Indium Tin Oxide). ...	87
IV.8	Effets d'une tension sinusoïdale d'amplitude inférieure à 10 V appliquée sur une électrode en or d'épaisseur 20 nm.	88
IV.9	Description du processus de traitement d'images.	91
IV.10	Validation expérimentale du modèle direct.	92
IV.11	Image du dispositif expérimental utilisé pour le contrôle de la trajectoire de particules par diélectrophorèse.	93
IV.12	Résultats expérimentaux du contrôle de trajectoire de cellules le long de trois trajectoires.	96
IV.13	Étude de la viabilité des cellules après déplacement par diélectrophorèse.	98
IV.14	Présentation sous forme d'un schéma bloc du contrôleur en boucle fermée utilisé pour le contrôle de trajectoire de microbilles.	99
IV.15	Expérience du contrôle de trajectoire de microbilles en borosilicate de 10 μm de diamètre le long d'une trajectoire triangulaire.	100
IV.16	Résultat d'un suivi de trajectoire pour une vitesse de 210 $\mu\text{m s}^{-1}$	101
IV.17	Graphique montrant le résultat d'expériences de suivi de trajectoires sur des microbilles en verres pour des trajectoires triangulaires de vitesse 30 $\mu\text{m s}^{-1}$ à 210 $\mu\text{m s}^{-1}$	102
V.1	Conception de la puce microfluidique composée de deux plans d'électrodes proposés.	108
V.2	Description du contrôleur permettant un contrôle en trois dimensions d'objets micrométriques par diélectrophorèse.	110
V.3	Simulation du suivi de trajectoire en trois dimensions.	112
V.4	Simulation du contrôle simultané, en trois dimensions, de la trajectoire de deux particules avec des propriétés identiques.	114
V.5	Présentation des applications visées.	116
V.6	Présentation du dispositif permettant la mesure par impédance et l'actionnement par diélectrophorèse.	118

V.7	Représentation des premières étapes de l'algorithme de détection de pics basé sur la dérivée.	119
V.8	Définition des différents états de l'algorithme de détection de pics . . .	120
V.9	Représentation des premières étapes de l'algorithme de détection de pics basé sur l'intégration du signal.	121
V.10	Résultat des algorithmes de détection de pics en simulation.	122
V.11	Image de la puce fabriquée et utilisée pour les expériences.	124
V.12	Description des différents éléments permettant la mesure de courant par spectroscopie d'impédance et la génération des signaux d'actionnement.	125
V.13	Image du dispositif expérimental.	126
V.14	Résultat expérimental obtenu pour le changement de position latéral dans un canal microfluidique de microbilles.	129
V.15	Formation de bulles dans le PDMS.	131
V.16	Figure représentant le nombre de particules détecté par impédance en fonction de Δ et D_{raw}	133
V.17	Superposition d'images issues de l'expérience de tri en fonction du diamètre.	134
VI.1	Caractéristiques de la cellule mesurée par impédance en fonction de la fréquence du signal d'excitation.	141
VI.2	Comparaison des zones de mesures possible par camera et par impédance sur un dispositif avec 6 canaux microfluidiques.	141
B.1	Résultats de gravure humide pour de l'ITO recuit	149
B.2	Résultat d'une gravure humide pour ITO non recuit	150
B.3	Schéma du process permettant d'identifier la sélectivité de la résine ainsi que la vitesse de gravure	151
B.4	Image du résultat de la gravure. Chaque électrode doit avoir une largeur de $5\ \mu\text{m}$ et être espacé de $5\ \mu\text{m}$	152
B.5	Résultats de gravure sèche à 20° pour de l'ITO recuit	154
B.6	Résultats de gravure sèche à 5° pour de l'ITO recuit	156
D.1	Schéma électronique de la carte permettant de multiplier un signal continue avec un signal sinusoïdal.	162

Liste des Tables

III.1 Définition des paramètres utilisés pour les simulations.....	55
III.2 Caractéristiques de particules simulées pour valider le contrôleur en boucle fermée	74
IV.1 Composition des milieux utilisés	83

Introduction générale

Dans le cadre du développement de nouveaux moyens thérapeutiques, il devient nécessaire de pouvoir identifier et déplacer des cellules biologiques de manière précise et individuelle [Xue 22, Abdulla 22, Luo 19]. Les études conventionnelles effectuées sur de grandes quantités de cellules ne permettent pas de déceler les comportements spécifiques à chaque cellule ou les interactions cellules à cellules. Ces méthodes limitent donc la compréhension à l'échelle cellulaire de certains phénomènes [Van Der Leun 20, Gao 19]. De plus, les moyens de tris actuel ne sont pas assez sélectifs pour isoler des cellules très peu présentes dans le sang, souvent nécessaire pour le développement de nouvelles thérapies [Radfar 22, Kirtane 21, Shen 19]. Les deux problématiques limitant le développement de ces thérapies sont l'observation et la caractérisation de cellules individuelles peu présentes dans le sang, ainsi que leur déplacement contrôlé.

Dans les dernières années, différents outils ont été développés afin de répondre à ces problématiques. Pour travailler à l'échelle cellulaire, les puces microfluidiques sont aujourd'hui largement utilisées [Pattanayak 21, Xu 20]. Elles sont composées de microcanaux et permettent d'y faire circuler un fluide contenant des cellules. En choisissant des canaux avec une dimension proche des cellules manipulées, il est possible de faire passer les cellules une à une dans ces canaux. Cela permet d'interagir individuellement avec chacune d'entre elles que ce soit pour les caractériser ou les déplacer. La plupart des méthodes d'identification ou de déplacement étudiés se déroulent dans des puces microfluidiques.

Les systèmes d'actionnement permettant de déplacer des cellules dans des puces microfluidiques peuvent être séparés en plusieurs catégories, parmi elles, l'actionnent sans contact sans effecteur [Cha 22]. Ce type d'actionnement désigne des systèmes où la cellule est affectée par un champ de force. Ils ne requièrent pas de marquage ou de préparation préalable des cellules. La modulation de champs électriques dans des puces microfluidiques permet, par exemple, de déplacer des objets micrométriques par diélectrophorèse. Il existe cependant peu de systèmes permettant un contrôle précis de la position des cellules en boucle fermée.

Cette thèse s'intéresse à la conception, au développement et à la validation d'un dispositif permettant de contrôler en boucle fermée le déplacement de cellules individuelles par champ électrique. Elle propose :

- Une commande en boucle fermée basée sur un retour visuel ainsi qu'un observateur permettant un positionnement précis et répétable. L'observateur permet de reconstruire l'altitude de la cellule qui n'est pas directement accessible par traitement d'image. Cette commande est développée pour un

contrôle de trajectoire en deux dimensions et est étendue pour un contrôle de trajectoire en trois dimensions. Ce contrôle en trois dimensions permet également le contrôle simultané et indépendant de plusieurs objets.

- Une étude sur l'impact de la densité et des erreurs d'estimation des paramètres du modèle sur le contrôle de trajectoire. Cette étude permet d'identifier l'impact de la densité d'un objet sur sa trajectoire en boucle fermée et de différencier deux catégories correspondant aux objets de faible densité (particules biologiques) et de forte densité.
- Une plateforme expérimentale conçue pour répondre à la double problématique du contrôle en boucle fermée par champ électrique et de la manipulation aux cellules biologiques.
- La validation expérimentale du contrôle de trajectoire sur des objets de densité différente de diamètre inférieur ou égal à $10\ \mu\text{m}$. Ces expériences sont conduites sur des microbilles en verre (densité élevée) et des lymphocytes T (faible densité). C'est la première fois qu'une commande en boucle fermée de cellules par champ électrique est réalisée.
- Un dispositif de contrôle de trajectoire tout électrique réalisé en collaboration avec le professeur Federica Caselli de l'université de Rome Tor Vergata. Ce dispositif utilise la spectroscopie d'impédance pour identifier les cellules et les champs électriques pour les déplacer. Il s'agit d'une preuve de concept ouvrant la voie vers des dispositifs plus complexes de contrôle de trajectoire en boucle fermée sans information visuelle. C'est également la première fois qu'une puce microfluidique de tri automatisé utilisant l'actionnement par diélectrophorèse et la mesure d'impédance est proposée.

Ce manuscrit est organisé de la manière suivante. Les deux premiers chapitres présentent l'état de l'art concernant les méthodes d'actionnement permettant de déplacer des objets biologiques. Les trois chapitres suivants sont dédiés aux contributions scientifiques.

Le chapitre 1 propose un état de l'art concernant les diverses méthodes utilisées aujourd'hui pour déplacer et positionner des cellules. Ces méthodes sont catégorisées en trois parties. Les méthodes d'actionnement avec contact, qui utilisent des micropipettes et des micropinces ; celles sans contact avec effecteur et celles sans contact sans effecteur. Cet état de l'art montre que les méthodes sans contact sans effecteur, qui permettent de déplacer directement des objets par champ de force sont particulièrement prometteuses. Notamment, la méthode d'actionnement utilisant les champs électriques.

Le chapitre 2 se concentre sur le déplacement d'objets micrométriques par champs électriques à partir du phénomène de diélectrophorèse induit par l'application d'un champ électrique non uniforme sur un objet diélectrique. Les différentes plateformes expérimentales existantes sont présentées en introduisant la notion de système d'actionnement passif et actif. Cette distinction différencie les systèmes dont le champ électrique est invariant dans le temps des systèmes où il est actualisé

en temps réel. Enfin, différents modèles permettant de calculer le champ électrique sont présentés et discutés. Le modèle de calcul du champ électrique par série de Fourier est détaillé. Il a pour avantage un faible temps de calcul et permet de découpler le vecteur de commande des autres paramètres, il est donc utilisé dans la suite de cette thèse.

Le chapitre 3 présente l'algorithme de commande en boucle fermée basée sur le modèle de calcul du champ électrique par série de Fourier et un retour visuel pour contrôler la trajectoire de particules en deux dimensions. Dans un premier temps, le modèle direct est présenté. Il permet de calculer le déplacement d'un objet micrométrique induit par un champ électrique en considérant les forces de diélectrophorèse, de traînée, de gravité et la poussée d'Archimède. Puis, le modèle inverse permettant de calculer le champ électrique nécessaire pour induire un certain déplacement est détaillé. Le modèle direct ne pouvant être inversé de manière analytique, ce modèle est basé sur un algorithme d'optimisation, le recuit simulé. Enfin, une limitation du champ électrique est introduite afin de ne pas endommager les cellules biologiques déplacées. Ce modèle inverse est validé par des simulations de contrôle de trajectoire en boucle ouverte. Il permet d'identifier l'influence de la densité des objets et des erreurs d'estimation de paramètres du modèle sur le contrôle. Ensuite, un algorithme de contrôle en boucle fermée est présenté. Cet algorithme utilise un retour par caméra pour obtenir la position de l'objet déplacé suivant un axe ainsi qu'un observateur original. L'observateur permet de reconstruire l'altitude de la cellule qui n'est pas directement accessible par traitement d'image. Cet algorithme est validé en simulation.

Le chapitre 4 présente le dispositif expérimental développé pendant cette thèse. La conception prend en compte les contraintes liées à la mise en place d'un algorithme de contrôle en boucle fermée et à l'expérimentation sur des cellules biologiques. Ce dispositif est utilisé afin de valider les algorithmes de contrôle développés dans le chapitre précédent. Il présente les différents aspects matériel et logiciel de la plateforme expérimentale. La plateforme permet de valider la loi de commande développée et présente les résultats expérimentaux de suivis de trajectoires effectuées sur des microbilles en verre et des lymphocytes T, deux particules avec des densités très différentes, mais un diamètre identique de $10\ \mu\text{m}$. C'est à notre connaissance la première fois qu'un contrôle en deux dimensions en boucle fermée par diélectrophorèse de cellules biologique est réalisé.

Le chapitre 5 propose deux extensions de la plateforme développée dans les chapitres précédents : une première permettant le contrôle de trajectoires en trois dimensions, une seconde présentant un dispositif en boucle fermée, tout électrique validé expérimentalement.

La première partie du chapitre 5 détaille une extension de la plateforme expérimentale présentée en chapitre 4 permettant d'effectuer du contrôle de trajectoires de particules en trois dimensions. La conception de la puce microfluidique pro-

posée est présentée. Ce dispositif est validé en simulation. La simulation montre également la possibilité de manipuler individuellement, mais simultanément deux objets identiques.

Le chapitre 5 présente de plus des travaux résultant d'une collaboration avec le professeur Federica Caselli de l'université Tor Vergata de Rome. Il présente un dispositif de tri automatisé d'objets micrométrique tout électrique. La détection et l'identification des particules sont effectuées par impédance. Le déplacement est effectué par diélectrophorèse. Ce dispositif a permis de réaliser un tri en fonction de la position des objets dans une puce microfluidique et en fonction de la taille des objets. Il s'agit d'une preuve de concept encourageante pour le développement de plateformes microfluidiques pour du tri automatisé sans information visuelle. C'est la première fois qu'un tri automatisé est réalisé par une puce "tout électrique" combinant des mesures d'impédance et un actionnement par diélectrophorèse.

Enfin, un dernier chapitre conclut ce manuscrit. Il synthétise les résultats obtenus et propose des perspectives à ces travaux.

Chapitre I

Méthode de positionnement d'objets biologiques

I.1	Manipulation avec contact	6
I.1.1	Micropipettes	6
I.1.2	Micropinces	7
I.1.3	Microscopes à forces atomiques (AFM)	10
I.2	Manipulation sans contact avec effecteur	11
I.2.1	Actionnement par champ magnétique	11
I.2.2	Actionnement optique	13
I.2.3	Actionnement par champ électrique	15
I.3	Manipulation sans contact sans effecteur	16
I.3.1	Actionnement optique	17
I.3.2	Actionnement par ondes acoustiques	18
I.3.3	Actionnement par champs électriques	19
I.4	Détection et caractérisation des cellules	20
I.5	Bilan	22

La capacité à positionner et déplacer des cellules individuellement est aujourd'hui clé pour l'étude et la compréhension de phénomènes biologiques. Elle est également nécessaire pour la réalisation de tri ou de séparation cellulaire à grande échelle. Différents dispositifs robotisés existent aujourd'hui pour répondre à ces besoins et peuvent être classés en trois catégories. Les dispositifs permettant une manipulation¹ des cellules avec contact (type pince micrométrique), sans contact avec effecteur (type actionnement magnétique) ou sans contact sans effecteur. Ce chapitre présente les différentes technologies robotiques permettant d'effectuer cette tâche sur des cellules et des microparticules dont l'utilisation des champs électriques. La dernière partie de ce chapitre est consacré aux méthodes conventionnelles utilisées pour la détection et la caractérisation de cellules. Le prochain chapitre se concentrera sur les méthodes de déplacements d'objets micrométriques par champs électriques.

I.1 MANIPULATION AVEC CONTACT

La manipulation avec contact est caractérisée par l'utilisation de systèmes dont l'effecteur est relié mécaniquement aux actionneurs, comme il est conventionnel de le faire dans la robotique à échelle macroscopique. Par exemple, dans le cas d'un bras robotisé avec une pince comme effecteur, la pince est physiquement reliée aux actionneurs permettant son déplacement ainsi que son ouverture et sa fermeture [Samadikhoshkho 19]. Grâce aux différentes technologies de moteurs disponibles aujourd'hui (piézoélectrique, pas à pas...) [Gao 20], il est possible de concevoir des systèmes dont la position de l'effecteur suivant les trois translations est contrôlée avec une précision inférieure au micromètre. Ces systèmes permettent ainsi d'interagir avec des objets micrométriques. Toutefois, les actionneurs même miniatures, sont beaucoup plus grands que les cellules biologiques, il n'est donc pas possible d'immerger l'ensemble du préhenseur dans le milieu biologique. Ces méthodes nécessitent ainsi un environnement dit "ouvert" permettant à l'effecteur d'être immergé alors que l'actionneur est placé dans l'air.

Les effecteurs les plus classiques à l'échelle micrométrique sont les micropipettes, utilisant le principe de pression/dépression pour attirer et relâcher l'objet, les micropinces, permettant la saisie de l'objet et son relâchement ainsi que les microscopes à forces atomiques (AFM).

I.1.1 Micropipettes

Les micropipettes fonctionnent grâce à un système de pression/dépression pour saisir/relâcher les objets biologiques à déplacer. C'est une méthode largement utilisée en biologie pour le déplacement de grandes quantités de cellules manuellement.

1. Le terme "manipulation" est utilisé dans cette thèse pour désigner le positionnement ou le déplacement dans l'espace d'une particule micrométrique.

L'attention est ici portée sur des systèmes de micropipette robotisés permettant le déplacement de cellules unitaires. Ces techniques ont pour avantage de pallier aux problématiques d'adhésions grâce à un relâchement par surpression. Toutefois, il est nécessaire de contrôler la dépression dans le cas présenté pour connaître la déformation et la force exercée sur l'objet [González-Bermúdez 19].

Deux approches présentées dans la figure I.1 sont majoritairement utilisées. La première consiste à utiliser une pointe dont le diamètre est inférieur à la taille de la cellule. En créant une dépression avec la micropipette, l'objet va être attiré vers la pointe jusqu'à en boucher l'orifice et être maintenu contre celle-ci [Liu 19]. La figure I.1(a) montre la saisie d'une cellule en utilisant cette approche. Le relâchement de l'objet sera ensuite effectué en augmentant la pression dans la micropipette.

La deuxième approche consiste à utiliser une pointe plus grande que l'objet à manipuler, le but est ici de créer une dépression jusqu'à attirer l'objet dans la pointe [Shan 20]. La pointe peut ensuite être déplacée tout en conservant l'objet micrométrique à l'intérieur. La cellule est finalement relâchée de la même manière que pour la méthode précédente. Cette méthode est par exemple utilisée pour déplacer le spermatozoïde lors d'une fécondation in vitro [Rubino 15].

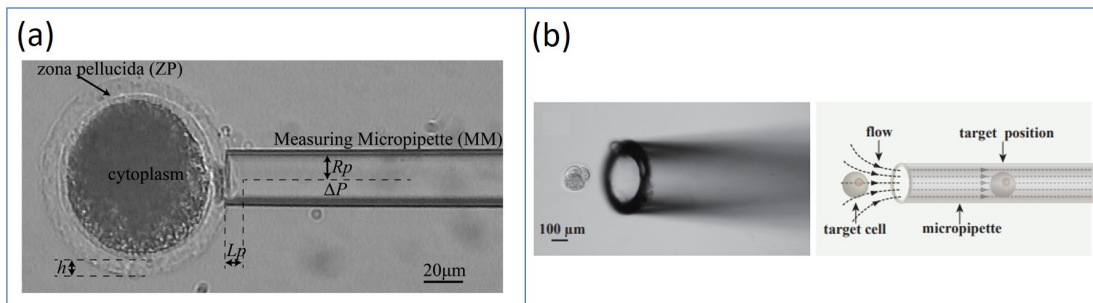


FIGURE I.1 – Exemple d'utilisation d'une micropipette pour le déplacement de cellules. (a) Saisie d'une cellule à l'aide d'une micropipette [Liu 19]. (b) Transport de cellules dans une micropipette [Shan 20]

Cette technique de manipulation présentée figure I.1(b) est lente [Zhao 22], plusieurs secondes sont nécessaires pour positionner une cellule dans une micropipette, il est ensuite nécessaire de déplacer la micropipette puis de relâcher la cellule pour terminer la manipulation.

I.1.2 Micropinces

Les micropinces sont similaires aux pinces macroscopiques, deux mâchoires permettent, en les rapprochant ou les éloignant, de saisir et relâcher un objet. Cependant, de par leur taille, le déplacement des mâchoires ne peut être généré par des actionneurs classiques. Différentes études sont menées pour trouver un phé-

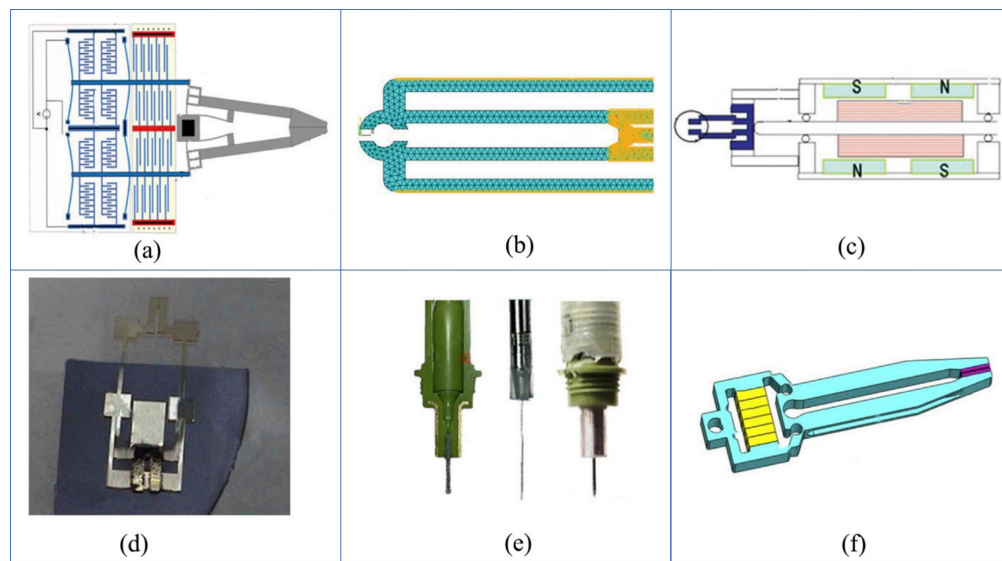


FIGURE I.2 – Micropince utilisant différents actionneurs. (a) Électrostatique [Bazaz 11]. (b) Thermique [Kim 05]. (c) Électromagnétique [Iamoni 14]. (d) Alliage à mémoire de forme [Roch 03]. (e) Pneumatique [Ruggeri 18]. (f) Piézoélectrique [Long 17]

nomène physique et un design de pince permettant d'obtenir une large ouverture, une grande dynamique d'ouverture/fermeture ainsi qu'une grande répétabilité et robustesse à la fatigue [Wang 15].

Différentes micropinces ont été répertoriées sur la figure I.2 [Lyu 21]. Les micropinces se basent principalement sur des effets électrostatiques, thermiques (dont alliages à mémoire de formes), électromagnétiques, piézoélectriques et pneumatiques. Les micropinces permettent de déplacer des objets micrométriques, cependant, il est nécessaire de porter une attention particulière aux forces d'adhésion et à la force appliquée sur l'objet manipulé. En effet, à échelle micrométrique, les forces d'adhésions sont non négligeables induisant des difficultés à relâcher un objet micrométrique. L'étude de ces forces d'adhésions et de moyens permettant de les limiter est un domaine actif de recherche [Tran 21, De Pasquale 22]. Enfin, la force appliquée sur l'objet saisi doit pouvoir être modélisée ou mesurée pour ne pas endommager ce dernier [Xie 18a].

La plupart des pinces ont été développées pour manipuler des objets manufacturés. Des travaux récents montrent toutefois que leur usage est possible pour la préhension de cellules biologiques. Parmi eux, deux approches originales ont récemment été proposées par Ahmad *et al.* [Ahmad 23] et Jia *et al.* [Jia 19]. Ahmad *et al.* propose un actionneur en forme de spirale imprimé par impression à deux photons [Bunea 21]. Cette spirale est composée de deux matériaux avec des propriétés de dilatation thermique différentes créant un système bilame. Une extrémité de la spirale est fixe tandis que l'autre est libre. Lorsque la spirale est illuminée par un laser, les différentes propriétés thermiques des matériaux engendrent un

déplacement de l'extrémité libre de la spirale. Ce déplacement est ensuite utilisé pour créer le mouvement d'ouverture/fermeture nécessaire à une micropince, voir [figure I.3](#). Cette pince peut être entièrement immergée dans un milieu biologique pour manipuler des cellules.

Jia *et al.* ont développé un mécanisme complexe basé sur hydrogel à mémoire de forme sensible à la température. Cet hydrogel se déforme au contact d'un objet pour prendre une forme adéquate à la saisie de ce dernier. Cela permet de saisir des objets de différentes formes et états surfaces. Ce système est adapté à la manipulation d'objet biologique et est par exemple utilisé [figure I.3](#) pour déplacer un microtissu.

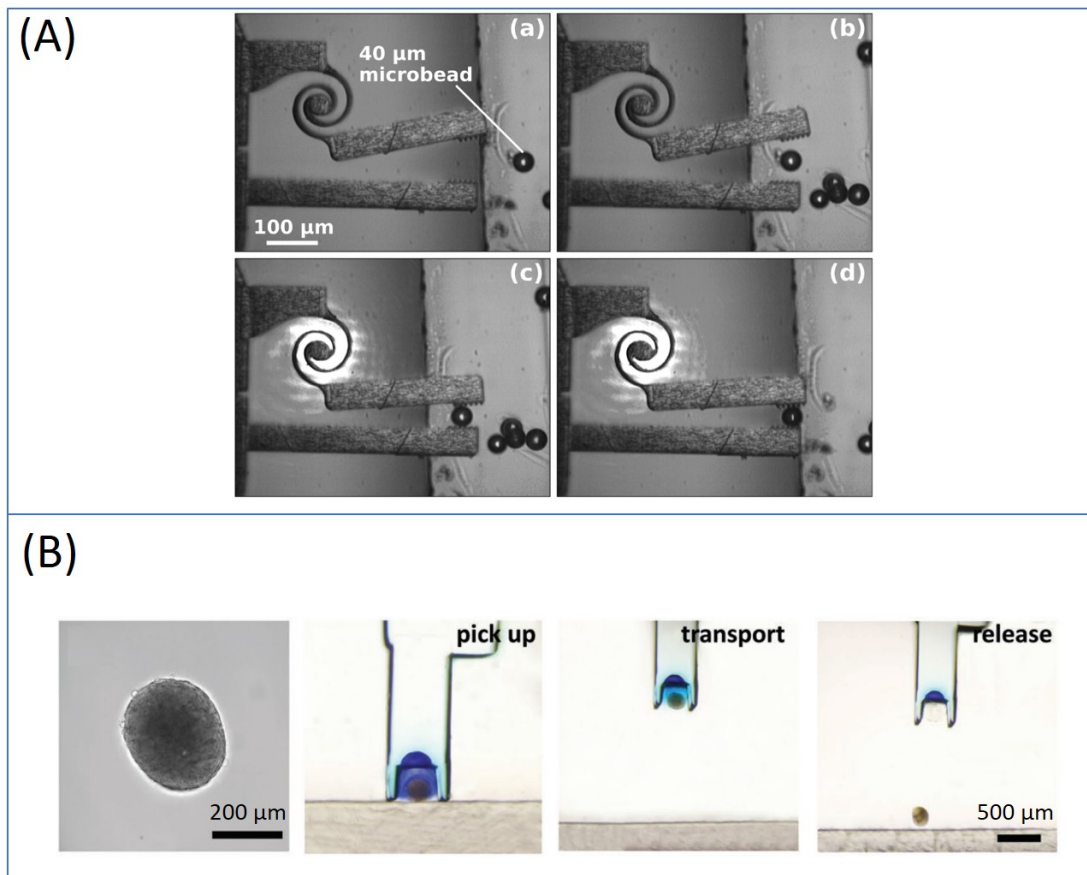


FIGURE I.3 – (A) Micropinçe proposée par Ahmad *et al.* composée d'un actionneur en forme de spirale en bimatériaux. Lorsque la spirale est illuminée avec un laser (figure (c) et (d)), un déplacement de la partie libre de la spirale est généré permettant la fermeture de la pince [Ahmad 21].

(B) Micropinçe proposée par Jia *et al.* composée d'un hydrogel à mémoire de forme sensible à la température. Les images représentent le déroulement du déplacement d'un microtissu [Jia 19].

I.1.3 Microscopes à forces atomiques (AFM)

Les microscopes à force atomique permettent la caractérisation, avec une résolution nanométrique, de la morphologie d'une surface. Cette résolution est obtenue en déplaçant la pointe micrométrique d'un microlevier sur un échantillon, les variations de la surface engendrent une déformation du microlevier mesurée par un laser réfléchi par l'arrière du microlevier et analysé par une photodiode. En connaissant précisément les propriétés mécaniques du microlevier, il est possible de connaître précisément les forces appliquées sur l'objet et d'obtenir des caractéristiques mécaniques de l'objet. Les AFM sont notamment utilisés pour caractériser des objets biologiques déposés sur un substrat.

La mesure de force offerte par l'AFM est également utilisée par déplacer de manière contrôlée des objets micrométriques. Soit, en les poussant avec la pointe du microlevier [Sitti 00] ou en manipulant un objet entre deux pointes de microlevier [Xie 09]. En combinant le principe de pression/dépression d'une micropipette et un microscope à force atomique, Saha *et al.* ont développé un microlevier creux pour obtenir un microscope à force atomique avec un système d'aspiration à sa pointe. Ce système présenté dans la figure I.4, a pour avantage de conserver les informations obtenues par une caractérisation AFM (force et caractéristiques mécaniques de l'objet) tout en permettant la saisie/relâchement d'un objet micrométrique par aspiration/dépression.

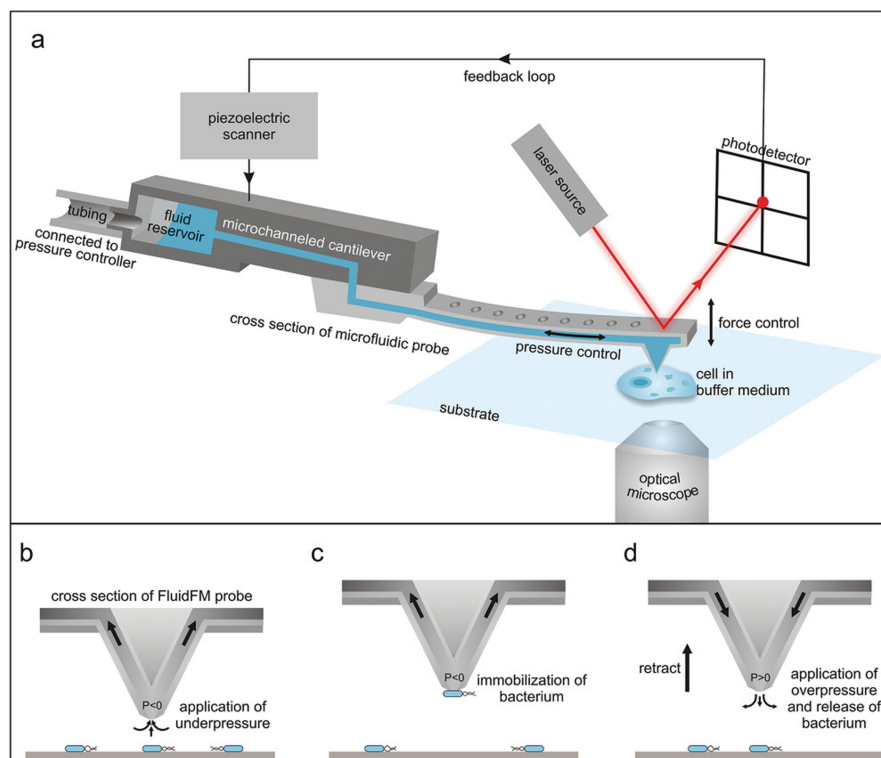


FIGURE I.4 – Présentation du FluidFM. Un dispositif basé sur un microscope à force atomique modifié pour permettre le déplacement de cellules [Saha 20].

Les techniques de manipulation avec contact présentées dans cette section permettent de déplacer des cellules biologiques. Cependant, la préhension de la cellule engendre des problématiques de relâchement liées aux forces d'adhésion. Ces systèmes sont également peu adaptés au déplacement d'un grand nombre de cellules de par le temps requis pour déplacer une cellule (quelques secondes). La prochaine section définit et présente les différentes méthodes de manipulation sans contact avec effecteurs.

I.2 MANIPULATION SANS CONTACT AVEC EFFEC- TEUR

En opposition à la manipulation avec contact présentée dans la section précédente, un système de manipulation sans contact est caractérisé par une absence de lien physique entre les actionneurs et l'effecteur. L'exemple commun représentant ce type de manipulation est la manipulation par champs magnétiques. Il est possible, en utilisant un aimant, de déplacer un second aimant sans contact physique entre les deux. D'autres phénomènes physiques peuvent être utilisés pour générer ces forces à distance tels que les champs électriques, les ondes acoustiques ou les pressions de radiation optiques. Ce type d'actionnement repose sur la capacité à contrôler des forces à distance afin d'induire un mouvement spécifique à un objet. Ces effecteurs mobiles sont communément appelés microrobots. La manipulation sans contact avec effecteur/microrobot peut utiliser des méthodes ou technologies présentées [section I.1](#) porté par une structure libre et déplacée sans contact. Ces types d'actionnements de microrobots offrent notamment la capacité à travailler en environnement clos.

I.2.1 Actionnement par champ magnétique

L'actionnement magnétique est la méthode la plus populaire en microrobotique. En effet, il permet une manipulation suivant 6 degrés de liberté et possède une capacité de pénétration intéressante dans un grand nombre de milieux, permettant son utilisation pour des applications *in vivo* [[Sitti 20](#), [Aziz 20](#)]. L'actionnement magnétique permet également de générer des forces de magnitudes élevées. De manière générale, des électroaimants sont positionnés autour de l'espace de travail et alimentés indépendamment. En contrôlant le courant injecté dans chaque électroaimant, il est possible de maîtriser le champ magnétique dans l'espace de travail et donc, les forces appliquées sur l'effecteur magnétique dont la magnétisation est connue. En considérant un champ magnétique \mathbf{B} et un effecteur de magnétisation \mathbf{m} , le couple τ_m et la force \mathbf{F}_m générés sur l'effecteur sont régis par [[Yang 20](#)] :

$$\tau_m = \mathbf{m} \times \mathbf{B} \quad (\text{I.1})$$

$$\mathbf{F}_m = (\mathbf{m} \nabla) \cdot \mathbf{B} \quad (\text{I.2})$$

avec ∇ l'opérateur gradient. Les équations I.1 et I.2 montrent que l'orientation de \mathbf{B} permet de générer un couple sur l'effecteur permettant d'aligner le vecteur de magnétisation \mathbf{m} de ce dernier avec le champ extérieur. Le gradient de \mathbf{B} permet de générer une force sur l'effecteur.

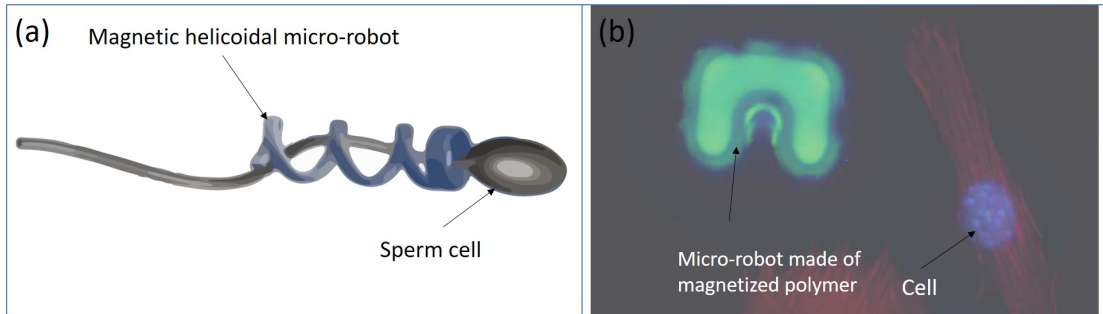


FIGURE I.5 – Exemple de deux microrobots magnétiques manipulés par champs magnétiques. (a) Représente un microrobot hélicoïdal mis en mouvement par un champ magnétique tournant, entraînant la rotation de microrobot et, grâce à son design, un mouvement de translation. Il est utilisé pour le transport de spermatozoïde [Magdanz 17]. (b) Représente un microrobot en forme de U fabriqué à partir d'un mélange de particules ferromagnétiques et de résine photo résistive. Il est utilisé pour le transport automatisé de cellules [Steager 13].

Le principe le plus simple consiste à utiliser la force magnétique directement comme force d'actionnement. Récemment, les techniques consistant à piéger des particules ferromagnétiques dans des polymères ont permis le développement de différents effecteurs souples avec des magnétisations complexes [Xu 19, Ju 21]. Le microrobot en forme de U figure I.5.(b) est fabriqué à partir d'un mélange de particules ferromagnétiques et d'une résine photo résistive. Le contrôle de la direction et du gradient du champ magnétique permet de contrôler le déplacement et l'orientation de ce microrobot. Il est ainsi utilisé pour pousser des cellules d'une position à une autre de manière automatisée [Steager 13].

Le second principe de locomotion consiste à générer une rotation du microrobot en exploitant le couple magnétique. Ce mouvement de rotation est ensuite transformé en mouvement de translation grâce à la forme du microrobot. Les microrobots hélicoïdaux sont largement étudiés pour le transport de cellules ou de micro-objets. Une partie du microrobot est aimanté avec une direction spécifique. Un champ magnétique tournant crée un couple sur la partie aimantée du microrobot entraînant la rotation de ce dernier, qui, de par sa conception, crée un mouvement de translation. Magdanz *et al.* utilisent un microrobot hélicoïdal actionné par champs magnétiques présentés figure I.5.(a) pour le déplacement de spermatozoïde [Magdanz 17]. Ils sont capables de positionner le microrobot hélicoïdal autour d'un spermatozoïde avec une déficience de mobilité, puis de le transporter jusque dans un ovocyte pour permettre une fécondation *in vitro*.

Enfin, il est possible de coupler l'actionnement magnétique avec d'autres actionnements. Ainsi Ahmad *et al.*, après avoir développé la micropince présentée figure I.3, ont développé le microrobot actionné par champ magnétique présenté figure I.6. Le système nécessaire au déplacement du microrobot est composé de quatre électroaimants permettant de contrôler l'orientation et le gradient du champ magnétique. Le microrobot transporte un aimant permanent lui permettant d'être déplacé sans contact. Le microrobot utilise ensuite la micropince présentée figure I.3 pour saisir et relâcher des objets micrométriques.

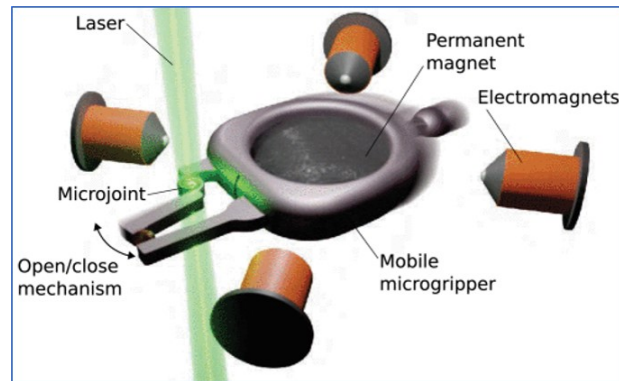


FIGURE I.6 – Microrobot/effecteur pour la manipulation sans contact. Représentation du microrobot imprimé par Nanoscribe, composé d'une micropince présentée section I.1.2 et d'un aimant permanent permettant au robot d'être déplacé par champ magnétique [Ahmad 23].

Le champ magnétique étant généré pour tout un espace de travail, il est compliqué, au sein de cet espace de travail, de contrôler indépendamment la position de différents effecteurs. L'actionnement magnétique indépendant de plusieurs microrobots est une problématique en cours d'étude à l'échelle internationale [Xu 22].

I.2.2 Actionnement optique

Une seconde manière de générer une force à distance sur un objet est d'utiliser la lumière. En effet, le principe de pinces optiques démontré par Ashkin *et al* [Ashkin 86] est aujourd'hui largement utilisé [Hu 22].

Cette méthode consiste à déplacer un objet micrométrique transparent et diélectrique grâce à la pression de radiation et le champ électrique généré par l'interaction entre cet objet et un laser [Ashkin 92]. Sous réserve de quelques hypothèses sur les propriétés diélectriques de l'objet on peut montrer que la force résultante a pour action de centrer l'objet manipulé dans le laser. Une description qualitative est donnée figure I.8(a)(b). Cette figure décrit l'action d'un piège optique induit par une paire de rayons lumineux a et b issues d'un laser convergeant en négligeant la réflexion à l'interface de la sphère. En considérant que les deux forces \mathbf{F}_a et \mathbf{F}_b sont uniquement induites par réfraction des rayons a et b , celles-ci induisent une force \mathbf{F} tendant à déplacer l'origine de la sphère O vers le point focal du laser f .

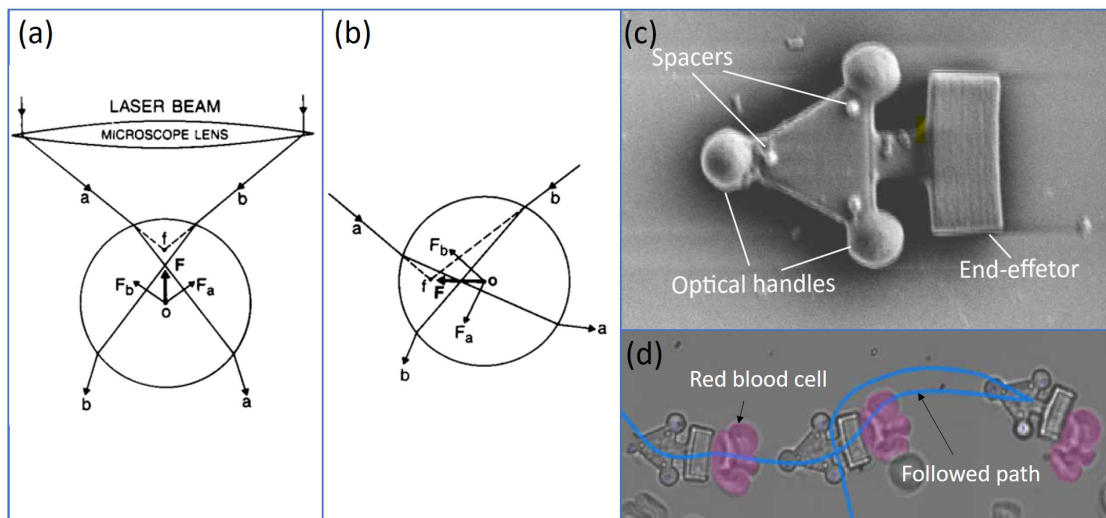


FIGURE I.7 – (a) et (b) présentent de l'effet de centrage créé par une pince optique sur un objet sphérique transparent [Ashkin 92]. (c) microrobot contrôlé par pince optique utilisé pour le déplacement de globules rouges. Le robot est composé de poignées optiques (Optical handles) permettant sa manipulation par pince optique [Gerena 19b]. (d) exemple de transport de globule rouge avec le microrobot présenté en (c). La ligne bleue représente le déplacement effectué par le microrobot.

Avec ce phénomène, il est possible de contrôler plusieurs objets en utilisant une seule et même source lumineuse. En utilisant, par exemple, des miroirs orientables par actionneur piézoélectrique, il est possible de changer à haute fréquence (centaines de hertz) la position du point focal. En considérant une fréquence de 1 kHz et deux positions focales, le laser sera à une position p_1 pendant 1 ms puis à une position p_2 pendant 1 ms puis de nouveau à p_1 pendant 1 ms et ainsi de suite. Cela permet de créer deux pièges aux positions p_1 et p_2 . Cela est toutefois limité, plus le nombre de pièges augmente, plus la force appliquée sur chaque piège par unité de temps $t \gg 1$ ms diminue, diminuant la stabilité de chaque piège.

En confectionnant des microrobots avec des parties sphériques et transparentes, il est possible de le manipuler par l'intermédiaire de ces sphères. Gerena *et al.* utilisent ce principe pour déplacer des cellules d'une position à une autre à l'aide d'un microrobot actionné par pince optique [Gerena 19b].

Les faisceaux lumineux utilisés pour cet actionnement ont un diamètre de quelques micromètres et génèrent des forces localisées. Cela permet la manipulation découplée de plusieurs objets relativement proches les uns des autres. Ce principe d'actionnement est efficace pour un déplacement plan, cependant, il est limité pour des déplacements ou rotations hors plan.

I.2.3 Actionnement par champ électrique

Il est également possible de manipuler du microrobot en utilisant les champs électriques. Si un objet diélectrique est soumis à un gradient de champs électriques, celui-ci subit une force proportionnelle au gradient de la norme du champ électrique au carré appelé force de diélectrophorèse.

$$\mathbf{F}_{DEP} = 4\pi\epsilon_0\epsilon_m a^3 \text{Re}[K(\omega)] \nabla E_{rms}^2 \quad (\text{I.3})$$

avec ϵ_0 la permittivité du vide, ϵ_m la permittivité du milieu dans lequel est plongé la particule, a le rayon de la particule, ∇E_{rms}^2 le gradient du carré de la valeur efficace du champ électrique et $\text{Re}[K(\omega)]$ la partie réelle du facteur de Clausius-Mossotti.

Ce mode d'actionnement est également utilisé pour la manipulation directe d'objet (sans contact sans effecteurs) comme décrit dans la suite du manuscrit section I.3.3. Cependant, pour la manipulation de cellules biologiques, il est nécessaire de faire attention au champ électrique généré proche des cellules pour ne pas les endommager. C'est pourquoi cette méthode d'actionnement est également exploitée pour manipuler des microrobots munis d'effecteurs. Dans ce cas, l'enjeu est de générer une force diélectrophoretic significative sur le microrobot et négligeable sur l'objet manipulé par le microrobot. La plupart des objets étant sensibles aux champs électriques, l'enjeu est de focaliser le gradient du champ sur le microrobot.

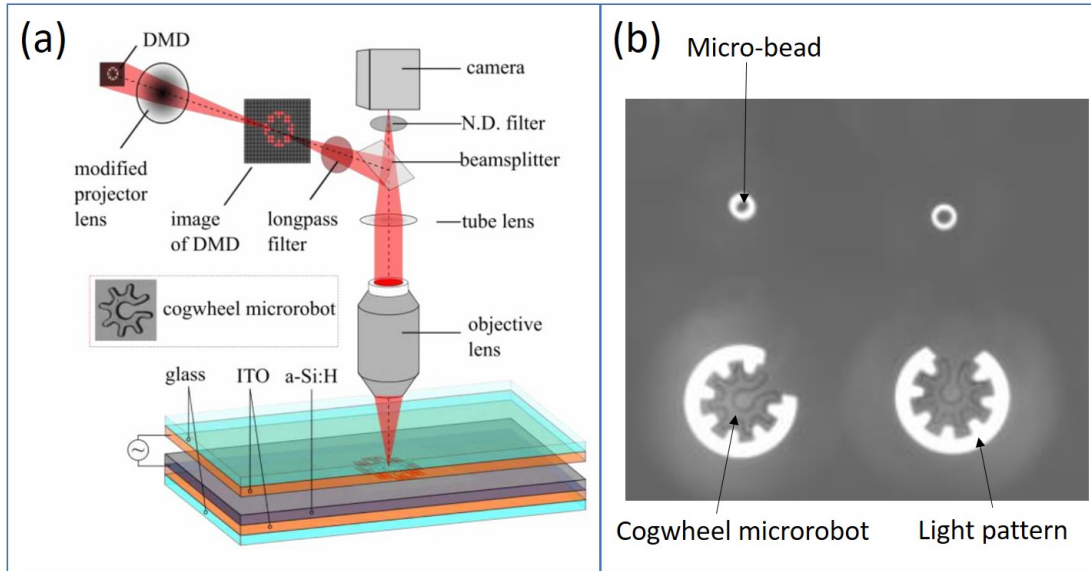


FIGURE I.8 – (a) Présentation d'un dispositif de manipulation par pince optoélectronique (OET)/diélectrophorèse induite par la lumière (ODEP). (b) Image représentant deux microrobots (cogwheel microrobot sur (a)) et deux microbilles avec le pattern de lumière permettant de les déplacer [Bendkowski 21]

Ce défi a récemment été rendu possible par l'utilisation de la diélectrophorèse induite par la lumière (ODEP) ou pince optoélectronique (OET). Cette méthode permet d'obtenir un dispositif avec des électrodes reconfigurables et donc de contrôler spatialement le gradient du champ électrique. Ces dispositifs sont composés de couches conductrices et transparentes ainsi que d'une couche photoconductrice. Lorsque le plan photoconducteur est éclairé, la partie illuminée se comporte comme une électrode permettant la création d'un champ électrique. Le gradient de ce champ électrique permet de générer une force diélectrophoretique. La lumière est généralement émise par une matrice de micromiroirs (DMD) permettant de générer une image et donc des formes géométriques arbitraires. [figure I.8\(a\)](#) présente un dispositif permettant de manipuler des objets par pinces optoélectroniques. Dans plusieurs applications, la forme illuminée est fixe, c'est le substrat sur lequel reposent le microrobot et les micro-objets qui sont déplacés. L'ODEP est actuellement une thématique de recherche très étudiée.

En utilisant ce principe, Zhang *et al.* ont développé des microrobots actionnés par ODEP permettant le transport de micro-objets [[Zhang 19](#)]. [figure I.8\(b\)](#) présente deux microrobots ("cogwheel microrobot") entourés par un halo de lumière. En déplaçant ce halo, il est possible de déplacer le microrobot. La forme proche de celle d'un engrenage permet de contrôler l'orientation du microrobot. La lumière est également utilisée pour stabiliser les microbilles à déplacer. Pour déplacer l'objet, le microrobot se déplace, avec son ouverture en direction de la bille, jusqu'à ce que la bille soit en son centre. Ensuite, il se déplace jusqu'à la position ciblée et recule pour relâcher la bille.

La possibilité d'avoir des électrodes reconfigurables peut permettre d'effectuer différentes tâches spécifiques, nécessitant des géométries d'électrodes spécifiques, avec un seul et même dispositif. Toutefois, l'utilisation d'une matrice de miroir est limitante. Les images qu'il est possible de générer sont soit précalculées, ce qui permet de changer d'images à plusieurs kilohertz, soit calculées en ligne, ce qui limite à quelques dizaines de hertz la mise à jour de l'image limitant la commande en temps réel à une période d'échantillonnage de quelques hertz.

I.3 MANIPULATION SANS CONTACT SANS EFFEC- TEUR

La manipulation sans contact et sans effecteur désigne un système où l'objet à positionner ou déplacer est sensible au phénomène physique utilisé. Dans ce cas-ci, l'utilisation d'un effecteur n'est plus nécessaire pour manipuler l'objet, il est courant de parler de "manipulation directe". Ce type d'actionnement permet de s'affranchir des problèmes de saisie/relâchement des objets et des contraintes de fabrications des microrobots. Cependant, dans le cas de positionnement d'objets biologiques, il est nécessaire de prendre en compte l'impact de ces phénomènes physiques sur la viabilité et les fonctions physiologiques des cellules.

I.3.1 Actionnement optique

En utilisant le principe de pince optique présentée section I.2.2, il est possible de manipuler directement des objets micrométriques en focalisant le laser sur la cellule [Xu 23]. Gerena *et al.* [Gerena 19a] utilisent huit pièges optiques pour manipuler en rotation un globule rouge. La figure I.9(a) présente la disposition des pièges optiques. La figure I.9(b) est composée d'images de la manipulation effectuée. Cet actionnement est déjà très développé et plusieurs systèmes commerciaux l'utilisant sont disponibles.

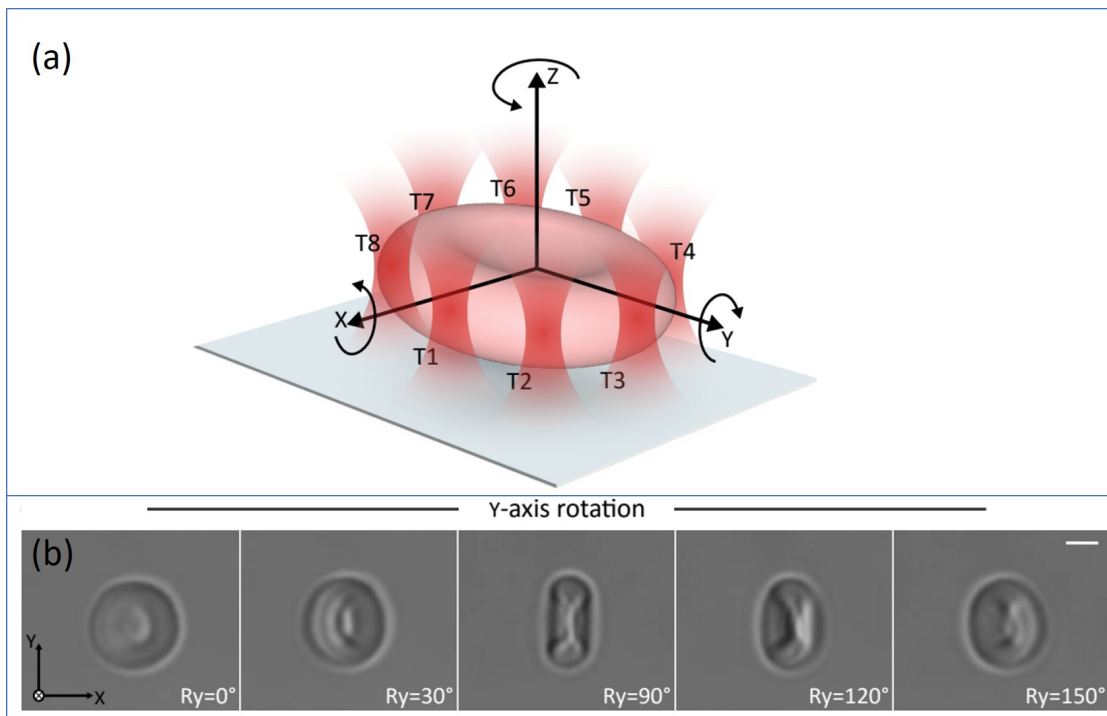


FIGURE I.9 – Manipulation directe d'un globule rouge. (a) représente la disposition des huit pièges optiques utilisés ainsi que les dimensions du globule rouge. (b) est composée d'images prises lors de la rotation suivant l'axe \vec{y} [Gerena 19a]

Cependant, l'utilisation de plus en plus fréquente de ce système d'actionnement a permis d'obtenir plus d'informations sur l'effet d'un laser directement focalisé sur une cellule. Xie *et al.* montrent que le laser génère des phénomènes locaux, comme l'échauffement, qui peuvent endommager les cellules. Après plusieurs expériences de déplacement par pince optique, il en ressort que 67 % des cellules manipulées ont été endommagées [Xie 18b]. Blázquez-Castro *et al.* ont également mené une étude recensant les impacts d'une manipulation directe de cellules par pince optique et proposé des axes de recherche pour diminuer leurs effets [Blázquez-Castro 19].

Il en résulte qu'une manipulation directe par pince optique de cellule garantissant la viabilité est une tâche complexe. Toutefois, les possibilités offertes par cette méthode d'actionnement comme la manipulation simultanée de plusieurs cellules et la mise en interaction de cellules font que la manipulation directe par pince optique est activement étudiée.

I.3.2 Actionnement par ondes acoustiques

Une particule micrométrique soumise à un champ d'onde acoustique stationnaire subit une force de pression acoustique, ce phénomène est appelé acoustophorèse. Cette force a pour effet de déplacer les particules vers les nœuds ou les ventres de l'onde acoustique stationnaire. La direction de la force générée est fonction de la différence de compressibilité et de densité entre l'objet manipulé et le milieu. L'amplitude de la force exercée est principalement liée au volume de l'objet [Lenshof 11].

La force de radiation acoustique peut être exprimée par [Nguyen 20] :

$$\mathbf{F}_{rad} = -\nabla[V_p(f_1 \frac{1}{2\rho c^2})\langle p^2 \rangle - f_2 \frac{3}{4}\rho\langle v^2 \rangle] \quad (\text{I.4})$$

avec ∇ l'opérateur gradient, V_p le volume de la particule, ρ la densité de milieu dans lequel l'objet est immergé, c la vitesse du son, p est le champ de pression acoustique, v est la vitesse de la perturbation,

$$f_1 = 1 - \frac{K_0}{K_p}, \quad f_2 = \frac{2(\rho_p - \rho)}{2\rho_p + \rho} \quad (\text{I.5})$$

où K_0 et K_p sont respectivement les modules d'élasticité du milieu et de l'objet et ρ_p est la densité de l'objet.

En utilisant ce phénomène physique, il est possible de déplacer des objets artificiels et biologiques. Deux types de dispositifs basés sur des matériaux piézoélectriques afin de créer des ondes acoustiques sont principalement utilisés et présentés figure I.10. Le premier, utilise des matériaux piézoélectriques pour générer des ondes de volume qui se propagent dans le milieu contenant les objets à manipuler et génère des ondes stationnaires acoustiques de volume (BSAW). La seconde méthode repose sur l'utilisation de résonateurs piézoélectriques interdigités (IDT) permettant la création d'ondes de surface stationnaires se propageant dans le substrat jusqu'au milieu (SSAW). La méthode avec des résonateurs piézoélectriques interdigités permet un déplacement plus précis des cellules en contrôlant la phase et la fréquence des signaux excitant les IDT.

L'actionnement par ondes acoustiques est majoritairement utilisé dans des dispositifs microfluidiques pour le tri de cellules possédant des caractéristiques physiques différentes [Lenshof 11, Mazalan 21, Rufo 22]. Pour ces applications, les signaux alternatifs excitant les IDT sont d'amplitude et de fréquence constante dans le temps. Ainsi, deux cellules identiques subiront la même force de pression

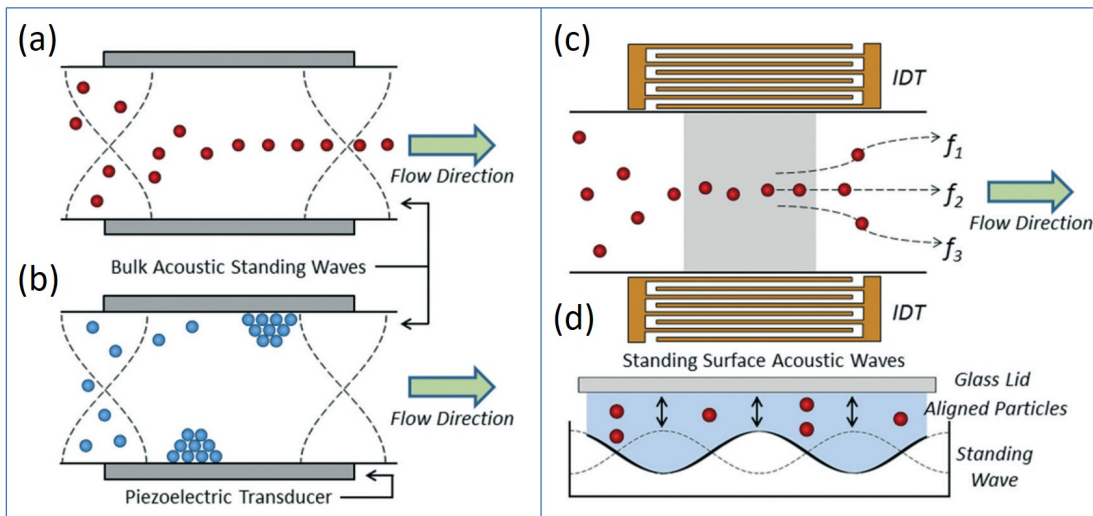


FIGURE I.10 – Principe de fonctionnement de l'acoustophorèse. (a) Influence des ondes acoustiques stationnaires de volume sur des cellules avec un facteur de contraste acoustique positif. Les cellules sont attirées vers les nœuds de pression. (b) Influence des ondes acoustiques stationnaires de volume sur des cellules avec un facteur de contraste acoustique négatif. Les cellules sont attirées vers les ventres de pression. (c) Déplacement de cellules dans un dispositif avec des résonateurs interdigités. La position des cellules en sortie de la zone grise est définie par la fréquence du signal excitant les électrodes. (d) Vue en coupe d'un dispositif utilisant des ondes acoustiques de surface avec quatre nœuds de pression. [Wyatt Shields IV 15]

acoustique. Cependant, des cellules avec un volume ou un module d'élasticité différents subiront des forces différentes. Ce principe permet ainsi de séparer des cellules avec des propriétés différentes de manière passive. Nguyen *et al.* ont également montré qu'il était possible d'utiliser l'acoustophorèse pour positionner et déplacer précisément une cellule [Nguyen 20].

Grâce à sa capacité à trier de manière passive des cellules, l'acoustophorèse est utilisée pour séparer de grandes populations de cellules dans des puces microfluidiques.

I.3.3 Actionnement par champs électriques

En utilisant le phénomène de diélectrophorèse présentée section 1.2.3, il est également possible de déplacer directement des objets biologiques. Les cellules peuvent être considérées comme des objets diélectriques électriquement neutres. Lorsqu'elles sont soumises à un gradient de champ électrique, les charges qui les composent vont s'organiser de manière à la polariser. Chaque pôle de la cellule sera ensuite le lieu d'une force de Coulomb. Le déséquilibre des forces de Coulomb sur chaque pôle induit par le gradient de champs électriques engendre le

déplacement de la cellule. Les champs électriques peuvent également être utilisés pour effectuer de l'électrorotation. Le champ électrique est généré en injectant un courant alternatif dans des électrodes. Ces électrodes peuvent être à géométrie complexe et fabriquée par des méthodes conventionnelles de microfabrication. De manière conventionnelle, ces électrodes sont obtenues par un dépôt de matériaux conducteur par couche mince sur un substrat.

Cette méthode permet d'effectuer du tri cellulaire dans des puces microfluidiques en fonction des propriétés physiques [Zhao 22, Kung 21] et/ou électriques des cellules [Kiryo 22, Sarno 21, Doh 05]. Cette sélectivité en fonction des propriétés électriques permet, par exemple, de séparer efficacement des cellules vivantes et mortes. Ces applications se basent sur un champ électrique invariant dans le temps.

Cette méthode d'actionnement permet également de déplacer des cellules indépendamment de leurs propriétés. En effet, en modulant le champ électrique dans le temps, il est possible de moduler la force de diélectrophorèse appliquée à une cellule. Cela permet de manipuler différemment des cellules avec des propriétés identiques. Le champ électrique étant généré de manière locale, il est possible de manipuler uniquement la cellule proche des électrodes et donc d'effectuer de la manipulation de cellule unique. Cela permet également, au sein d'un même dispositif, d'effectuer différentes tâches de positionnement [Lipp 23, Godino 19, Habaza 17]. Récemment, Lipp *et al.* ont développé un dispositif permettant la manipulation unitaire de lymphocyte T par diélectrophorèse afin de mettre en interaction ces cellules immunitaires avec des cellules tumorales.

L'actionnement par champs électriques se démarque par la facilité et le faible coût de fabrication des dispositifs. En effet, des générateurs de signaux sinusoïdaux à quelques kilohertz avec une amplitude d'une dizaine de volts suffisent pour réaliser le déplacement d'objets biologiques. De plus, la dépendance aux propriétés électriques des objets biologiques permet une sélectivité supplémentaire par rapport aux autres méthodes. L'utilisation de la diélectrophorèse pour du positionnement/déplacement de cellules complexe et automatisé est de ce fait un champ actif de recherche.

I.4 DÉTECTION ET CARACTÉRISATION DES CELLULES

Au-delà des méthodes d'actionnements, déplacer des cellules de manière contrôlée et automatisée nécessite également de pouvoir détecter et identifier les cellules. Les méthodes permettant cela doivent pouvoir fonctionner dans des environnements clos, comme les puces microfluidiques, couramment utilisées pour manipuler des objets micrométriques. Les performances des systèmes de détection/caractéri-

sation sont étudiées en fonction de leur contrainte, précision et rapidité de détection. Il existe différents type de capteurs largement utilisés permettant d'obtenir ces informations détaillés dans les paragraphes suivants.

Les tubes photomultiplicateurs (PMT) sont des instruments permettant de mesurer une puissance lumineuse à partir d'une tension qui est l'image de cette puissance lumineuse. Ils peuvent être utilisé pour détecter des cellules marquées par des fluorophores spécifiques, en utilisant un laser dont la longueur d'onde excite les fluorophores souhaités. En combinant le PMT à un microscope et un filtre isolant cette longueur d'onde, la tension de sortie du PMT devient l'image de la présence d'une cellule. Ce type de capteur permet d'effectuer une identification de population de cellules en fonction de leur intensité de fluorescence [Holmes 06, Kim 11]. Les PMT sont utilisés dans des dispositifs de cytométrie traditionnelle et en canal microfluidique. Cet instrument se caractérise par un temps de réponse de l'ordre de la nanoseconde. Cette caractéristique le rend intéressant pour du positionnement de cellules à très haute vitesse, mais nécessite un marquage préalable des cellules qui peut être prohibitif pour certaines applications.

L'imagerie optique est la technique la plus conventionnelle et la plus utilisée. Elle consiste à utiliser une caméra placée sur un microscope comme capteur. Les images de la caméra sont analysées pour extraire les informations pertinentes liées à l'application visée. Avec une résolution suffisante et l'utilisation de caméras couleurs, il est possible de connaître la position d'une cellule dans une puce microfluidique, la taille de la cellule et sa fluorescence. Cet instrument est cependant limité par son champ de vision, sa fréquence d'acquisition et le temps nécessaire à l'extraction de l'information. En effet, plus l'objet à observer est petit, plus il sera nécessaire d'utiliser un grossissement important et donc de réduire le champ de vision. L'observation d'objets avec des vitesses ou des dynamiques élevées est également problématique. Un compromis entre la fréquence d'acquisition et le temps d'exposition est nécessaire pour obtenir une image avec suffisamment de lumière et de netteté. Enfin, contrairement au tube photomultiplicateur où l'information à traiter est une tension, dans le cas d'une image, il est nécessaire d'analyser et d'effectuer des opérations sur des milliers de pixels. La taille de l'image et le traitement d'image effectué doivent être adaptés pour permettre une extraction des informations en temps réel et leur utilisation dans des systèmes en boucle fermée.

La spectroscopie par impédance est une méthode consistant à analyser les variations d'impédances d'un milieu et d'en extraire des informations. Dans le cas des puces microfluidiques, ceci est réalisé en utilisant au minimum deux électrodes. Une tension sinusoïdale est appliquée aux bornes des électrodes et le courant en résultant est mesuré. Cette mesure de courant permet de déduire l'impédance du milieu. Lors du passage d'un objet micrométrique entre les deux électrodes, celui-ci modifie les propriétés du milieu et engendre une variation d'impédance [Honrado 21]. De cette manière, il est possible de détecter le passage d'une cellule entre deux électrodes. Ce phénomène est illustré [figure I.11](#). La dépendance fréquentielle de l'impédance permet d'obtenir des informations différentes en fonction

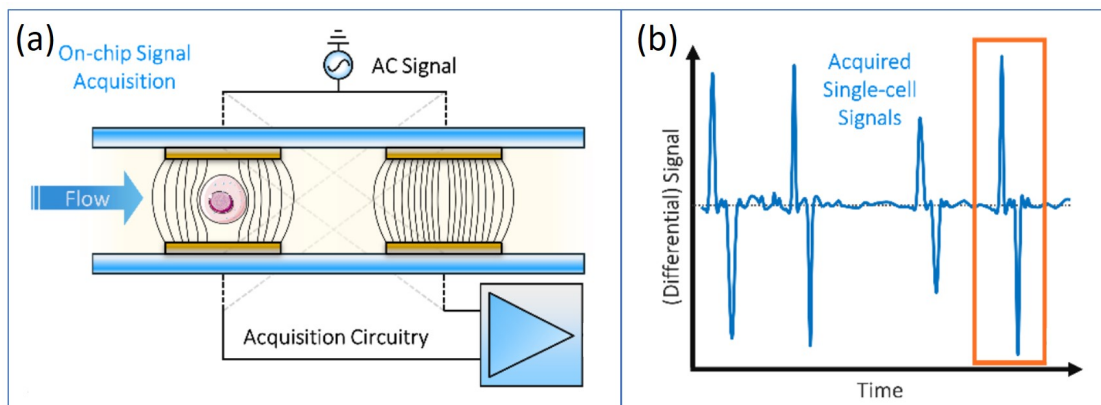


FIGURE I.11 – Présentation d'un système de détection de cellules par impédance. (a) Un signal alternatif est appliqué sur les électrodes supérieures. Les électrodes inférieures sont utilisées pour mesurer le courant. (b) Représente la différence de variation de courant mesurée par les deux électrodes inférieures en fonction du temps. Lors du passage d'une cellule, des pics similaires à celui encadré en orange sont observables [Honrado 21].

de la fréquence du signal d'excitation. Un signal à haute fréquence permettra une analyse des propriétés internes de la cellule alors qu'un signal basse fréquence permettra une analyse des dimensions extérieures de la cellule. De plus, en utilisant des configurations d'électrodes et des schémas d'excitation complexes, il est possible d'extraire des informations concernant la position de la cellule, suivant un ou deux axes, dans la zone de mesure délimitée par les électrodes [Reale 19, Daguerre 21].

Cette technologie de capteur a pour avantage un temps de réponse faible. La zone d'analyse est réduite, mais ce capteur offre la possibilité de placer plusieurs zones de mesures sur un seul dispositif. De plus, il permet de s'affranchir des systèmes de microscopie. L'utilisation de cette méthode dans des puces microfluidiques pour des systèmes en boucle fermée est une thématique de recherche active [Li 21].

I.5 BILAN

Le besoin d'analyser les objets biologiques de manière individuelle et en grand nombre, de manière rapide, requiert des systèmes de positionnement/déplacement automatisés pouvant agir à l'échelle micrométrique. Ce chapitre recense les méthodes les plus classiques pour effectuer cette tâche. Trois grandes catégories de méthode de positionnement/déplacement se démarquent :

- la manipulation avec contact, où l'effecteur est physiquement relié aux actionneurs
- la manipulation sans contact, avec effecteur/microrobot. L'effecteur en contact avec l'objet à manipuler est actionné par champ de force à distances.

- la manipulation sans contact et sans intermédiaire (ou “directe”). L’objet à manipuler est sensible à un champ de force à distance et peut être déplacé directement.

La manipulation sans contact direct est intéressante, elle permet de s’affranchir des contraintes liées à la saisie et au relâchement des objets biologiques. De plus, ce type de manipulation peut être utilisé dans des puces microfluidiques permettant un flux continu d’objets à manipuler, et donc, d’augmenter le débit de cellules positionnées/manipulées.

Parmi les systèmes d’actionnement permettant une manipulation sans contact sans actionneur, trois sont activement étudiés. La manipulation par pince optique, la manipulation par acoustophorèse et celle par diélectrophorèse. La diélectrophorèse se démarque par la facilité de fabrication et le faible coût des dispositifs. En effet, des générateurs de signaux sinusoïdaux à quelques kilohertz et avec une amplitude d’une dizaine de volts suffisent pour réaliser le déplacement d’objets biologiques. De plus, la dépendance aux propriétés électriques des objets biologiques permet une sélectivité supplémentaire par rapport aux autres méthodes. Enfin, le champ électrique étant un phénomène local, il permet la réalisation de dispositifs complexes permettant de réaliser plusieurs tâches sur une même puce microfluidique.

Le choix a donc été fait dans cette thèse de se concentrer sur l’utilisation de la diélectrophorèse pour le positionnement/déplacement d’objets biologiques. Le prochain chapitre détaille le phénomène de diélectrophorèse et constituera un état de l’art détaillé sur la manipulation par champs électriques.

Chapitre II

Actionnement par diélectrophorèse

II.1	Principe de la diélectrophorèse (DEP)	26
II.1.1	Expression de la force de DEP	26
II.1.2	Modélisation électrique des objets micrométriques	28
II.2	Applications actuelles de la diélectrophorèse dans des puces microfluidiques	30
II.2.1	Puces microfluidiques	31
II.2.2	Systèmes d'actionnement en boucle ouverte par diélectrophorèse	33
II.2.3	Systèmes d'actionnement en boucle fermée par diélectrophorèse	34
II.3	Calcul du champ électrique	37
II.3.1	Différentes méthodes de calcul du champ électrique	37
II.3.2	Calcul du champ électrique par série de Fourier	39
II.3.2.1	Formulation générale	39
II.3.2.2	Formulation pour deux dimensions avec des électrodes parallèles	41
II.3.2.3	Évaluation du modèle	45
II.3.3	Bilan	46
II.4	Conclusion et objectif de la thèse	46

Le déplacement contrôlé d'objets biologiques peut être réalisé par l'intermédiaire de différents phénomènes physiques. Les méthodes les plus largement utilisées ont été détaillées dans le chapitre I. Parmi elles, les champs électriques sont intéressants, car ils permettent de manipuler sans contact des objets biologiques grâce au phénomène de diélectrophorèse. Ce chapitre a pour but de détailler les principes de la diélectrophorèse et les travaux récents dans le domaine.

Une première section est consacrée à la description de ce phénomène physique et des propriétés électriques des cellules biologiques. Ensuite, une section est consacrée aux différentes applications actuelles de la diélectrophorèse. Puis, les méthodes de calcul du champ électrique sont présentées avec une attention particulière à la modélisation du champ électrique par série de Fourier. Ce modèle est utilisé au cours de cette thèse pour ses propriétés intéressantes telles que le découplage des paramètres du système et de la variable de commande ainsi que le faible temps de calcul. Enfin, une dernière section conclura ce chapitre et permettra de mettre en avant les objectifs et contributions de cette thèse.

Le chapitre suivant utilise le modèle de calcul du champ électrique par série de Fourier pour établir un modèle direct. Celui-ci permet de calculer le déplacement d'une particule micrométrique soumise à la force de diélectrophorèse. Ce modèle direct est ensuite inversé pour permettre le contrôle en position de cellules.

II.1 PRINCIPE DE LA DIÉLECTROPHORÈSE (DEP)

Toute particule sphérique et diélectrique exposée à un champ électrique est sujette à une organisation des charges qui la compose. Dans le cas d'une particule sphérique, celle-ci se comporte alors comme un dipôle. Lorsque le champ électrique est homogène dans l'espace, les charges présentes sur chaque pôle engendrent une force de Coulomb identique, mais de direction opposée. La résultante des forces sur la particule est donc nulle. Dans le cas d'un champ électrique non uniforme à l'échelle de la particule, les forces de Coulomb sur chacun des pôles sont différentes. La résultante des forces est donc non nulle et induit un déplacement de l'objet, voire [figure II.1](#). Ce phénomène physique mis en évidence la première fois par Pohl [[Pohl 51](#)] est appelé diélectrophorèse.

II.1.1 Expression de la force de DEP

Considérons une particule diélectrique dans un champ électrique non uniforme sans gradient de phase, la force de diélectrophorèse appliquée à cette particule est [[Hughes 03](#)] :

$$\mathbf{F}_{DEP} = 4\pi\epsilon_0\epsilon_m a^3 \text{Re}[K(\omega)] \nabla E_{rms}^2 \quad (\text{II.1})$$

avec :

- ϵ_0 la permittivité du vide

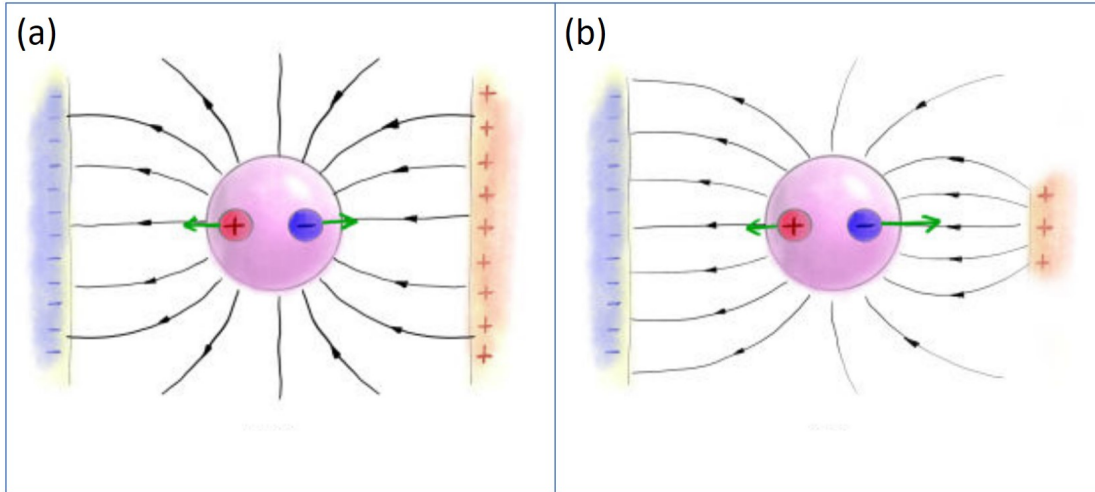


FIGURE II.1 – Illustration du principe de fonctionnement de la diélectrophorèse (DEP). Une particule sphérique placée entre deux électrodes avec une différence de potentiel à leur borne. Le champ électrique (ligne noire) généré par ces deux électrodes induit la polarisation de la particule pouvant maintenant être approximée par un dipôle. La force de Coulomb exercée sur chaque pôle est représentée par les flèches vertes. (a) le champ électrique est homogène, ce qui induit une force de Coulomb identique sur chaque pôle. (b) le champ électrique n'est pas homogène, ce qui induit un déséquilibre des forces de Coulomb.

[Michálek 20]

- ϵ_m la permittivité du milieu dans lequel est plongée la particule
- a le rayon de la particule
- ∇E_{rms}^2 le gradient du carré de la valeur efficace du champ électrique.
- $Re[K(\omega)]$ la partie réelle du facteur de Clausius-Mossotti aussi noté f_{CM}

Le facteur de Clausius-Mossotti $K(\omega)$ est un rapport entre la permittivité complexe du milieu ϵ_m^* et de la particule ϵ_p^* avec :

$$\epsilon^* = \epsilon - j(\sigma/\omega) \quad (\text{II.2})$$

où σ est la conductivité, ϵ est la permittivité et ω la pulsation du champ électrique en radian par seconde. Ce facteur représente la différence de polarisabilité entre le milieu et la particule et est défini par :

$$K(\omega) = \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*} \quad (\text{II.3})$$

$f_{CM} = Re[K(\omega)]$ peut prendre des valeurs comprises entre -0.5 et 1 . L'équation (II.1) montre que la force de diélectrophorèse est proportionnelle au facteur de Clausius-Mossotti, ainsi, ce facteur influence le comportement d'une particule soumise à la diélectrophorèse (figure II.2).

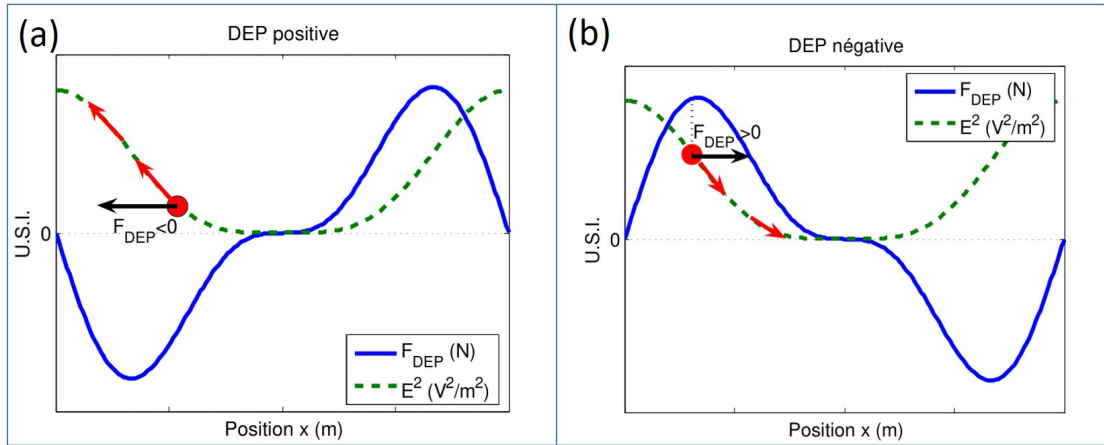


FIGURE II.2 – Illustration de l'évolution de la force de diélectrophorèse F_{DEP} en fonction du carré du champ E^2 et du signe de f_{CM} . (a) Représente le cas d'une particule soumise à la diélectrophorèse positive $f_{CM} > 0$. (b) Représente le cas d'une particule soumise à la diélectrophorèse négative $f_{CM} < 0$ [Kharboutly 11].

Dans le cas où $f_{CM} > 0$, la force de diélectrophorèse dirigera la particule vers le maximum du carré du champ E^2 tendant à attirer les particules vers les électrodes, source du champ électrique. Il est commun, dans ce cas, de parler de diélectrophorèse positive (pDEP). Dans le cas où $f_{CM} < 0$, la force de diélectrophorèse dirigera la particule vers le minimum du carré du champ E^2 tendant à repousser les particules des électrodes. On parle alors de diélectrophorèse négative (nDEP).

La prochaine section est consacrée aux modèles utilisés pour représenter les objets micrométriques artificiels et biologiques manipulés par diélectrophorèse.

II.1.2 Modélisation électrique des objets micrométriques

Le calcul de la force de diélectrophorèse dépend du facteur de Clausius-Mossotti, directement lié aux propriétés électriques de l'objet à manipuler. Cette section se concentre donc sur les modèles permettant d'obtenir une représentation électrique des objets manipulés, notamment des cellules. Elle définit ensuite le phénomène d'électroporation pouvant affecter des cellules soumises à un champ électrique.

Les différents modèles considèrent une cellule comme un objet sphérique composé d'une partie interne entourée par une succession de couches extérieures uniformes. La partie interne est considérée comme résistive. Les couches externes alternent successivement entre couche capacitive et résistive. Le modèle le plus simple est appelé "single shell", il considère qu'une cellule est composée d'une partie interne résistive, représentant le cytoplasme, et d'une membrane capacitive [Nasir 20]. Le schéma électrique équivalent, en utilisant le modèle "single shell", d'une cellule plongée dans une solution est donnée figure II.3(b). Le modèle "two

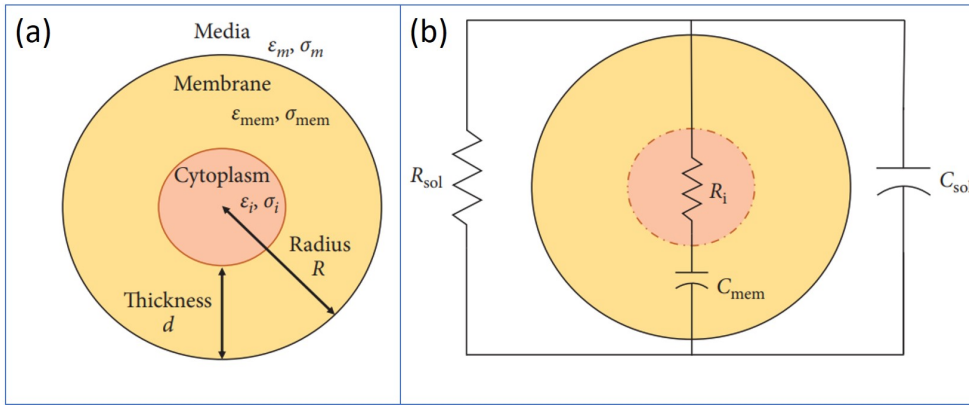


FIGURE II.3 – Représentation d’une cellule en utilisant le modèle “single shell”. (a) Représente les différentes strates composant une cellule avec chacune leurs caractéristiques électriques. ϵ est la permittivité et σ la conductivité. (b) Représente le schéma électrique équivalent suivant ce modèle [Nasir 20].

shell” considère une cellule composée de deux couches supplémentaires, une résistive et une seconde capacitive [Raicu 96]. Cette méthode de modélisation peut être étendue à n couches superposées [Irimajiri 79] et permet la représentation électrique de la majorité des cellules approximativement sphériques.

Dans le cas simple du modèle “single shell”, il est nécessaire de connaître la permittivité complexe de chacune des couches, cytoplasme et membrane, pour en déduire une permittivité complexe globale et calculer f_{CM} . Ces paramètres peuvent être obtenus expérimentalement par électrorotation [Yang 99]. Toutefois, différentes équipes de recherches ont déjà effectué la caractérisation d’un grand nombre de populations de cellules.

Ces informations ont été regroupées dans une base de donnée accessible via le logiciel MyDep [Cottet 19]. Ce logiciel permet également, en renseignant les propriétés électriques du milieu dans lequel sont plongées les cellules, le calcul de f_{CM} en fonction de la fréquence. La figure II.4 représente l’évolution de la valeur de f_{CM} en fonction de la fréquence en considérant un lymphocyte T, modélisé par le modèle “single shell”, dans un milieu de conductivité $\sigma_m = 0.2 \text{ S m}^{-1}$ et de permittivité $\epsilon_m = 78$. Cette courbe montre qu’un changement de signe de f_{CM} se produit vers 1 MHz. Cette fréquence est appelée “crossover frequency” et délimite les plages de fréquences où la cellule est affectée par de la diélectrophorèse négative ou de la diélectrophorèse positive.

Le champ électrique est également couramment utilisé pour réaliser de l’électroporation. Ce phénomène désigne la perméabilisation de la membrane d’une cellule grâce au champ électrique. Il est par exemple utilisé pour introduire des molécules ou des marqueurs dans des cellules. Ce phénomène se produit lorsque la différence de potentiel aux bornes de la membrane dépasse un certain seuil [Mittal 07, Lipp 22]. Ce potentiel V_{tm} est fonction de la norme du champ élec-

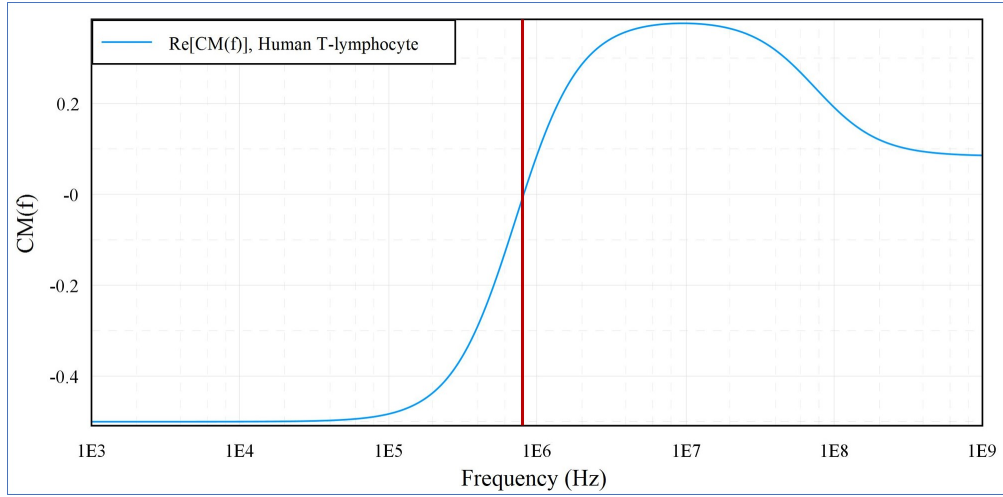


FIGURE II.4 – Évolution de la partie réelle du facteur de Clausius-Mossotti en considérant un lymphocyte T, modélisé par le modèle “single shell”, dans un milieu de conductivité $\sigma_m = 0.2 \text{ S m}^{-1}$ et de permittivité $\epsilon_m = 78$. Cette courbe est obtenue en utilisant la base de données du logiciel MyDep [Cottet 19]. La “crossover frequency” est représentée par le trait vertical rouge et représente la limite entre les régions de diélectrophorèse négative et positive

trique et est défini par :

$$V_{tm} = \frac{1.5Ea}{\sqrt{1 + (\omega\tau)^2}}, \quad \tau = \frac{RC_{mem}(\sigma_{cyto} + 1/2\sigma_m)}{1 + R\sigma_{mem}(\sigma_{cyto} + 1/2\sigma_m)} \quad (\text{II.4})$$

avec E la norme du champ électrique, a le rayon de la cellule, ω la fréquence du signal alternatif à l’origine du champ, C_{mem} la capacité de la membrane, σ_{cyto} la conductivité du cytoplasme de la cellule, σ_m la conductivité du milieu, et σ_{mem} la conductivité de la membrane.

Ce changement de perméabilité modifie les propriétés électriques de la cellule et peut perturber l’actionnement par diélectrophorèse. Il est donc nécessaire de considérer ce phénomène lors de la manipulation de cellules biologiques par champ électrique.

II.2 APPLICATIONS ACTUELLES DE LA DIÉLECTROPHORÈSE DANS DES PUCES MICROFLUIDIQUES

La diélectrophorèse permet la manipulation d’un grand nombre d’objets polarisables, sans contact, à travers l’établissement d’un champ électrique non uniforme à l’échelle de l’objet à manipuler. La majorité des applications utilisant la diélectrophorèse se déroule dans des puces microfluidiques. La suite de cette section

définit ce que sont les puces microfluidiques et décrit les processus courants de fabrication. Puis les deux principales catégories de systèmes de manipulation par diélectrophorèse sont abordées. Les systèmes en boucle ouverte et les systèmes en boucle fermée ainsi que leurs applications.

II.2.1 Puces microfluidiques

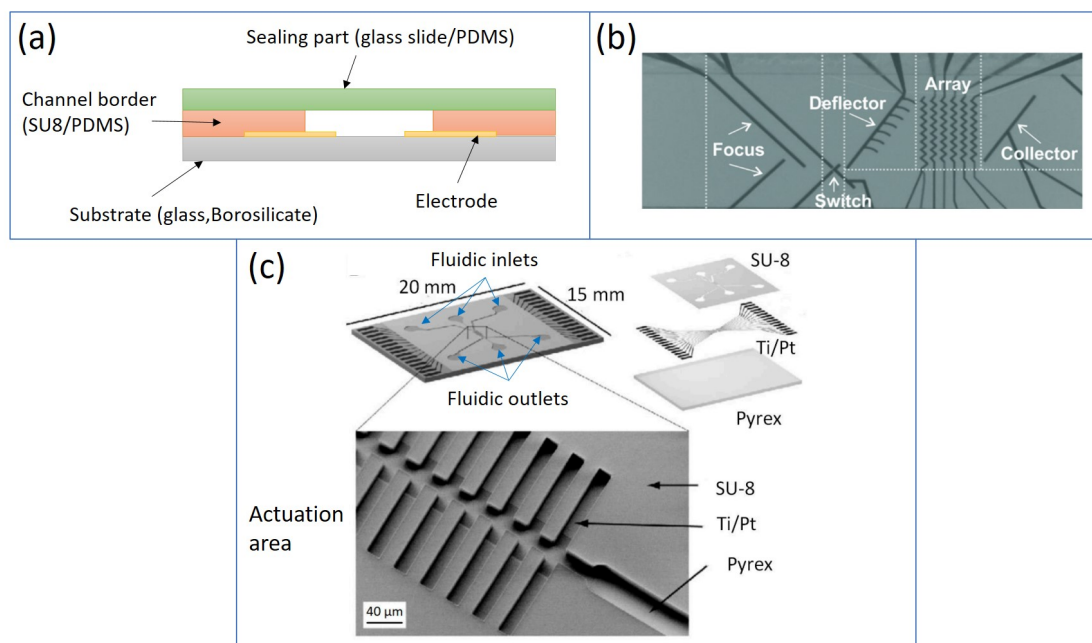


FIGURE II.5 – Exemple de puces microfluidiques pour le déplacement de particules par diélectrophorèse. (a) Différents composants d'une puce microfluidique simple permettant le positionnement par diélectrophorèse. (b) Image de la puce microfluidique développée par Godino *et al.* [Godino 19] permettant d'effectuer différentes actions au sein d'une même puce en fonction de la géométrie des électrodes. (c) Exemple de puce microfluidique pour le centrage de particule. Cette image est composée d'une vue globale spécifiant les dimensions extérieures de la puce, d'une vue éclatée détaillant les différentes couches composant la puce ainsi qu'une vue détaillée de la partie fonctionnelle [Demierre 08].

Les puces microfluidiques sont des dispositifs centimétriques de forme rectangulaire, similaire à une puce électronique. Elles sont composées de canaux de dimensions micrométriques et d'entrées/sorties permettant l'écoulement de fluides contenant des cellules ou des objets artificiels. Elles peuvent également contenir des chambres d'analyses ou de manipulation dans lesquelles les objets micrométriques sont déplacés par le fluide et d'autres champs de forces. [Gupta 16, Giannitsis 11, Yu 13, Mark 10]. La figure II.5 représente les différents composants d'une puce microfluidique, différentes géométries d'électrodes ainsi qu'une puce de manière plus

globale. Ces dispositifs permettent de faire circuler un grand nombre de cellules par seconde et sont majoritairement utilisés pour effectuer du tri statistique et plus récemment du tri de cellule unitaire.

Les puces microfluidiques pour la manipulation cellulaire par diélectrophorèse sont principalement composées :

- d'un substrat constituant le "sol" de la puce ;
- d'électrodes permettant l'établissement du champ électrique. Les électrodes sont généralement en or ou platine ;
- de canaux et chambres d'analyses ou de manipulations souvent réalisées en résine ou en PDMS (polydiméthylsiloxane) ;
- d'un capot afin de sceller le canal et servant de connexion fluide pour les entrées et sorties.

Tous ces éléments sont fabriqués à l'aide de processus de microfabrication classique. Ces processus se composent d'étapes de dépôt et de gravure effectuées en salle blanche. Les processus couramment utilisés dans la fabrication de puces microfluidiques sont décrits succinctement ci-dessous :

- **le spin-coating** consiste à déposer une résine non polymérisée sur un substrat, puis à mettre en rotation le substrat suivant un profil de vitesse contrôlé pour obtenir une répartition homogène de la résine ainsi qu'une épaisseur contrôlée. Cette méthode permet d'obtenir des épaisseurs de l'ordre de la dizaine de nanomètres jusqu'à plusieurs micromètres [Sahu 09].
- **la photolithographie** permet de transférer une structure présente sur un photo-masque à la résine. En fonction du type de résine, positive ou négative, après passage dans un révélateur, la résine n'est présente qu'aux endroits exposés à la lumière ou aux endroits non exposés. Cette méthode permet d'obtenir des structures avec une précision inférieure au micromètre [del Barrio 19].
- **le dépôt métallique de couches minces**. Les deux types de déposition les plus répandus sont, la CVD (chimical vapor deposition) et la PVD (physical vapor deposition). Ces deux méthodes permettent de déposer différents types de métaux et d'oxydes en phase gazeuse et permettent de déposer des couches de quelques nanomètres d'épaisseur [Devaray 22].
- **la gravure** permet d'enlever de la matière à certains endroits non protégés ou, d'enlever des matériaux réagissant avec le gaz ou la substance chimique utilisée. Elle peut être chimique ou physique [Green 14].
- **le moulage** est une méthode couramment utilisée pour réaliser de canaux microfluidiques. Elle permet, après réalisation d'une empreinte, de réaliser des canaux en PDMS (polydiméthylsiloxane) avec des dimensions de quelques micromètres et des formes complexes en trois dimensions [Chan 15].

Les deux prochaines sous-sections définissent deux catégories de systèmes utilisant la diélectrophorèse comme moyen d'actionnement ainsi que leurs applications respectives.

II.2.2 Systèmes d'actionnement en boucle ouverte par diélectrophorèse

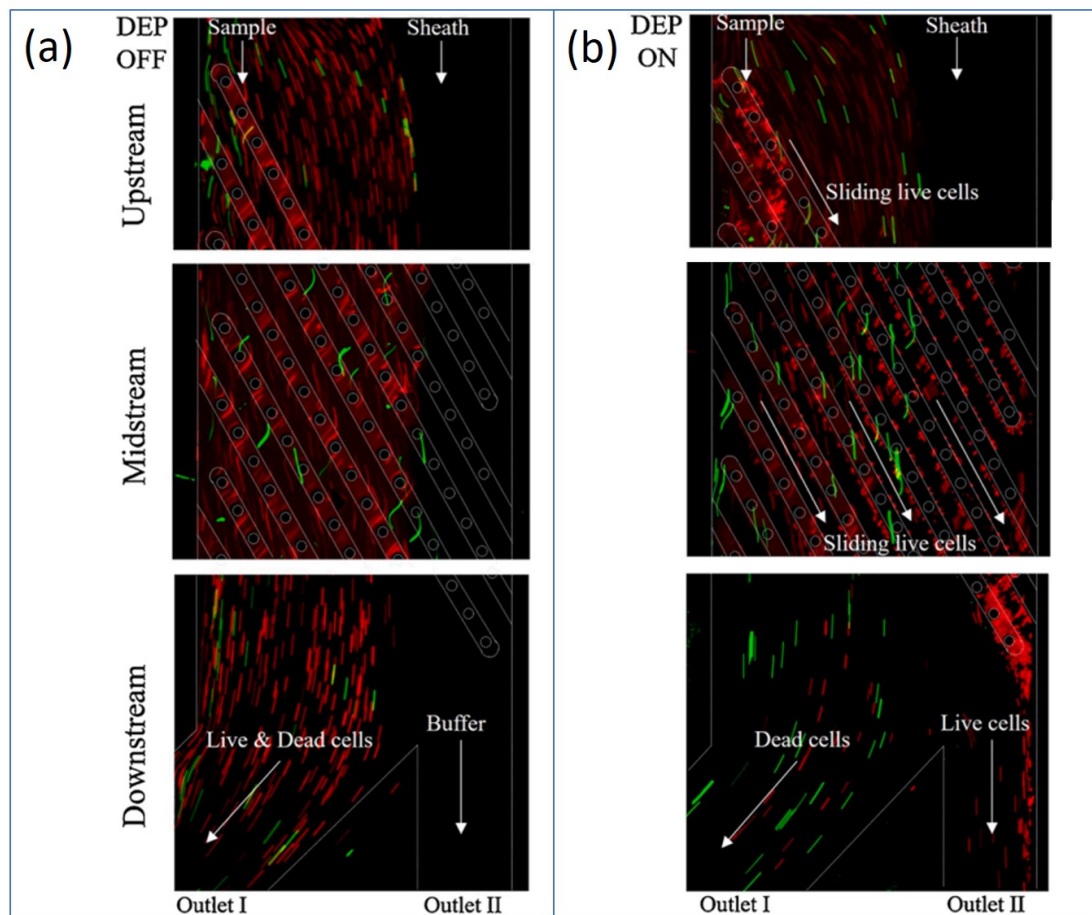


FIGURE II.6 – Résultats expérimentaux obtenus par Nie *et al.*. (a) Représente le passage de cellules mortes (en vert) et vivantes (en rouge) dans une puce microfluidique lorsque la diélectrophorèse est désactivée. Toutes les cellules sont dirigées vers la sortie 1 (Outlet I). (b) représente le même scénario avec la diélectrophorèse active. Un champ électrique invariant dans le temps est créé. Les cellules mortes se dirigent vers la sortie 1 (Outlet I) et les cellules vivantes vers la sortie 2 (Outlet II). Cette séparation est possible par la différence de propriétés électriques entre les cellules vivantes et mortes, qui se traduit par un f_{CM} différent et donc un déplacement différent induit par la force de DEP [Nie 21].

Pour rappel, la force de diélectrophorèse, définie par l'équation II.1, dépend des propriétés de l'objet micrométrique déplacé, du milieu dans lequel il est immergé et du gradient du carré de la norme du champ électrique. Les systèmes d'actionnement par diélectrophorèse en boucle ouverte utilisent un champ électrique invariant dans le temps. Le déplacement effectué par une particule est donc uniquement fonction de ses propriétés physiques, électriques et de la géométrie des électrodes. Ces systèmes composent la grande majorité des dispositifs d'ac-

tionnement par champ électrique. Ce type de dispositif est souvent utilisé en flux, cela signifie qu'un écoulement fluide traverse la puce microfluidique transportant avec lui des objets micrométriques [Wu 22, Wang 22, Lai 22]. Une application répandue est la séparation de différentes populations de cellules [Lu 23, Tian 23]. Les cellules sont entraînées dans une direction par l'écoulement fluide et déviées dans une direction perpendiculaire par diélectrophorèse permettant de les orienter vers une sortie spécifique [Varmazyari 22, Oshiro 22].

Les travaux de Nie *et al.* [Nie 21], montrent par exemple l'utilité de la diélectrophorèse pour la séparation de cellules en fonction de leur viabilité. La différence de propriétés électriques entre les cellules mortes et vivantes se traduit par une valeur différente de la partie réelle du facteur de Clausius-Mossotti pour une même fréquence. Les deux populations subissent donc une force de diélectrophorèse induisant un déplacement différent. La figure II.6 montre le résultat de ce dispositif de tri.

D'autres travaux [Hajari 20, Emmerich 22, Derakhshan 23] utilisent la diélectrophorèse pour la séparation de différentes populations de cellules en fonction de leur taille. La force de diélectrophorèse étant proportionnelle au cube du rayon de la cellule, celles-ci seront réparties en fonction de leur rayon en sortie de la zone d'actionnement.

Les systèmes d'actionnement en boucle ouverte par diélectrophorèse ont pour avantage d'être très efficaces et simples à utiliser. Le champ électrique étant constant dans le temps, il n'y a pas besoin de commander le système, ce qui permet de les utiliser avec des débits de cellules élevés. Cependant, ces systèmes n'offrent pas la possibilité de faire de la manipulation de particules/cellules individuelles.

II.2.3 Systèmes d'actionnement en boucle fermée par diélectrophorèse

Par opposition aux systèmes en boucle ouverte, les systèmes en boucle fermée modifient le champ électrique en temps réel. Ces systèmes permettent d'appliquer des forces différentes à des cellules avec des propriétés physiques et électriques très proches ou identiques. Ils sont également plus complexes. Un capteur doit extraire des informations sur l'état actuel du système (position de la cellule, identification de la cellule ...). Ces informations sont ensuite utilisées pour calculer le déplacement à effectuer et donc, le champ électrique à générer. Enfin, il faut déterminer le vecteur \mathbf{U} représentant le potentiel à appliquer sur chaque électrode pour générer ce champ électrique. Le schéma figure II.7(a) représente ce processus.

Les systèmes d'actionnement en boucle fermée par diélectrophorèse peuvent être séparés en deux catégories en fonction de la manière dont sont calculées les configurations d'alimentations \mathbf{U} . La première est composée de systèmes où les configurations d'alimentations \mathbf{U} sont définies à l'avance. Un critère permettant de discriminer les particules est défini et permet de choisir la configuration d'ali-

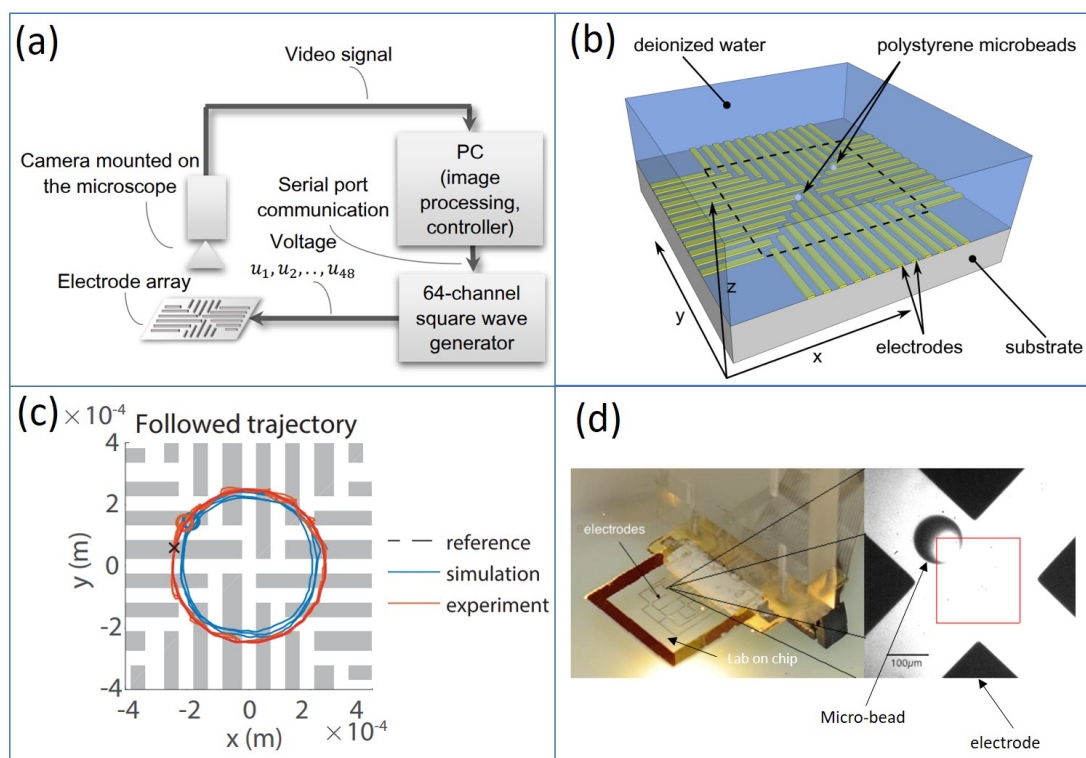


FIGURE II.7 – (a) Illustre le fonctionnement d'un système en boucle fermée par diélectrophorèse. La zone d'actionnement est observée par une caméra montée sur un microscope. Le signal vidéo est communiqué à un ordinateur. Un programme permet d'extraire les informations des images et calcul le potentiel à appliquer sur chaque électrode du système. Un générateur est ensuite utilisé pour appliquer ces tensions. Il en résulte un déplacement de l'objet observé par la caméra et ainsi de suite [Zemánek 18]. (b) Est une représentation du système d'actionnement en boucle fermée par diélectrophorèse développé par Zemanek *et al.* [Zemánek 18]. (c) Est le résultat expérimental d'une expérience de suivi de trajectoire circulaire pour une microbille de 50 μm de diamètre. (d) Représente le système développé par Kharboutly *et al.*. Le carré rouge délimite la zone d'actionnement, zone dans laquelle il est possible de contrôler le déplacement de la microbille [Kharboutly 13]

mentation \mathbf{U} à utiliser pour chaque particule [Lipp 23, Godino 19]. Dans ces dispositifs, la détection permet de déclencher l'application d'une suite de \mathbf{U} assimilable à un contrôle en boucle ouverte.

Le dispositif développé par Thomas *et al.* [Thomas 19] est un exemple. Il permet de trier des cellules marquées par fluorescence. Une caméra détecte les cellules qui arrivent dans le canal. Un algorithme de traitement d'image permet l'identification des cellules puis applique un potentiel permettant d'envoyer la cellule vers la sortie souhaitée. Dans ce dispositif, seules deux configurations de potentiel sont possibles, une pour chaque sortie.

Le DepArray est un autre exemple. Ce dispositif permet d'isoler une population de cellules dans un échantillon [Di Trapani 18]. Il se base sur une matrice d'électrodes au fond d'une piscine micrométrique (il n'y a donc pas d'écoulement fluide dans ce dispositif). Le potentiel appliqué sur chaque électrode peut être contrôlé indépendamment. De par leur géométrie, les électrodes agissent comme des cages diélectrophorétiques et piègent les cellules. Il est ensuite possible, en changeant le potentiel des électrodes de proche en proche, de déplacer une cellule d'électrode en électrode. Une caméra est utilisée pour discriminer les cellules qui ont préalablement été marquées par fluorescence, puis un algorithme calcule la suite de potentiel à appliquer pour déplacer les cellules vers une des sorties.

La seconde catégorie est composée de systèmes où le potentiel à appliquer sur les électrodes est calculé en ligne (pendant l'actionnement). Ces systèmes permettent de calculer la configuration d'alimentation la plus adaptée à la particule et au déplacement souhaité. Ils rendent possible la réalisation d'un contrôle en boucle fermée permettant un contrôle précis de la position et la réalisation de trajectoires complexes avec un nombre réduit d'électrodes [Gurtner 22, Michálek 19, Zemánek 15].

Kharboutly *et al.* [Kharboutly 13] utilisent quatre électrodes pour déplacer en deux dimensions une microbille de $80\ \mu\text{m}$ de diamètre dans une piscine micrométrique par contrôle en boucle fermée. L'état courant du système est déterminé par traitement d'image. En fonction du déplacement souhaité, le potentiel à appliquer sur chaque électrode est calculé par une méthode semi-analytique. En répétant ce processus sur plusieurs itérations, ils réalisent des suivis de trajectoires 2D arbitraires dans l'espace contenu par ces quatre électrodes. Le dispositif expérimental ainsi qu'une image prise au cours d'une expérience sont présentés figure II.7(d). De par l'espace de travail réduit et le peu d'électrodes utilisées, Kharboutly *et al.* ont réalisé une boucle de contrôle avec une fréquence d'échantillonnage de 1 kHz.

Des travaux plus récents de Zemanek *et al.* [Zemánek 18], utilisent également un système fonctionnant en boucle fermée pour contrôler la position de microbilles dans une piscine. La particularité est qu'ils contrôlent la phase du signal appliqué sur chaque électrode et non le potentiel pour moduler le champ électrique. Ce système utilise une géométrie d'électrodes originale, présentée figure II.7(b), permettant une manipulation 2D avec un espace de travail plus grand que Kharboutly *et al.* [Kharboutly 13]. Ces travaux ont permis de réaliser le contrôle en position de microbilles de $50\ \mu\text{m}$ de diamètre avec une précision de $8\ \mu\text{m}$ (figure II.7(c)). En utilisant un modèle analytique et douze fois plus d'électrodes que Kharboutly dans un large espace de travail, le système développé par Zemanek *et al.* permet une fréquence d'échantillonnage de la boucle de contrôle de 10 Hz.

Les systèmes d'actionnement en boucle fermée par diélectrophorèse calculant en temps réel le champ électrique permettent un contrôle précis du déplacement de l'objet contrôlé et un découplage entre la force appliquée sur l'objet ainsi que ses

propriétés physiques et électriques. Ces dispositifs sont peu nombreux, ils sont majoritairement étudiés au laboratoire CTU (Czech technical university) de Prague et à l'institut FEMTO-ST de Besançon.

Ces systèmes sont limités en termes de débit de cellules par la fréquence d'échantillonnage de la boucle fermée. Cette fréquence est limitée par le temps nécessaire au calcul du champ électrique à chaque itération. Il existe en effet peu de méthodes adaptées au calcul en temps réel de ce dernier. La prochaine section est de ce fait consacrée aux différentes méthodes de calcul du champ électrique.

II.3 CALCUL DU CHAMP ÉLECTRIQUE

La diélectrophorèse étant basée sur l'utilisation des champs électriques, cette section présente les différentes méthodes permettant de calculer ce dernier. La méthode analytique permettant de calculer le champ électrique par série de Fourier utilisé dans la suite de cette thèse est détaillée ici.

II.3.1 Différentes méthodes de calcul du champ électrique

Les méthodes permettant de calculer le champ électrique peuvent être regroupées en trois catégories, les méthodes numériques, les méthodes semi-analytiques et les méthodes analytiques.

Les méthodes numériques consistent à résoudre un problème continu en discrétisant l'espace, puis en résolvant le problème de proche en proche après avoir fixé des conditions aux limites. Il existe trois principales méthodes numériques qui sont :

- les différences finies expriment des approximations de dérivées partielles par des différences de valeur d'une fonction sur un ensemble de points définis
- les volumes finis intègrent sur des volumes les équations régissant le phénomène physique sous forme de loi de conservation
- les éléments finis se basent sur une description variationnelle du problème et permettent d'obtenir une solution approchée d'équations aux dérivées partielles

Ces méthodes ont pour avantages de permettre un calcul précis du champ électrique. Leurs inconvénients sont un long temps de calcul, la nécessité de calculer le champ électrique dans tout l'espace défini pour obtenir sa valeur en un point et la nécessité d'un nouveau calcul pour toute modification de conditions limites. Ces méthodes sont accessibles facilement par l'intermédiaire de logiciels tels que COMSOL Multiphysics® et sont utiles pour des simulations sans contrainte de temps.

Les méthodes semi-analytiques utilisent les linéarités des équations régissant le champ électrique. En effet, en utilisant les théorèmes de *superposition des charges* ou de *superposition du champ électrique* il est possible de décomposer un problème complexe en une somme de problèmes simplifiés. Dans le cas d'un système à plusieurs électrodes, il est possible d'utiliser une méthode numérique pour obtenir le champ électrique généré par chaque électrode à 1V puis, de stocker ces données. Une combinaison linéaire de la contribution de chaque électrode permet ensuite de calculer le champ électrique résultant. Les travaux de Kharboutly *et al.* utilisent par exemple la superposition des charges pour calculer le champ électrique en temps réel [Kharboutly 13]. Ces méthodes sont efficaces (précise et rapide) mais nécessitent l'établissement de bases de données conséquentes.

Les méthodes analytiques ont pour avantage de proposer une solution permettant de calculer le champ électrique sans la nécessité de base de données conséquentes et offrent la possibilité de calculer le champ électrique dans un espace continu et uniquement en un point. Il existe essentiellement deux approches analytiques permettant d'exprimer et de trouver une solution aux équations différentielles régissant le champ électrique. La première est basée sur *le théorème de Green*. Ce théorème permet d'exprimer l'équation de Laplace exprimant le potentiel électrique par une intégrale sur les frontières [Wang 96]. Cette méthode a notamment été utilisée et développée par Gurtner *et al.* [Gurtner 17]. En la couplant avec une partie de précalcul pour certaines conditions aux limites, cette méthode permet de calculer en temps réel le champ électrique pour des géométries d'électrodes simples. Pour des géométries plus complexes, les équations obtenues sont également plus complexes et longues, rendant leur exploitation impossible pour du calcul en temps réel. La seconde méthode est basée sur *les séries de Fourier*. En utilisant les séries de Fourier, il est possible d'exprimer le champ électrique comme une combinaison d'exponentielles complexes. L'expression obtenue est facilement dérivable et permet donc l'expression du champ électrique. Cette méthode est développée dans les travaux de Gauthier *et al.* [Gauthier 17]. Il en résulte que le champ électrique peut être exprimé par :

$$\vec{E}(x, y, z) = \sum_{n=1}^N \sum_p U_n a_{n,p} \vec{e}_p(x, y, z) \quad (\text{II.5})$$

avec $a_{n,p}$ les coefficients de Fourier, e_p une combinaison d'exponentielles et U_n le potentiel appliqué sur chaque électrode considérée. Cette méthode nécessite le précalcul des coefficients de Fourier $a_{n,p}$, mais a pour avantage de découpler le potentiel des autres paramètres du système. De cette manière, un changement des conditions limites peut facilement être pris en compte, rendant cette formulation adaptée à des systèmes dont le potentiel sur chaque électrode est indépendant. Une approximation des coefficients de Fourier et l'hypothèse de la linéarité du potentiel entre les électrodes permettent d'accroître l'efficacité de cette méthode pour le calcul du champ électrique en temps réel.

En résumé, les méthodes numériques sont coûteuses en temps de calcul et en mémoire, mais permettent un calcul précis du champ électrique pour toute géométrie d'électrodes. Elles sont adaptées pour des simulations où le temps et la capacité mémoire ne sont pas des contraintes. Gauthier *et al.* ont effectué une comparaison des différentes méthodes analytiques et semi-analytiques en termes de mémoire nécessaire et de temps de calcul retranscrit [figure II.8](#). Il ressort de cette étude qu'elles permettent un calcul rapide du champ électrique et peuvent donc être utilisées pour des systèmes nécessitant un calcul en temps réel du champ électrique. La méthode par série de Fourier apparaît être un compromis intéressant en termes de mémoire et de temps de calcul. Cette méthode est détaillée ci-après.

Number of electrodes	Electric field superposition		Charge distribution superposition		Green's function		Fourier series	
8	515 ns,	7.78 MB	55.0 μ s,	< 2 MB	326 μ s,	< 2 MB	21.9 μ s,	< 2 MB
16	605 ns,	30.0 MB	209 μ s,	< 2 MB	616 μ s,	< 2 MB	84.8 μ s,	< 2 MB
32	908 ns,	60.5 MB	812 μ s,	< 2 MB	1.21 ms,	< 2 MB	335 μ s,	< 2 MB

FIGURE II.8 – Tableau comparant les performances des différentes méthodes, semi-analytiques et analytiques, présentées en section II.3. [Gauthier 18b]

II.3.2 Calcul du champ électrique par série de Fourier

Cette partie décrit le modèle analytique utilisé au cours de cette thèse permettant le calcul du champ électrique par série de Fourier. Ce modèle a été proposé dans [Gauthier 17]. Il est particulièrement adapté aux applications nécessitant un calcul du champ électrique et de ses dérivés en temps réel. Sa formulation permet une décorrélation des paramètres physiques du système et de la variable de commande. Ainsi, il permet un temps de calcul de l'ordre de quelques dizaines de microsecondes pour seize électrodes coplanaires tout en nécessitant un espace mémoire faible (de l'ordre du Mégabit).

II.3.2.1 Formulation générale

Le champ électrique généré dans un système composé d'électrodes est régi par les équations de Maxwell. Dans le cas d'un champ électrique sinusoïdal dans un milieu homogène, le potentiel électrique est régi par l'équation de Laplace :

$$\Delta\phi(x, y, z, t) = 0 \quad (\text{II.6})$$

avec Δ l'opérateur laplacien et y l'altitude. Cette équation étant une équation différentielle linéaire, il est possible de l'écrire comme une combinaison linéaire du potentiel électrique de chaque électrode. Le potentiel peut donc être exprimé :

$$\phi(x, y, z, t) = \sum_{n=0}^{n=N_e} \alpha_n(x, y, z)u_n(t) \quad (\text{II.7})$$

avec N_e le nombre d'électrodes α la contribution en termes de potentiel d'une électrode au point (x, y, z) et $u(t)$ le potentiel appliqué sur l'électrode.

En plus de cette linéarité, il est nécessaire de poser les hypothèses suivantes pour formuler le modèle :

1. les électrodes sont considérées comme des conducteurs parfaits
2. la double couche électrique induite par la polarisation des électrodes, pouvant être mathématiquement assimilée à un condensateur [Wang 11], n'est pas considérée
3. l'épaisseur des électrodes est négligeable,
4. les électrodes sont planes et considérées dans le plan (O, x, z)
5. les potentiels appliqués aux électrodes ont la même phase
6. le potentiel généré par une électrode sur le plan d'électrode (O, x, z) peut être exprimé par une série de Fourier :

$$\forall(x, z) \in [0, l] \times [0, L], \quad \alpha_n(x, y = 0, z) = \sum_{j,k} a_{j,k,n} e^{i\omega_j x} e^{i\omega_k z} \quad (\text{II.8})$$

avec

$$\begin{cases} \omega_j = \frac{2j\pi}{2l} \\ \omega_k = \frac{2k\pi}{2L} \end{cases} \quad (\text{II.9})$$

où l et L sont respectivement la longueur et la largeur du plan d'électrode. $a_{j,k,n}$ est le coefficient de Fourier de pulsation ω_j et ω_k .

7. La modification du potentiel électrique en fonction de l'altitude dépend uniquement des pulsations ω_j et ω_k de la série de Fourier :

$$\forall(x, z) \in [0, l] \times [0, L], \quad \alpha_n(x, y, z) = \sum_{j,k} a_{j,k,n} e^{i\omega_j x} e^{i\omega_k z} \cdot Y_{j,k}(y) \quad (\text{II.10})$$

En considérant une surface réfléchissant le champ électrique à une hauteur h , induisant un champ électrique nul à cette hauteur,

$$Y_{j,k}(y) = \frac{e^{\omega_{j,k}(y-2h)} + e^{-\omega_{j,k}(y-2h)} + e^{\omega_{j,k}y} + e^{-\omega_{j,k}y}}{e^{2\omega_{j,k}h} + e^{-2\omega_{j,k}h} + 2} \quad (\text{II.11})$$

avec $\omega_{j,k} = \sqrt{\omega_j^2 + \omega_k^2}$

Les hypothèses 1, 2, 3 et 4 dépendent de la fabrication des électrodes et peuvent être respectées en utilisant les méthodes de microfabrication présentées section II.2.1. L'hypothèse 5 peut être respectée en utilisant la même source pour alimenter les électrodes. Les hypothèses 6 et 7 sont validées par la convergence des séries de Fourier explicitées dans la suite de ce chapitre et démontrées dans [Gauthier 18a]. Ainsi en respectant toutes ces hypothèses et en combinant les équations II.10 et II.11, la formulation analytique suivante permet d'exprimer le potentiel électrique en un point de l'espace connaissant le potentiel électrique appliqué à chaque électrode.

$$\phi(x, y, z, t) = \sum_{n=0}^{n=N_e} \sum_{j,k} a_{j,k,n} e^{i\omega_j x} e^{i\omega_k z} Y_{j,k}(y) u_n(t) \quad (\text{II.12})$$

L'équation II.12 peut être exprimée sous forme d'un produit matriciel sous la forme :

$$\phi(x, y, z, t) = \mathbf{e}(x, y, z)^T \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{U}(t) \quad (\text{II.13})$$

La formulation (eq. II.13) fait ressortir trois termes :

- \mathbf{e} , une matrice composée de fonctions exponentielles calculées au point (x, y, z) : termes facilement dérivables.
- \mathbf{A} , une matrice composée des coefficients de Fourier $a_{j,k,n}$: termes pouvant être précalculés, car dépendant uniquement de la géométrie des électrodes.
- \mathbf{U} , une matrice composée des u_n potentiels appliqués sur chaque électrode. Cette matrice est appelée variable de commande, c'est à travers elle que le champ électrique est modifié.

Cette forme matricielle découple les paramètres géométriques du système, la variable de commande et la position considérée. De plus, cette expression est facilement dérivable, ce qui permet de calculer le champ électrique \mathbf{E} et sa dérivée définie respectivement équations II.14 et II.15.

$$\mathbf{E} = -\vec{\nabla}(\phi) = - \begin{bmatrix} \frac{\partial \mathbf{e}^T}{\partial x} \mathbf{A} \mathbf{U} \\ \frac{\partial \mathbf{e}^T}{\partial y} \mathbf{A} \mathbf{U} \\ \frac{\partial \mathbf{e}^T}{\partial z} \mathbf{A} \mathbf{U} \end{bmatrix} \quad (\text{II.14})$$

$$\vec{\nabla}(\mathbf{E}) = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial x^2} \mathbf{A} \mathbf{U} & \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial x \partial y} \mathbf{A} \mathbf{U} & \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial x \partial z} \mathbf{A} \mathbf{U} \\ \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial y \partial x} \mathbf{A} \mathbf{U} & \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial y^2} \mathbf{A} \mathbf{U} & \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial y \partial z} \mathbf{A} \mathbf{U} \\ \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial z \partial x} \mathbf{A} \mathbf{U} & \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial z \partial y} \mathbf{A} \mathbf{U} & \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial z^2} \mathbf{A} \mathbf{U} \end{bmatrix} \quad (\text{II.15})$$

Dans cette thèse, le modèle utilisé est une simplification de celui-ci induite par une réduction à deux dimensions et une géométrie d'électrodes spécifique. Ainsi, la détermination des coefficients de Fourier composant la matrice \mathbf{A} pour ce cas général n'est pas détaillée ici. Toutefois, cette méthode peut être trouvée dans [Gauthier 18a] et en annexe A. La prochaine partie détaille le modèle réduit à deux dimensions et la détermination des coefficients de Fourier dans ce cas.

II.3.2.2 Formulation pour deux dimensions avec des électrodes parallèles

Deux hypothèses supplémentaires sont ici nécessaires pour formuler le modèle en deux dimensions. Premièrement, la géométrie des électrodes est considérée comme invariante suivant l'axe \vec{z} . Le repère utilisé ici est défini figure II.9. Ensuite, les électrodes possèdent la même largeur l_{elec} et le même espacement δ_{elec} avec

$$l_{elec} = \delta_{elec} = \frac{L}{2N_e - 1} \quad (\text{II.16})$$

où L est la taille de l'espace de travail suivant l'axe \vec{x} et N_e le nombre d'électrodes. De cette manière, le système est un réseau d'électrodes parallèles invariantes suivant l'axe \vec{z} . Ces deux hypothèses permettent de réduire le nombre de coefficients de Fourier pour une même précision du modèle tout en facilitant leur formulation.

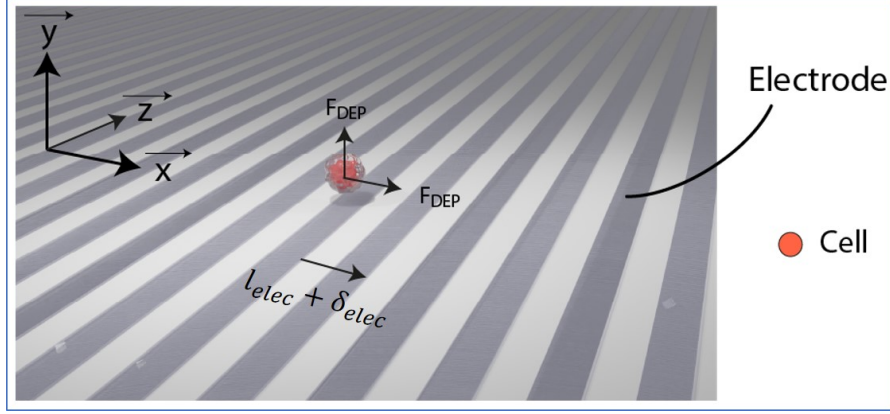


FIGURE II.9 – Représentation schématique d'une cellule dans une puce microfluidique composée d'électrodes parallèles respectant les hypothèses permettant d'utiliser le modèle par série de Fourier simplifié défini section II.3.2.2. Le repère défini sur cette figure est utilisé tout au long du manuscrit.

La résolution analytique du potentiel requiert la définition de conditions aux limites. Ces conditions sont définies dans la figure II.10 ainsi que dans la liste suivante :

- Le potentiel u_n est appliqué à l'électrode n .

$$\forall n \in [0, N_e - 1], \quad \forall x \in [2n\delta_{elec}, (2n + 1)\delta_{elec}] \quad \phi(x, y = 0) = u_n \quad (\text{II.17})$$

- le champ électrique \mathbf{E} à une hauteur h au-dessus des électrodes est nul

$$\mathbf{E}(x, y = h) = 0 \quad (\text{II.18})$$

- Les autres frontières sont considérées comme des isolants parfaits sans accumulation de charges. L'absence de flux sur les frontières latérales est assimilable à une condition de symétrie [Gauthier 17].

$$\forall k \in \mathbb{Z} \quad \phi(kL + x, y) = \phi(kL - x, y) \quad (\text{II.19})$$

- Le potentiel entre les électrodes est considéré comme linéaire.

$$\forall n \in [0, N_e - 2], \quad \forall x \in [(2n + 1)\delta_{elec}, (2n + 2)\delta_{elec}] \quad \phi(x, y = 0) = u_n + \frac{u_{n+1} - u_n}{\delta_{elec}}(x - (2n + 1)\delta_{elec}) \quad (\text{II.20})$$

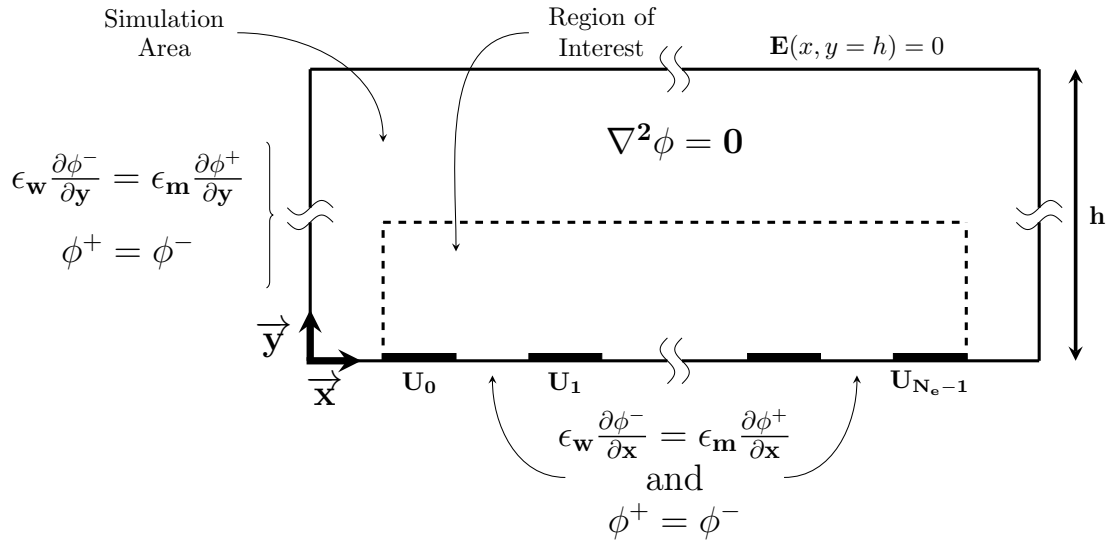


FIGURE II.10 – Représentation des conditions limites considérées permettant la détermination du potentiel électrique au-dessus d'électrodes parallèles. ϕ^+ et ϕ^- sont les potentiels sur chaque côté des frontières. ϵ_m est la permittivité du milieu considéré. ϵ_w est la permittivité des murs latéraux. La région d'intérêt représente le domaine dans lequel est calculé le champ électrique par série de Fourier. Les rectangles noirs représentent les électrodes.

Les conditions II.17-II.20 définissent par morceaux le potentiel électrique dans le plan (pour $y = 0$). En utilisant l'équation II.12, tout en considérant l'invariance suivant l'axe \vec{z} , le potentiel est également défini par :

$$\phi(x, y = 0) = \sum_{p=-P_f}^{P_f} \sum_{n=0}^{n=N_e} a_{p,n} e^{i\omega_p x} u_n \quad (\text{II.21})$$

avec P_f la longueur de la série de Fourier considérée, $\omega_p = 2p\pi/2L$ et $\sum_{n=0}^{n=N_e} a_{p,n} u_n$ les coefficients de Fourier. Par définition, le coefficient de Fourier d'indice p est défini par :

$$\sum_{n=0}^{n=N_e} a_{p,n} u_n = \frac{1}{2L} \int_{-L}^L \phi(x, y = 0) e^{-i\omega_p x} dx \quad (\text{II.22})$$

Ainsi, les équations II.17 à II.20 permettent de reformuler l'intégrale équation II.22 comme une somme d'intégrales sur chaque morceau. Cette formulation permet de déterminer les coefficients $a_{p,n}$ à travers la résolution des intégrales. La résolution

de cette équation permet de déterminer $a_{p,n}$:

$$a_{p,n} = \begin{cases} \frac{3}{2} \frac{1}{2N_e - 1} & \text{si } n \notin [1, N_e - 2], p = 0 \\ \frac{2}{2N_e - 1} & \text{si } n \in [1, N_e - 2], p = 0 \\ (-1)^{\frac{pn}{N_e - 1}} \frac{2N_e - 1}{p^2 \pi^2} (\cos(\gamma_p) - \cos(2\gamma_p)) & \text{si } n \notin [1, N_e - 2], p \neq 0 \\ \frac{2N_e - 1}{p^2 \pi^2} (-\cos((2n - 1)\gamma_p) + \cos(2n\gamma_p) + \cos((2n - 1)\gamma_p) - \cos((2n + 2)\gamma_p)) & \text{si } n \in [1, N_e - 2], p \neq 0 \end{cases} \quad (\text{II.23})$$

où $\gamma_p = \frac{p\pi}{2N_e - 1}$. Comme, selon l'hypothèse numéro 7 section II.3.2.1, la modification du potentiel suivant l'altitude dépend uniquement de la pulsation de la série de Fourier, la définition des coefficients $a_{p,n}$ est valable pour tout $y > 0$. Il est donc possible de reprendre la formulation générale équation II.13 pour exprimer le potentiel dans le plan (O, x, y) .

$$\phi(x, y, t) = \mathbf{e}(x, y)^T \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{U}(t) \quad (\text{II.24})$$

avec \mathbf{e} issu de la simplification de l'équation II.11 induite par le passage à deux dimensions.

$$\begin{cases} \mathbf{e}(x, y)^T = [e_0 \quad e_1 \quad \dots \quad e_{P_f}] \\ \forall p \in [0, P_f], e_p = \frac{e^{\omega_p(2h-y)} - e^{\omega_p y}}{e^{2\omega_p} - 1} e^{ip\pi x/L} \end{cases} \quad (\text{II.25})$$

Cette simplification du modèle général permet de formuler le champ électrique \mathbf{E} et son gradient de la manière suivante :

$$\mathbf{E} = -\vec{\nabla}(\phi) = - \begin{bmatrix} \frac{\partial \mathbf{e}^T}{\partial x} \mathbf{A} \mathbf{U} \\ \frac{\partial \mathbf{e}^T}{\partial y} \mathbf{A} \mathbf{U} \end{bmatrix} \quad (\text{II.26})$$

$$\vec{\nabla}(\mathbf{E}) = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial x^2} \mathbf{A} \mathbf{U} & \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial x \partial y} \mathbf{A} \mathbf{U} \\ \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial y \partial x} \mathbf{A} \mathbf{U} & \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial y^2} \mathbf{A} \mathbf{U} \end{bmatrix} \quad (\text{II.27})$$

Plus de détails concernant la résolution des intégrales, la vérification des conditions de convergences et la comparaison des performances entre ce modèle et le modèle générique présenté section II.3.2.1 sont données dans [Gauthier 18a].

II.3.2.3 Évaluation du modèle

Nous avons implémenté le modèle présenté en section II.3.2.2 et ses résultats en termes de norme du champ électrique ont été comparés avec un modèle par éléments finis servant de référence. Le modèle par éléments finis a été calculé en utilisant le logiciel COMSOL Multiphysics®. Le cas d'étude choisi est un plan d'électrodes parallèles respectant les contraintes géométriques définies en équation II.16 avec seize électrodes, $N_e = 16$, de largeur $l_{elec} = 10\mu\text{m}$. Les conditions limites sont celles définies section II.3.2.2. Le plan supérieur est à une hauteur $h = 2\text{ mm}$. La série de Fourier est considérée de longueur $P_f = 2N_e$.

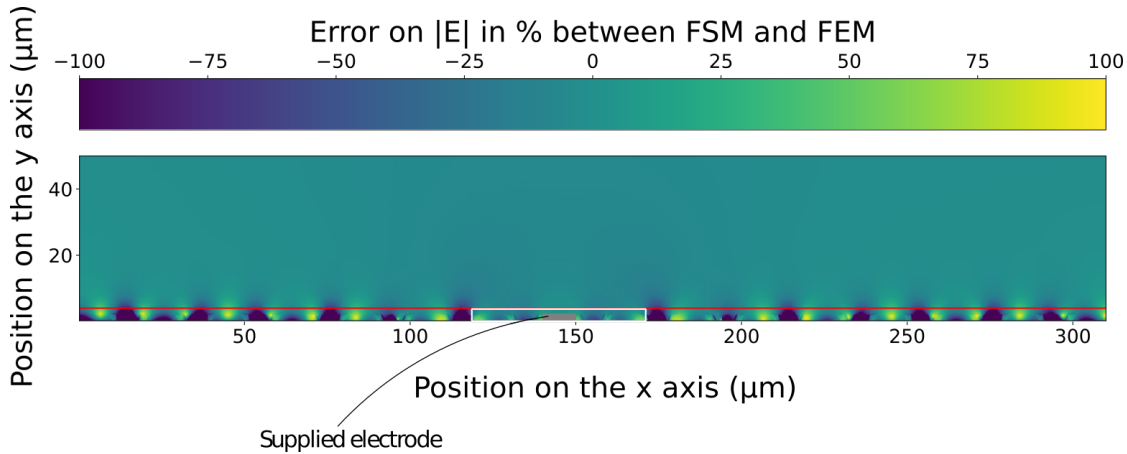


FIGURE II.11 – Comparaison de la norme du champ électrique entre le modèle par série de Fourier (FSM) et par éléments finis (FEM). Les couleurs représentent l'erreur en % entre ces deux modèles. Une valeur négative (tendant vers le violet) signifie que le FSM surestime la norme du champ électrique. La ligne rouge représente une altitude de $5\mu\text{m}$. Le rectangle gris représente l'électrode alimentée avec un potentiel de 3 V . Le rectangle blanc représente la zone qualifiée comme "proche de l'électrode alimentée".

La figure II.11 représente la comparaison de la norme du champ électrique calculée par le modèle basé sur les séries de Fourier (FSM) et sur les éléments finis (FEM). Les couleurs représentent l'erreur entre les deux modèles en pour cent. Une valeur négative (tendant vers le violet) signifie que le modèle FSM surestime la norme du champ électrique. La ligne horizontale rouge représente tous les points de coordonnées $(x \in [0, 310], y = 5)\mu\text{m}$. Le rectangle gris représente l'électrode alimentée avec un potentiel de 3 V . L'épaisseur de ce rectangle ne représente pas l'épaisseur de l'électrode, celle-ci est considérée d'épaisseur négligeable pour respecter l'hypothèse 3 section II.3.2.1. Il en ressort que proche de l'électrode alimentée, sous $5\mu\text{m}$ et à $\pm 30\mu\text{m}$ du centre de l'électrode alimentée (zone entourée par un rectangle blanc sur figure II.11), l'erreur est comprise entre $\pm 50\%$. Plus loin de l'électrode, sous $5\mu\text{m}$, des erreurs de $\pm 100\%$ sont présentes et induites par le troncage de la série de Fourier à $P_f = 2N_e$ ainsi que par l'hypothèse de la linéarité

du potentiel entre les électrodes. Au-dessus de $5\ \mu\text{m}$, l'erreur est toujours comprise dans $[-20, 0]\%$ signifiant que le modèle par séries de Fourier surestime la norme du champ électrique dans la majorité du plan.

II.3.3 Bilan

Cette section a présenté les différentes méthodes permettant le calcul du champ électrique. Elle s'est ensuite concentrée sur la définition d'un modèle analytique basé sur les séries de Fourier permettant le calcul du champ électrique. Une première partie a permis de définir le modèle général applicable à des formes d'électrodes quelconques et permettant un calcul du champ électrique dans trois dimensions. Ensuite, une simplification de ce modèle consacré au calcul du champ électrique dans 2 dimensions et applicable uniquement à des électrodes parallèles a été rappelée. Cette formulation a pour avantage de découpler les termes impactés par la géométrie du système, la position où le champ électrique est calculé ainsi que la variable de commande. La norme du champ électrique calculé par le modèle de calcul du champ électrique par séries de Fourier (FSM), présenté ici, a été comparée à un modèle par éléments finis [figure II.11](#). Il en résulte que ce modèle est assez précis avec une erreur dans la majorité du plan comprise entre dans $[-20, 0]\%$ au-dessus de $y = 5\ \mu\text{m}$. Cela signifie que le FSM surestime légèrement la norme du champ électrique au-dessus de $5\ \mu\text{m}$.

II.4 CONCLUSION ET OBJECTIF DE LA THÈSE

Ce chapitre définit la force de diélectrophorèse ainsi que les paramètres l'influençant. Les différentes applications et systèmes présents dans la littérature utilisant la diélectrophorèse pour déplacer/positionner des particules micrométriques ont été présentés. Ces différents systèmes ont été répartis en deux catégories en fonction de l'évolution du champ électrique au cours du temps. Les systèmes en boucle ouverte, avec un champ électrique invariant dans le temps, et les systèmes en boucle fermée, dans lesquels le champ électrique est modifié au cours du temps.

Il ressort de l'étude sur les différents usages de la diélectrophorèse pour la manipulation d'objets micrométriques que les dispositifs en boucle fermée pour le contrôle en position sont peu nombreux. Le contrôle en position désigne la capacité à faire suivre une trajectoire arbitraire en minimisant l'erreur. Ces dispositifs se limitent à des applications sur des objets artificiels dont la taille est supérieure ou égale à $50\ \mu\text{m}$. Le dispositif développé par Zemanek *et al.* [[Zemánek 18](#)] permet un contrôle en deux dimensions de la position d'une microbille de $50\ \mu\text{m}$ de diamètre avec une précision de $8\ \mu\text{m}$ et une fréquence d'échantillonnage de 10 hertz. Ils ont toutefois effectué des tests encourageants concernant la possibilité de manipuler des objets artificiels de taille plus petite ($15\ \mu\text{m}$) [[Zemánek 18](#)].

Les différentes méthodes permettant le calcul du champ électrique ont été abordées. La méthode utilisant les séries de Fourier a été détaillée et sa précision vis-à-vis de la norme du champ électrique a été comparée à un modèle par éléments finis. Il en résulte que ce modèle est précis et adapté au contrôle en position en boucle fermée.

L'objectif de cette thèse est de démontrer la possibilité d'utiliser la diélectrophorèse pour contrôler la trajectoire de cellules en boucle fermée dans des dispositifs microfluidiques. Le cas d'étude portera sur le déplacement de cellules biologiques nécessitant une loi de commande et un système de perception spécifique. Cette thèse aborde également la conception d'un système microfluidique actionné par diélectrophorèse utilisant comme retour d'information des données d'impédance.

Le chapitre III propose deux modèles. Un premier appelé modèle direct et un second appelé modèle inverse. Ces modèles ont respectivement pour but de calculer le déplacement d'une particule en fonction du potentiel appliqué sur chaque électrode, et de calculer le potentiel à appliquer sur chaque électrode en fonction d'un déplacement souhaité. Enfin, un algorithme permettant de contrôler en position des objets micrométriques artificiels et biologiques est proposé puis validé en simulation.

Chapitre III

Modélisation et commande en boucle fermée

III.1	Modèle direct	51
III.1.1	Gravité et force de traînée.....	53
III.1.2	Force de diélectrophorèse.....	54
III.1.3	Expression du modèle direct	55
III.2	Modèle inverse	57
III.2.1	Algorithme de recuit simulé.....	58
III.2.2	Étude paramétrique du recuit simulé.....	59
III.2.3	Bilan.....	60
III.3	Simulation de commande en boucle ouverte	61
III.3.1	Étude de suivis de trajectoire	61
III.3.1.1	Analyse d'une trajectoire à faible vitesse	62
III.3.1.2	Analyse d'une trajectoire à haute vitesse	64
III.3.2	Sensibilité aux erreurs d'estimations des paramètres	65

III.4	Contrôle de trajectoire en boucle fermée.....	68
III.4.1	Architecture du contrôleur en boucle fermée.....	69
III.4.2	Traitement d'image, mesure de la position suivant \vec{x}	70
III.4.3	Observateur, reconstruction de la position suivant \vec{y}	71
III.4.4	Contrôleur PI.....	72
III.4.5	Simulation.....	73
III.5	Conclusion.....	74

Ce chapitre se concentre sur le développement d'un algorithme de contrôle en boucle fermée pour l'actionnement par diélectrophorèse. Cet algorithme a pour but de faire suivre une trajectoire arbitraire en deux dimensions à des objets micrométriques. Il est basé sur le modèle par séries de Fourier simplifié issu de la littérature et présenté en section II.3.2.2 permettant de calculer le champ électrique.

La première section est dédiée au modèle direct permettant de calculer le déplacement d'un objet micrométrique induit par un vecteur de commande \mathbf{U} représentant le potentiel appliqué sur chaque électrode. Cette section présente un bilan des forces appliquées à une particule lors d'un déplacement en milieu liquide par diélectrophorèse.

La seconde section détaille le modèle inverse permettant de calculer le vecteur de commande \mathbf{U} pour déplacer un objet micrométrique d'une position à une autre. Le modèle direct n'étant pas directement inversible, une solution basée sur un algorithme d'optimisation, le recuit simulé, est proposée. Une étude paramétrique a été menée pour trouver un compromis entre le temps de calcul et la précision des solutions. Une fonction de coût permettant de limiter la norme du champ électrique est également proposée.

Une troisième section valide en simulation l'utilisation de suivi de trajectoire arbitraire en utilisant le modèle inverse. Ces simulations étudient le fonctionnement de l'algorithme dans un cas parfait, *i.e.* en ne considérant aucune erreur sur l'évaluation des paramètres et aucune perturbation. Cette section propose ensuite une étude sur l'impact des erreurs d'estimation de certains paramètres de l'objet manipulé. Cette étude met en avant la différence de comportement entre des objets de faible et de grande densité et illustrera la nécessité d'une commande en boucle fermée.

La dernière section propose un algorithme de commande en boucle fermée basé sur un retour d'information visuelle ainsi qu'un observateur original permettant d'estimer l'altitude de l'objet micrométrique. Cet observateur permet de reconstruire l'altitude de l'objet en se basant sur l'erreur en position dans le plan. Des simulations valident l'utilisation de cet algorithme de commande pour suivre une trajectoire arbitraire en utilisant la diélectrophorèse comme méthode d'actionnement.

III.1 MODÈLE DIRECT, DU VECTEUR DE COMMANDE AU DÉPLACEMENT

Cette section s'intéresse au modèle direct, permettant de calculer le déplacement δX d'une particule en considérant les forces prépondérantes s'appliquant sur cette dernière. Ce modèle est présenté sous forme d'un schéma bloc [figure III.1](#).

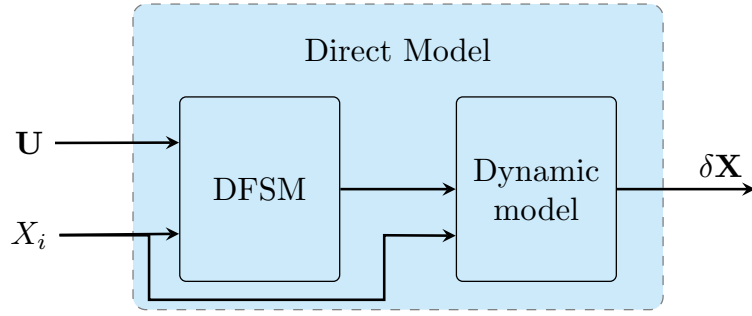


FIGURE III.1 – Description du modèle direct sous forme de schéma bloc. \mathbf{X}_i et \mathbf{U} sont la position de la particule et le vecteur de commande. $\delta\mathbf{X}$ est le déplacement engendré. Ce modèle est composé de deux sous-modèles appelés le modèle dynamique direct et le modèle permettant le calcul de la force de diélectrophorèse appelé DFSM. Le DFSM permet le calcul de la force de diélectrophorèse en se basant sur le modèle de calcul du champ électrique par série de Fourier présenté section II.3.2.2

Pour une géométrie d'électrode fixée, le modèle direct doit permettre de calculer le déplacement d'une particule à partir de la tension appliquée à chaque électrode et de la position initiale de la particule. Ce modèle est établi en utilisant la deuxième loi de Newton.

$$\sum \vec{F} = m\vec{a} \quad (\text{III.1})$$

avec \vec{F} les forces appliquées à la particule, m la masse de la particule et \vec{a} l'accélération de la particule. À l'échelle micrométrique considérée dans cette thèse, il a été montré dans [Kharboutly 11] que les termes liés à l'inertie peuvent être négligés pour tout objet sphérique dont le diamètre est de l'ordre de la dizaine de micromètres. Ainsi, il est possible d'utiliser la seconde loi de Newton dans le cas quasi-statique :

$$\sum \vec{F} = \vec{0} \quad (\text{III.2})$$

Il est ensuite nécessaire d'identifier les forces en jeu. Dans le cas d'une particule déplacée par diélectrophorèse, les trois forces prépondérantes sont la force de traînée \mathbf{F}_{drag} , la force de la gravité combinée avec la poussée d'Archimède \mathbf{F}_{g+b} et la force de diélectrophorèse \mathbf{F}_{DEP} . Les autres forces appliquées à la particule sont le mouvement Brownien, le flux électrothermique et l'électro-osmose. Cependant, selon [Gauthier 18b], ces forces sont inférieures d'au moins deux ordres de grandeur aux trois autres forces citées précédemment. Elles sont donc négligées pour l'établissement de ce modèle direct. Ainsi, l'équation régissant le mouvement de la particule est :

$$\vec{0} = \mathbf{F}_{g+b} + \mathbf{F}_{drag} + \mathbf{F}_{DEP} \quad (\text{III.3})$$

Les différentes forces présentes dans l'équation III.3 sont explicitées ci-dessous.

III.1.1 Gravité et force de traînée

- \mathbf{F}_{b+g} est la force représentant la gravité et la poussée d'Archimède. Elle est décrite pour une particule sphérique par :

$$\mathbf{F}_{g+b} = \begin{bmatrix} 0 \\ \frac{4}{3}\pi a^3(\rho_m - \rho_p)g \end{bmatrix} \quad (\text{III.4})$$

avec a le rayon de la particule, ρ_p la densité de la particule, ρ_m la densité du milieu dans lequel la particule évolue et g l'accélération de la gravité.

- \mathbf{F}_{drag} est la force de traînée. Elle est définie par la loi de Stokes :

$$\mathbf{F}_{drag} = \mathbf{D} \cdot \dot{\mathbf{X}} \quad (\text{III.5})$$

où

$$\mathbf{D} = -6\pi\mu a \begin{bmatrix} \lambda_x & 0 \\ 0 & \lambda_y \end{bmatrix}, \dot{\mathbf{X}} = \begin{bmatrix} \dot{x} \\ \dot{y} \end{bmatrix} \quad (\text{III.6})$$

avec μ la viscosité dynamique du milieu dans lequel évolue la particule, \dot{x} la vitesse de la particule suivant \vec{x} , \dot{y} la vitesse de la particule suivant \vec{y} . λ_x et λ_y sont des coefficients de correction. On note qu'à l'échelle considérée la force de traînée est proportionnelle à la vitesse de l'objet.

De manière classique, la force de traînée est considérée avec $\lambda_x = \lambda_y = 1$. Cela signifie qu'elle ne dépend pas de la position de la particule. Or, il est montré dans [Gauthier 18b], qu'il existe une dépendance entre la force de traînée et l'altitude de la particule due à la proximité avec le sol de la puce microfluidique. Ce phénomène est pris en compte en considérant [Ambari 84, Ambari 83] :

$$\lambda_x = \left[1 - \frac{9}{16} \frac{a}{y} + \frac{1}{8} \left(\frac{a}{y} \right)^3 \right]^{-1} \quad (\text{III.7})$$

$$\lambda_y = \frac{8}{15} \sinh \alpha \left[\frac{2 \sinh 3\alpha + 3 \sinh 2\alpha}{4 \sinh^2 1.5\alpha - 9 \sinh^2 \alpha} - 1 \right] \quad (\text{III.8})$$

avec

$$\alpha = \cosh^{-1}(1 + (y - a)/a) \quad (\text{III.9})$$

où y est la distance entre le centre de gravité de la particule et le plan. Les forces F_{b+g} et F_{drag} dépendent uniquement des propriétés de la particule et du milieu dans lequel elle évolue.

III.1.2 Force de diélectrophorèse

La force de diélectrophorèse, \mathbf{F}_{DEP} , est régie par l'équation II.1 rappelée ci-dessous.

$$\mathbf{F}_{DEP} = 4\pi\epsilon_0\epsilon_m a^3 \text{Re}[K(\omega)] \nabla E_{rms}^2 \quad (\text{II.1})$$

En reprenant l'équation (II.26) et l'équation (II.1), la force de diélectrophorèse peut être exprimée par :

$$\mathbf{F}_{DEP} = C_{DEP} \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial x^2} \mathbf{A} \mathbf{U} & \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial x \partial y} \mathbf{A} \mathbf{U} \\ \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial y \partial x} \mathbf{A} \mathbf{U} & \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial y^2} \mathbf{A} \mathbf{U} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \frac{\partial \mathbf{e}^T}{\partial x} \mathbf{A} \mathbf{U} \\ \frac{\partial \mathbf{e}^T}{\partial y} \mathbf{A} \mathbf{U} \end{bmatrix} \quad (\text{III.10})$$

avec $C_{DEP} = 4\pi\epsilon_m a^3 \text{Re}[K(\omega)]$. Cette expression peut également être écrite comme une équation du second degré du paramètre de commande \mathbf{U} :

$$\mathbf{F}_{DEP} = \mathbf{U} \cdot \mathbf{P} \cdot \mathbf{U}^T \quad (\text{III.11})$$

où :

$$\mathbf{P} = C_{DEP} \cdot \left(\frac{\partial \mathbf{e}^T}{\partial \mathbf{X}}(x, y) \cdot \mathbf{A} \right)^T \cdot \frac{\partial^2 \mathbf{e}^T}{\partial \mathbf{X}^2}(x, y) \cdot \mathbf{A} \quad (\text{III.12})$$

avec $\mathbf{X} = [x, y]^T$. Cette expression permet de calculer la force de diélectrophorèse appliquée à une particule en fonction de ses propriétés, de sa position et du vecteur de commande \mathbf{U} .

Le terme \mathbf{P} est calculé en utilisant le modèle de calcul du champ électrique par série de Fourier présenté section II.3.2.2 ainsi que le logiciel MyDep pour déterminer C_{DEP} . L'équation (III.11) permet ensuite de calculer la force de diélectrophorèse. Ce modèle de la force de diélectrophorèse est appelé DFSM dans la suite du manuscrit.

Afin de valider la pertinence de ce modèle analytique, celui-ci a été comparé à un modèle par éléments finis (FEM) calculé en utilisant le logiciel COMSOL Multiphysics®. Le cas d'étude choisi considère un plan d'électrodes parallèles respectant les contraintes géométriques définies en équation II.16. Les paramètres utilisés sont définis dans le tableau III.1.

Le résultat du calcul de la force de diélectrophorèse selon l'axe \vec{x} calculé par le modèle de la force de diélectrophorèse DFSM basé sur le modèle de calcul du champ électrique par séries de Fourier est représenté figure III.2a. Le rectangle gris représente l'électrode alimentée avec une tension de 3 V. Les couleurs représentent la valeur de la force de diélectrophorèse suivant \vec{x} . Une particule dans une région violette subit une force négative induisant un déplacement vers la gauche. Le phénomène inverse se produit dans les régions jaunes. Cette figure montre que

TABLE III.1 – Définition des paramètres utilisés pour les simulations

Paramètre	Notation	Valeur
largeur électrodes	l_{elec}	10 μm
espacement électrode	δ_{elec}	10 μm
nombre d'électrodes	N_e	16
longueur série de Fourier	P_f	$2.N_e$
diamètre particule	a	10 μm
densité particule	ρ_p	1.050
densité milieu	ρ_m	1
permittivité milieu	ε_m	78
conductivités milieu	σ_m	0.2 S m^{-1}
partie réelle Claussius-Mossotti	$Re[K(\omega)]$	-0.5
fréquence du champ électrique	f_{Hz}	50 kHz

la diélectrophorèse éloigne la particule des zones où la norme du champ électrique est élevée (représentées par les rectangles rouges sur la figure). La [figure III.2b](#) montre la différence entre la norme de la force de diélectrophorèse calculée par les deux modèles. Les couleurs montrent l'erreur entre les deux modèles en pour cent. Une valeur négative signifie que le modèle DFMS surestime la force. Les flèches représentent l'orientation de la force de diélectrophorèse. Les flèches noires représentent la direction calculée par le modèle basé sur le FSM et les flèches rouges celle calculée par le FEM. Des erreurs importantes apparaissent dans des zones particulières, mais peu utiles pour la manipulation. En effet, ces zones sont soit très proches des électrodes ou dans des régions où la norme de la force de diélectrophorèse est très faible, inférieure à $1e^{-14} N$. Dans la majorité de l'espace de travail, l'erreur est inférieure à 20% en termes de norme de la force de diélectrophorèse. Les directions calculées sont également cohérentes avec une erreur moyenne inférieure à 10° sur tout le plan. Ces observations sont en accord avec les performances du modèle basé sur les séries de Fourier dont la précision en termes de norme du champ électrique a été étudiée section [II.3.2.3](#).

III.1.3 Expression du modèle direct

En reprenant l'équation [\(III.3\)](#) et la définition des différentes forces (équation [III.4](#), [III.5](#), [III.11](#)), l'équation du mouvement devient :

$$\vec{0} = \mathbf{F}_{b+g} + \mathbf{D}\dot{\mathbf{X}} + \mathbf{U}(t) \cdot \mathbf{P} \cdot \mathbf{U}^T \quad (\text{III.13})$$

$$\implies \dot{\mathbf{X}} = -\mathbf{D}^{-1}(\mathbf{F}_{b+g} + \mathbf{U}(t) \cdot \mathbf{P} \cdot \mathbf{U}^T) \quad (\text{III.14})$$

L'équation [III.14](#) et la [figure III.1](#) définissent le modèle direct. En effet, connaissant la position initiale de la particule et le vecteur de commande \mathbf{U} , elle permet de calculer la vitesse de la particule et donc son déplacement par unité de temps Δt .

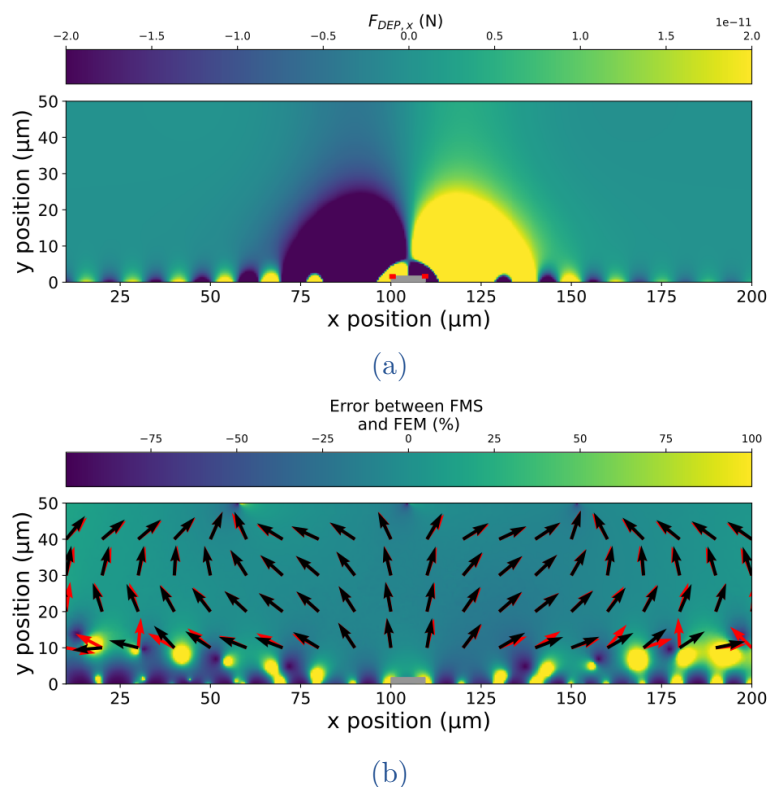


FIGURE III.2 – Comparaison des force de diélectrophorèse calculées par les modèles DFSM et FEM. Le rectangle gris représente l'électrode alimentée avec un potentiel de 3 V. Les autres électrodes (non représentées) sont à un potentiel de 0 V. Les rectangles rouges représentent les lieux de concentration du champ électrique. (a) Représente la norme de la force de diélectrophorèse suivant l'axe \vec{x} calculée par le modèle de calcul de la force de diélectrophorèse DFSM basé sur le modèle de calcul du champ électrique par séries de Fourier. Une particule positionnée dans une région violette subira une force de diélectrophorèse négative suivant l'axe \vec{x} , induisant un déplacement vers la gauche. L'inverse se produira dans une région tendant vers le jaune. (b) est le résultat de la comparaison entre la force de diélectrophorèse calculée par le modèle DFSM basé sur le modèle de calcul du champ électrique par séries de Fourier et par COMSOL Multiphysics®.

Les couleurs représentent l'erreur entre les deux modèles en %. Une valeur négative, en violet, signifie que le FSM surestime la force de diélectrophorèse. Les flèches représentent l'orientation de la force de diélectrophorèse. Les flèches noires représentent l'orientation calculée par le modèle (DFSM) basé sur le modèle de calcul du champ électrique par séries de Fourier et les flèches rouges, celle calculée par éléments finis (FEM).

III.2 MODÈLE INVERSE, DU DÉPLACEMENT AU VECTEUR DE COMMANDE

La partie précédente a permis de définir un modèle permettant de calculer le déplacement d'une particule connaissant sa position initiale et le vecteur de commande \mathbf{U} . Pour pouvoir déplacer de manière contrôlée une particule, il est nécessaire d'avoir un modèle calculant le vecteur de commande à appliquer pour générer un déplacement voulu. Ce modèle est appelé modèle inverse. L'objectif est ainsi de résoudre l'équation quadratique III.13 page 55 avec \mathbf{U} comme inconnue.

Ce modèle est destiné à déplacer des cellules biologiques sensibles au champ électrique (II.1.2 page 28). Il est donc nécessaire de considérer la norme du champ électrique $|E|$ comme contrainte. Celle-ci ne doit pas dépasser $|E_{max}|$ correspondant à un potentiel traversant la membrane de la cellule pouvant induire le phénomène d'électroporation.

Une première partie du modèle inverse, appelée "modèle dynamique inverse", consiste à calculer \mathbf{F}_{b+g} et \mathbf{F}_{drag} à partir de la position de la particule et à renvoyer la force F_{DEP} nécessaire pour induire le déplacement voulu. La deuxième partie du modèle inverse concerne le calcul du vecteur de commande \mathbf{U} pour générer la force de diélectrophorèse voulue. La figure III.3 présente ce modèle inverse sous forme d'un schéma bloc.

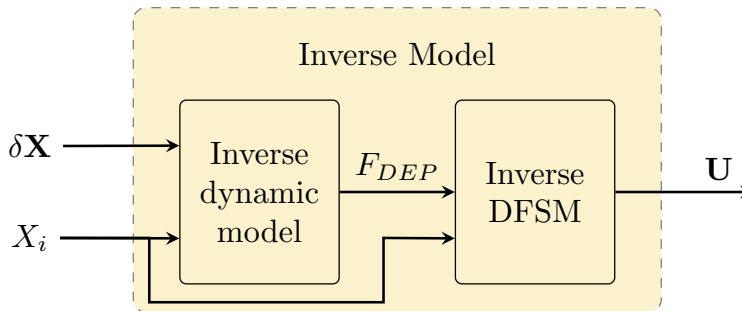


FIGURE III.3 – Représentation sous forme d'un schéma bloc du modèle inverse.

Le modèle inverse ne peut pas être calculé de manière analytique pour plusieurs raisons. Tout d'abord, \mathbf{U} est un vecteur de dimension N_e , le nombre d'électrodes considérées dans le système. Ces N_e paramètres d'actionnements induisent des redondances. Cela signifie que pour une force donnée \mathbf{F}_{DEP} , il existe plusieurs \mathbf{U} solutions de l'équation III.11. De plus, pour des raisons physiques, la valeur de la tension applicable à chaque électrode est limitée à une amplitude maximale U_{max} . Cette saturation ajoute une non-linéarité supplémentaire à celle inhérente à la force de diélectrophorèse dépendant quadratiquement de la tension \mathbf{U} .

L'inversion de ce modèle est donc réalisée de manière numérique en utilisant une méthode d'optimisation. En se basant sur des travaux similaires menés par de Michálek *et al.* [Michálek 15], l'algorithme de recuit simulé semble être un des

plus adaptés à cette problématique. Parmi les algorithmes qu'ils ont testés, il est le plus précis et le deuxième plus rapide (Table 5.1 [Michálek 15]). La suite de cette section étudie l'utilisation du recuit simulé pour inverser le modèle de calcul de la force de diélectrophorèse en se basant sur le modèle de calcul du champ électrique par séries de Fourier (inverse DFSM).

III.2.1 Algorithme de recuit simulé

Le recuit simulé est une méthode d'optimisation itérative inspirée du processus de recuit utilisé en métallurgie. Il permet de minimiser une fonction de coût $f_{cost} = N_{rj}$ représentant l'énergie d'un système. Le système est considéré dans un état initial avec une température initiale T_i et une énergie initiale N_{rj_i} . À chaque itération, une modification faible et aléatoire est apportée à l'état du système. Cette modification entraîne une variation de l'énergie ΔN_{rj} calculée par l'intermédiaire de la fonction de coût f_{cost} . Si cette variation d'énergie est négative, *i.e.* le système se rapproche de l'état souhaité, la modification est retenue et l'état du système évolue. Si cette variation d'énergie est positive, la modification est retenue avec une probabilité suivant la règle de Métropolis $e^{-\Delta N_{rj}/T}$ avec T la température actuelle du système. La température du système est ensuite actualisée en suivant une loi de décroissance $T = T_i e^{-t \cdot \beta}$ où t est le numéro de l'itération actuelle et β un coefficient permettant de contrôler la vitesse de décroissance. L'algorithme s'arrête lorsque l'énergie du système est en dessous d'une limite fixée $N_{rj} < \epsilon_{stop}$, ou quand la température du système a atteint une certaine valeur $T < T_{final}$. La première condition définit la précision souhaitée alors que la deuxième permet de limiter le nombre d'itérations et donc le temps de calcul maximal.

Pour résoudre l'équation III.11 avec l'algorithme de recuit simulé, l'état du système est représenté par \mathbf{U} . À chaque itération, le potentiel appliqué sur une électrode est modifié. Le choix de l'électrode et la variation de tension sont aléatoires. La fonction de coût est définie comme dépendante de \mathbf{U} et de la norme du champ électrique avec :

$$f_{cost}(\mathbf{U}) = (\alpha_x \Delta F_x + \alpha_y \Delta F_y) + Flag_{|E|} \quad (\text{III.15})$$

où

$$\Delta F_x = (\mathbf{F}_{DEP} - \mathbf{F}(\mathbf{U})) \cdot \vec{x} \quad (\text{III.16})$$

$$\Delta F_y = (\mathbf{F}_{DEP} - \mathbf{F}(\mathbf{U})) \cdot \vec{y} \quad (\text{III.17})$$

α_x et α_y sont des coefficients permettant de pondérer l'importance de l'erreur suivant chaque axe. \mathbf{F}_{DEP} est la force de diélectrophorèse souhaitée. $\mathbf{F}(\mathbf{U})$ représente la force de diélectrophorèse générée par le vecteur \mathbf{U} actuel. Cette valeur est calculée en utilisant le modèle défini section III.1.2.

$Flag_{|E|}$ est un terme permettant de contraindre la norme du champ électrique $|E|$ afin que celle-ci ne dépasse jamais une valeur maximale $|E|_{max}$. Cette contrainte permet de s'assurer que les cellules manipulées ne seront pas soumises à des champs

électriques pouvant les endommager. Ce terme de pénalité défini par :

$$Flag_{|E|} = \begin{cases} 2.\epsilon_{stop} & \text{si } |E| > |E|_{max} \\ 0 & \text{sinon.} \end{cases} \quad (\text{III.18})$$

L'énergie du système représente ici l'erreur entre la force de diélectrophorèse souhaitée et celle générée par \mathbf{U} . L'algorithme optimise donc \mathbf{U} pour générer une force de diélectrophorèse proche de la force de diélectrophorèse souhaitée tout en s'assurant que la norme du champ électrique ne dépasse pas $|E|_{max}$.

III.2.2 Étude paramétrique du recuit simulé

Le recuit simulé est un algorithme d'optimisation donnant une solution approchée. Ces performances sont contraintes par le paramètre ϵ_{stop} . L'impact de ce paramètre en termes de précision et de temps de calcul est analysé ici. Cette étude consiste à fixer les autres paramètres de manière empirique :

- $\beta = 10^{-4}$
- $T_{final} = 0.1$
- $\alpha_x = 2/3$
- $\alpha_y = 1/3$

puis, d'effectuer des simulations pour chaque valeur

$$\epsilon_{stop} \in [10^{-15}, 10^{-14}, 10^{-13}, 10^{-12}] \quad (\text{III.19})$$

et pour différents déplacements. Pour chaque simulation, le temps de calcul permettant d'obtenir la solution et l'erreur générée par cette solution sont mesurés. Pour ces simulations, le système choisi est composé d'un plan d'électrodes parallèles respectant les contraintes géométriques définies équation (II.16 page 41) avec seize électrodes de largeur $l_{elec} = 10\mu\text{m}$. Les conditions limites sont définies section II.3.2.2 page 41. Les paramètres utilisés pour l'étude sont définis tableau III.1 page 55 avec $\rho_p = 2.230$.

Les résultats sont présentés dans la figure III.4. Cette figure représente l'erreur moyenne entre la position souhaitée et la position finale obtenue ainsi que l'écart type de cette erreur en fonction de ϵ_{stop} . Elle représente également le temps moyen de calcul ainsi que l'écart type en fonction de ϵ_{stop} sur le second axe des ordonnées. Ce graphique montre qu'un compromis entre le temps de calcul et la précision est nécessaire. Plus ϵ_{stop} diminue, plus l'algorithme a besoin d'itérations pour converger, ce qui se traduit par un temps de calcul plus long. À l'inverse, plus ϵ_{stop} augmente, plus le temps de calcul diminue au détriment de l'erreur qui augmente. Cette analyse a permis d'identifier que pour $\epsilon_{stop} = 10^{-14}$, l'erreur générée par l'approximation du recuit simulé est inférieure $0.05\mu\text{m}$ avec un temps de calcul inférieur à 2ms. Cette valeur sera donc retenue pour la suite de cette section.

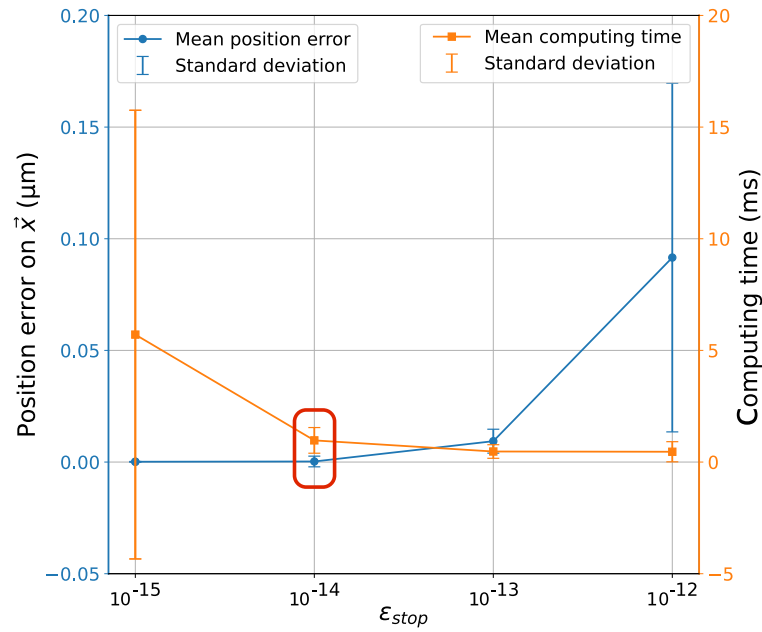


FIGURE III.4 – Résultat de l’analyse de l’impact du paramètre ϵ_{stop} sur la précision et le temps de calcul du modèle inverse. Un compromis entre la précision et le temps de calcul est nécessaire. Il en ressort que $\epsilon_{stop} = 10^{-14}$ est une valeur permettant une précision inférieure à $0.05 \mu\text{m}$ avec un temps de calcul inférieur à 2 ms

III.2.3 Bilan

Le modèle inverse est composé de deux modèles, un premier appelé “modèle dynamique inverse”, permettant à partir des contributions des forces \mathbf{F}_{b+g} et \mathbf{F}_{drag} de calculer \mathbf{F}_{DEP} . Un second modèle, appelé “modèle DFSM inverse”, calcule le vecteur \mathbf{U} à partir de \mathbf{F}_{DEP} . Ce fonctionnement est résumé sous forme de schéma bloc figure III.3. Ce modèle permet de calculer en deux millisecondes le vecteur de commande permettant d’induire le déplacement souhaité avec une précision inférieure à $0.05 \mu\text{m}$. Ce modèle inverse est donc adapté pour réaliser des algorithmes de commande en temps réel tels que de la commande en boucle ouverte ou en boucle fermée. La prochaine section utilise ce modèle inverse pour réaliser en simulation des suivis de trajectoire en boucle ouverte et étudier le comportement du modèle.

III.3 SIMULATION DE COMMANDE EN BOUCLE OUVERTE

Cette section a pour but de valider par simulation le modèle inverse développé section III.2 tout en analysant les performances d'une commande en boucle ouverte. Un simulateur a donc été codé en C++. Il émule une commande en boucle ouverte avec un calcul en ligne du modèle inverse. L'entrée du simulateur, en plus des paramètres du système, des propriétés du milieu, de la particule, et la position initiale de la particule \mathbf{X}_i est une suite de déplacements formant une trajectoire $\delta\mathbf{X}^c$. À chaque période d'échantillonnage, le modèle inverse est utilisé pour calculer le vecteur de commande \mathbf{U} permettant d'engendrer le déplacement souhaité. Ce vecteur est ensuite utilisé comme entrée du modèle direct permettant de simuler le déplacement de la particule. Lors de cette étape, des perturbations peuvent être ajoutées pour étudier la robustesse du contrôle. Ce simulateur est présenté sous forme d'un schéma bloc figure III.5. Comme la position initiale de la particule \mathbf{X}_i est un paramètre constant nécessaire à tous les éléments du schéma, celui-ci a été enlevé pour simplifier la lisibilité.

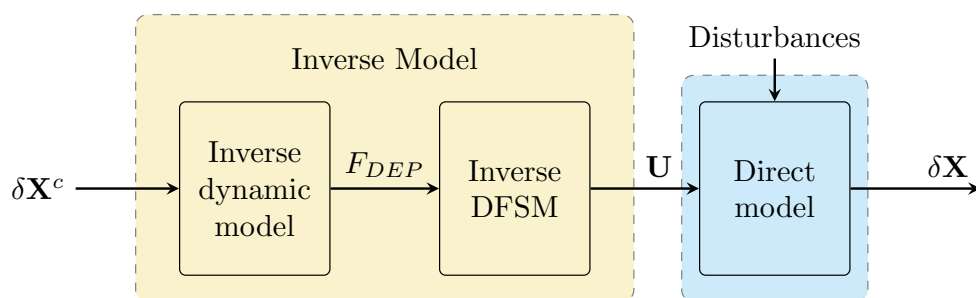


FIGURE III.5 – Représentation sous forme d'un schéma bloc du simulateur permettant d'émuler un suivi de trajectoire en boucle ouverte. Comme la position initiale de la particule \mathbf{X}_i est un paramètre constant que tous les éléments présents dans le schéma doivent connaître, celui-ci a été enlevé pour simplifier la lisibilité.

La validation du modèle inverse et du suivi de trajectoire est effectuée à travers trois simulations. Deux simulations de suivi de trajectoire sans perturbation pour vérifier la convergence de l'algorithme et étudier les solutions trouvées, puis, une pour analyser l'impact de perturbations.

III.3.1 Étude de suivis de trajectoire

Le simulateur est ici utilisé pour valider le contrôle en boucle ouverte basé sur le modèle inverse permettant de réaliser un suivi de trajectoire.

III.3.1.1 Analyse d'une trajectoire à faible vitesse

La trajectoire de référence est une trajectoire en dent de scie d'amplitude $40\ \mu\text{m}$ avec une vitesse constante de $60\ \mu\text{m s}^{-1}$ selon l'axe \vec{x} . La trajectoire à suivre sur l'axe \vec{y} est une altitude constante. Les paramètres du système et de la particule sont définis tableau III.1 page 55. En accord avec l'étude section III.2.2 page 59 sur l'algorithme de recuit simulé, la fréquence d'échantillonnage du simulateur est fixée à 160 Hz, correspondant à un temps entre deux inversions de modèle de 6.25 ms bien supérieur à 2 ms ; le temps nécessaire au modèle inverse pour trouver une solution suivant cette étude.

La figure III.6 est le résultat de la simulation. La sous-figure :

- (a) montre l'évolution du potentiel appliqué sur les électrodes les plus proches de la particule. Cette figure montre que le potentiel permettant d'obtenir ce déplacement est relativement faible, inférieur à 3 V. La variation des tensions appliquées à chaque itération et l'absence de périodicité dans les signaux, pour réaliser le suivi d'une trajectoire périodique, montre la redondance présente dans le système.
- (b) décrit l'évolution de la force de diélectrophorèse générée sur la particule suivant les deux axes. Suivant l'axe \vec{x} , une force constante génère une vitesse constante.
- (c) représente la trajectoire suivie par la particule ainsi que la trajectoire de référence suivant les deux axes. La trajectoire en dent de scie, avec ses discontinuités, permet de mettre en évidence que l'inertie est négligeable. La trajectoire suivie par la particule et celle de référence sont très proches, ce qui permet de confirmer la convergence et l'efficacité de ce modèle inverse pour cette tâche.
- (d) détaille la force de diélectrophorèse dans le plan généré à $t = 0.48\ \text{s}$. La figure supérieure montre la force suivant l'axe \vec{x} , alors que la figure inférieure représente la force suivant l'axe \vec{y} . Cette figure fait ressortir la complexité du champ de force de diélectrophorèse qu'il est possible de générer dans le plan. La figure inférieure met en avant la possibilité de générer des zones où la force de diélectrophorèse a pour effet d'attirer la particule vers le plan d'électrode (bulles violettes).

La diélectrophorèse négative a pour effet d'éloigner les objets des lieux de concentration du champ électrique. La figure III.2 montre que la concentration du champ électrique se produit au bord des électrodes. Ainsi, avec des électrodes coplanaires dans le plan (O, x, z) , la force de diélectrophorèse devrait éloigner les particules de ce plan, donc du plan d'électrodes. Or, la figure III.6(c) montre qu'il est possible de générer une force de diélectrophorèse ayant pour effet de rapprocher la particule du plan d'électrodes (bulles violettes, figure inférieure). Cela est possible grâce à la redondance de l'actionnement liée aux nombreuses électrodes. Chaque électrode contribue à la force de diélectrophorèse. La contribution

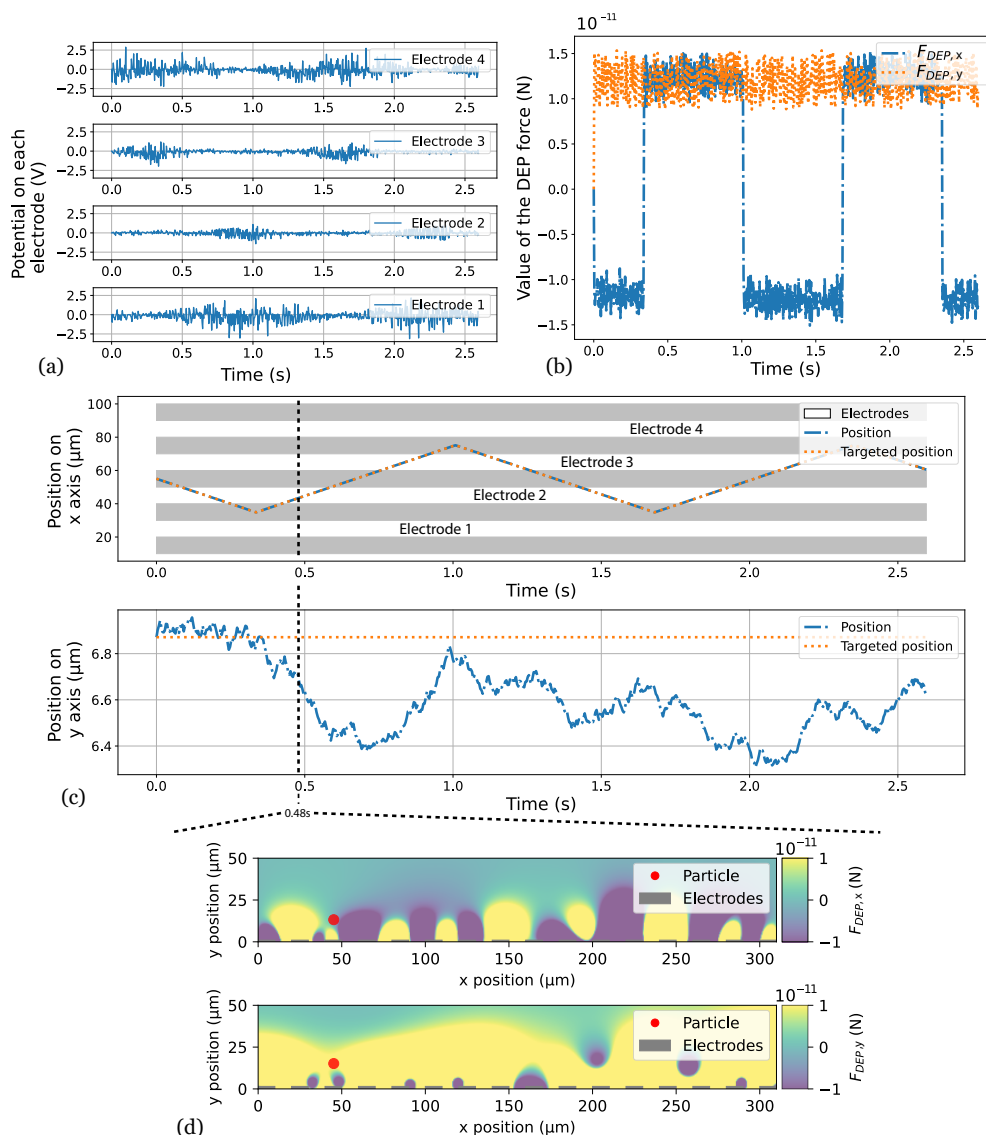


FIGURE III.6 – Simulation de suivi de trajectoire en boucle ouverte sans perturbation. La période d'échantillonnage est de 160 Hz. (a) Décrit l'évolution des tensions appliquées sur les électrodes proches de la particule déplacée. (b) représente la force de diélectrophorèse appliquée à la particule au cours de la simulation. (c) compare la trajectoire de référence et la trajectoire suivie par la particule lorsque les vecteurs de commande \mathbf{U} calculés par le modèle inverse sont successivement appliqués. (d) est une image à $t=0.48\text{s}$ du champ de force de diélectrophorèse dans le plan suivant les deux axes. Les parties jaunes représentent des régions avec une force de diélectrophorèse positive tandis que les parties en violet représentent celles avec une force diélectrophorèse négative. Cette image montre que le système est fortement non-linéaire.

de chaque électrode est locale et décroît avec la distance par rapport à l'électrode. En tirant parti de ce phénomène, il est possible de générer des champs de forces de diélectrophorèse complexe permettant un contrôle dans le plan (O, x, y) .

III.3.1.2 Analyse d'une trajectoire à haute vitesse

La trajectoire de référence utilisée est une trajectoire sinusoïdale d'amplitude $70 \mu\text{m}$ crête à crête avec une vitesse maximale de $375 \mu\text{m s}^{-1}$ suivant l'axe \vec{x} . Suivant l'axe \vec{y} , la trajectoire à suivre est également une trajectoire sinusoïdale d'amplitude $6 \mu\text{m}$. Les paramètres utilisés sont spécifiés dans le tableau III.1 page 55 à l'exception de la densité de la particule qui est ici $\rho_p = 1.025$.

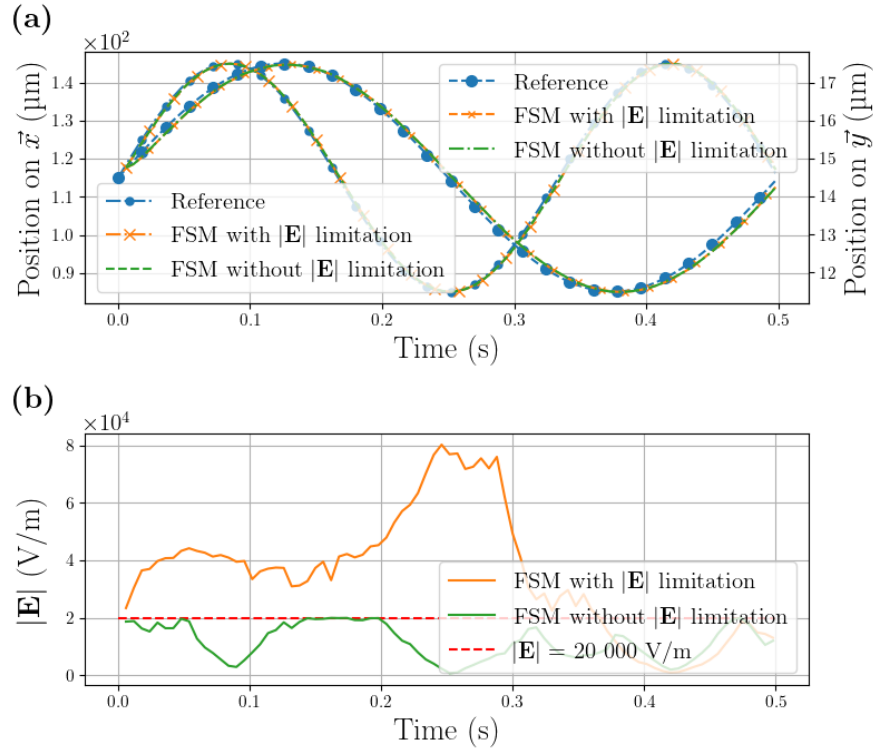


FIGURE III.7 – Simulation de suivi de trajectoire en boucle ouverte sans perturbation. (a) compare les trajectoires de référence et les trajectoires suivies par une particule avec et sans limites de la norme du champ électrique. (b) Représente la norme du champ électrique à la position de la particule pour chaque itération. La ligne horizontale rouge montre la limite $|E_{max}|$ implémentée dans l'algorithme de recuit simulé. Cette figure met en avant le fonctionnement de la saturation de la norme du champ électrique.

La figure III.7 montre en :

- (a) les trajectoires de référence et les trajectoires simulées suivant les deux axes avec et sans limitation de la norme du champ électrique. La précision a ici diminué par rapport à la simulation précédente due à la vitesse six fois plus élevée suivant l'axe \vec{x} . Cependant l'erreur maximum en position est inférieure à $1 \mu\text{m}$. La trajectoire suivant l'axe \vec{y} et également une sinusoïde qui est suivie par la particule. Cette figure met en avant la possibilité de contrôler la trajectoire suivant les deux axes. Enfin, les courbes représentant la trajectoire

suivie par les particules avec et sans limitation du champ électrique sont identiques, montrant que même à des vitesses élevées cette limitation n'a pas d'impact sur la trajectoire suivie.

- (b) l'effet de la contrainte sur la norme du champ électrique représentée dans la fonction de coût de l'algorithme de recuit simulé (équation III.15 page 58) par le paramètre $Flag_E$. La valeur maximale $|E_{max}| = 20\,000 \text{ V m}^{-1}$ a été choisie à partir de l'équation (II.4 page 30) en considérant les propriétés d'un lymphocyte T défini en section IV.1.1.2 page 81. La valeur fixée n'est jamais excédée lors du suivi de trajectoire lorsque la limitation du champ électrique est utilisée. Cependant, quand cette limitation n'est pas présente, la norme du champ électrique atteint des valeurs pouvant être quatre fois plus élevées.

Ces deux simulations permettent de valider les performances du modèle inverse pour être utilisé dans un algorithme de contrôle. Elles ont montré la possibilité de contrôler une particule suivant deux dimensions, avec une erreur inférieure au micromètre, tout en limitant la norme du champ électrique à la position de la particule. La prochaine section a pour but d'étudier la sensibilité du suivi de trajectoire à des imprécisions sur des paramètres de la particule.

III.3.2 Sensibilité aux erreurs d'estimations des paramètres

Les cellules sont des objets biologiques avec des propriétés hétérogènes. En effet, parmi une même population de cellules, il y a une variation de diamètre, de forme et de densité. Cette partie a pour but d'étudier la sensibilité du modèle aux mauvaises estimations des propriétés des particules. Une mauvaise estimation de ces paramètres a pour effet d'altérer le calcul des forces en jeu qui dépendent des propriétés des particules manipulées. Cela a pour conséquence une mauvaise estimation par le modèle de la position. Comme le modèle inverse dépend de la position de la particule et de ses propriétés, la force de diélectrophorèse est optimisée pour générer la force nécessaire souhaitée à une mauvaise position et pour un objet avec d'autres propriétés. Comme le contrôle de trajectoire est en boucle ouverte, donc sans retour sur l'état du système, les erreurs s'accumulent avec le temps. Cela peut engendrer une perte du contrôle de la particule après un certain nombre d'itérations.

Pour étudier ce phénomène, des simulations ont été effectuées pour observer l'effet d'une erreur d'estimation de la densité de la particule déplacée. La trajectoire de référence est une composition de sinusoides et de trajectoire en dent de scie suivant l'axe \vec{x} et une altitude constante suivant \vec{y} . Toutes les tensions sont calculées pour qu'une particule p_1 de densité ρ_p suive la trajectoire. Le déplacement induit par ces tensions est ensuite calculé pour une particule p_1 de densité ρ_p et pour une particule p_2 dont la densité est $\rho_p + \varepsilon_\rho$. Ces simulations ont été effectuées pour différentes valeurs de densité effective $\Delta_\rho = \rho_p - \rho_m$, représentant la différence de

densité entre la particule et le milieu dans lequel celle-ci est immergée. Il a été considéré que le milieu avait une densité proche de l'eau, ainsi $\rho_m = 1$, et que $\rho_p \in [1.01, 2]$ représentant des particules avec une densité comprise entre celle des cellules et du verre.

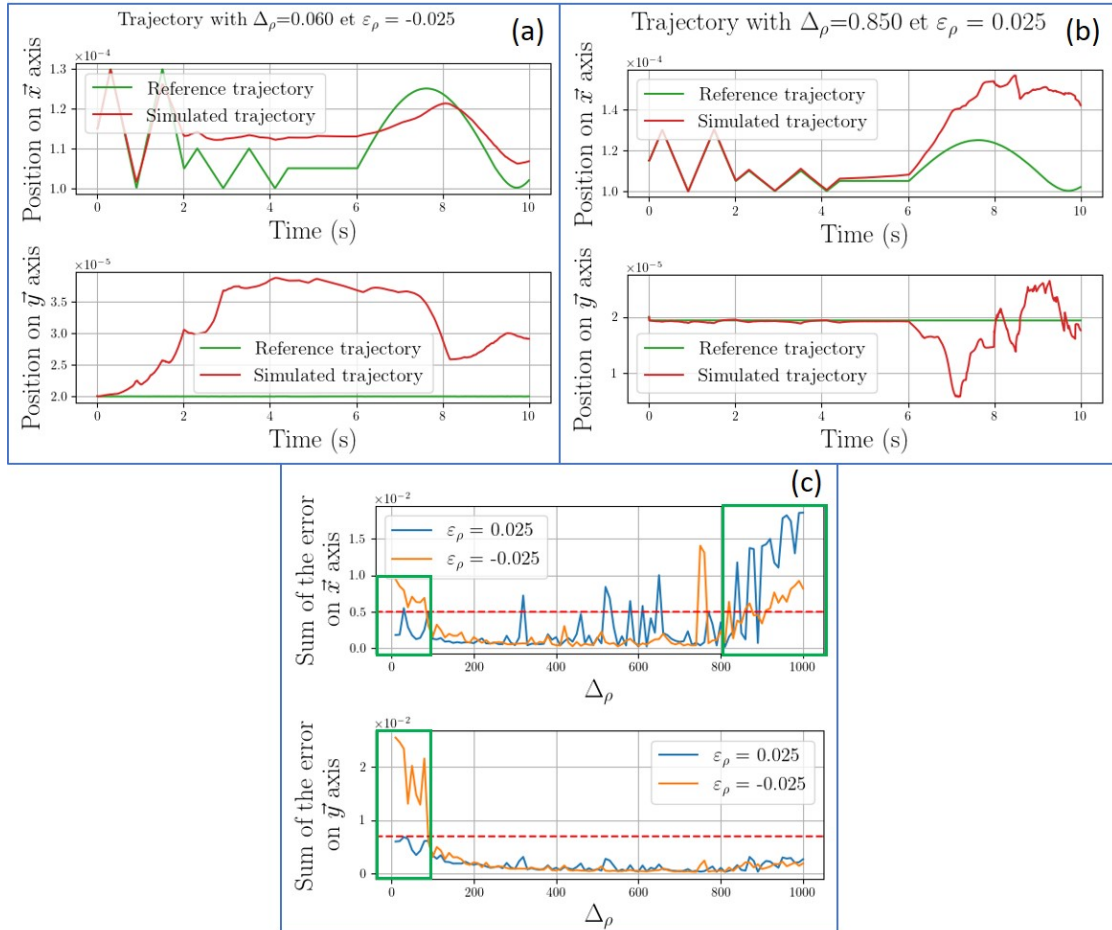


FIGURE III.8 – (a) montre la trajectoire de référence et la trajectoire suivie pour une erreur sur la densité de -0.025 avec une différence de densité entre le milieu et la particule $\Delta\rho = 0.060$. (b) montre la trajectoire de référence et la trajectoire suivie pour une erreur sur la densité de 0.025 avec une différence de densité entre le milieu et la particule $\Delta\rho = 0.850$. (c) représente l'erreur accumulée au cours du suivi de trajectoire entre la trajectoire de référence et la trajectoire suivie par la particule dont la densité est erronée. La partie supérieure représente cette somme de l'erreur suivant l'axe \vec{x} . La partie inférieure représente la somme de l'erreur suivant \vec{y} . Les traits horizontaux rouges représentent la valeur à partir de laquelle le contrôle de la trajectoire est perdu.

Les résultats de cette étude sont présentés figure III.8.

La figure III.8(a) montre le résultat de la simulation pour $\varepsilon_\rho = -0.025$ et une différence de densité entre le milieu et la particule $\Delta_\rho = 0.060$. La courbe verte représente la trajectoire de référence suivie par la particule de référence p_1 . La courbe rouge représente la trajectoire suivie par la particule p_2 . La particule suit la trajectoire pendant environ deux secondes suivant l'axe \vec{x} . En même temps, la particule s'élève jusqu'à atteindre une altitude où elle n'est plus affectée par la force de diélectrophorèse. Cela induit une perte du suivi de la trajectoire. Cette figure montre que dans le cas de particule avec un faible Δ_ρ , il est nécessaire de contrôler précisément l'altitude.

La figure III.8(b) montre le résultat de la simulation pour $\varepsilon_\rho = 25$ et une différence de densité entre le milieu et la particule $\Delta_\rho = 800$. La particule suit la trajectoire pendant environ six secondes suivant l'axe \vec{x} avec une altitude correcte. À six secondes, l'erreur accumulée suivant l'axe \vec{x} n'est plus négligeable. La force de diélectrophorèse suivant l'axe \vec{y} ne contre plus la gravité et l'altitude de la particule diminue. Ce phénomène se produit jusqu'au moment où la particule est proche d'une électrode, région où la force de diélectrophorèse croit fortement. Cela a pour effet d'expulser la particule de la trajectoire suivant l'axe \vec{x} . Une fois la particule expulsée, la différence entre la position théorique et réelle est trop grande, induisant une perte du suivi de trajectoire. Cette figure montre que dans le cas de particule avec une grande densité effective Δ_ρ , il est nécessaire de contrôler précisément la position suivant \vec{x} , pour éviter ce phénomène.

La figure III.8(c) représente l'erreur accumulée au cours du suivi de trajectoire entre la trajectoire de référence et la trajectoire suivie par la particule p_2 , pour différentes valeurs de densité effective Δ_ρ . La partie supérieure représente cette somme de l'erreur suivant l'axe \vec{x} . La partie inférieure représente la somme de l'erreur suivant \vec{y} . Les traits horizontaux rouges représentent la somme d'erreur à partir de laquelle le contrôle de la trajectoire est perdu. Il ressort de cette simulation que le contrôle de trajectoire est très sensible aux imprécisions sur la densité pour des valeurs de densité effective $\Delta_\rho < 0.130$ et $\Delta_\rho > 0.800$ représentées par des rectangles verts sur la figure. Cependant, le phénomène engendrant la perte de contrôle est différent pour $\Delta_\rho < 0.130$ et $\Delta_\rho > 0.800$ comme évoqué précédemment.

Pour $\Delta_\rho \in [130, 800]$, le suivi de trajectoire fonctionne. La densité effective de la particule est assez importante pour que la sédimentation l'empêche d'atteindre une altitude où la diélectrophorèse suivant \vec{x} est très faible, mais pas assez dense pour qu'une faible erreur suivant \vec{x} entraîne une sédimentation et une expulsion de la trajectoire.

Ces simulations mettent en avant la sensibilité du contrôle de trajectoire aux erreurs d'estimation des paramètres de la particule. Elles justifient la nécessité d'un système de contrôle en boucle fermée pour contrôler en position des particules de densité effective basse, inférieure à 130, et élevée, supérieure à 800. Elles montrent également la nécessité d'un retour d'information suivant l'axe \vec{x} pour des particules avec une densité effective élevée. Pour des particules avec une densité effective faible, un retour d'information sur l'altitude de la particule est également

nécessaire. L'étude est ici portée sur une erreur d'estimation de la densité, cependant, une erreur sur d'autres paramètres tels que le diamètre, entraînent des comportements similaires comme le montre la [figure III.9](#).

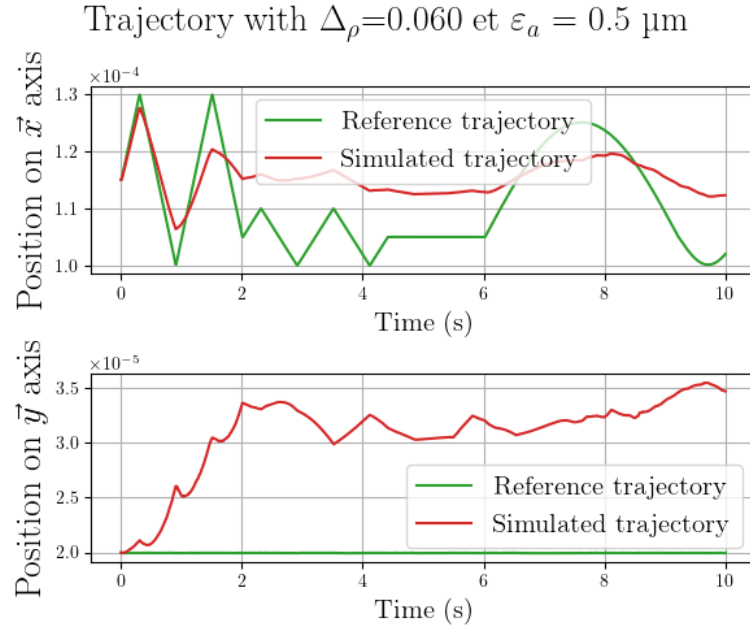


FIGURE III.9 – Résultat d’une simulation de suivi de trajectoire pour une particule de densité effective $\Delta_\rho = 0.060$ et une erreur d’estimation du rayon de la particule $\varepsilon_a = -0.5$. La courbe verte représente la trajectoire de référence. La courbe rouge représente la trajectoire suivie par la particule dont le rayon a été sur estimé.

La prochaine section définit l’algorithme de boucle fermée proposé pour le contrôle en position de lymphocytes T, une particule avec une densité effective faible.

III.4 CONTRÔLE DE TRAJECTOIRE EN BOUCLE FERMÉE

La section précédente a présenté l’étude du contrôle en boucle ouverte d’une particule micrométrique par diélectrophorèse. Les simulations présentées [figure III.8](#) montrent la nécessité d’un retour d’informations sur la position de la particule afin d’effectuer un suivi de trajectoire. Cette section présente un contrôleur en boucle fermée basée sur un retour d’information visuelle. Le but du contrôleur en boucle fermée est de prendre en compte l’évolution de la position de la cellule au cours du suivi de trajectoire afin de compenser les perturbations extérieures et les imprécisions du modèle. La [figure III.10](#) présente le principe de fonctionnement d’un contrôle en boucle fermée sous forme d’un schéma bloc simple.

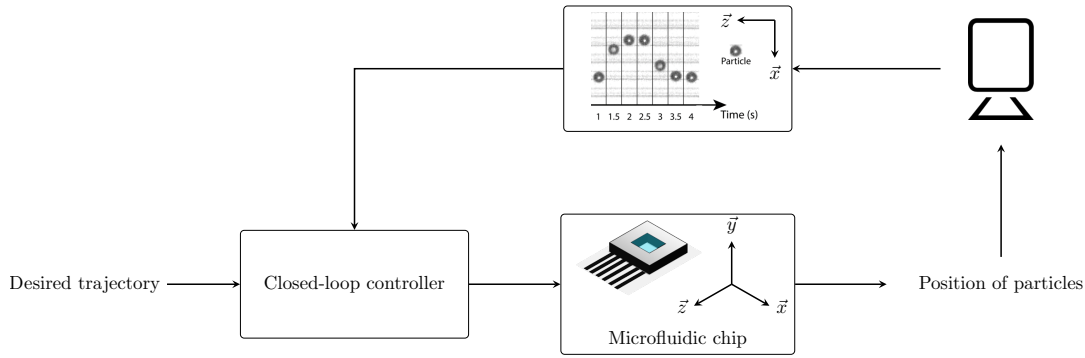


FIGURE III.10 – Principe de fonctionnement d’un contrôle en boucle fermée.

Cette section détaille l’architecture du contrôleur en boucle fermée ainsi que le fonctionnement des différents éléments le composant. Ce contrôleur est ensuite validé en simulation.

III.4.1 Architecture du contrôleur en boucle fermée

Ce contrôleur est basé sur le modèle inverse détaillé section III.2 page 57. Pour rappel, ce modèle prend comme entrée une variation de position $\delta\mathbf{X}$ et calcule \mathbf{U} , le potentiel à appliquer sur chaque électrode. Le modèle inverse est basé sur une méthode d’optimisation, le recuit simulé.

L’intérêt principal du contrôleur, en boucle fermée, réside dans la compensation des imprécisions de modélisation et des perturbations en utilisant des informations liées à l’évolution du système. À l’échelle micrométrique, l’un des défis du contrôle en boucle fermée réside dans la difficulté d’intégrer des capteurs dans le système. Dans cette thèse, l’information de position des objets micrométrique dans la puce est extraite d’images prises en vue de dessus. Cela signifie que le déplacement de la cellule est dans le plan (O, \vec{x}, \vec{y}) tandis que les images sont dans le plan (O, \vec{x}, \vec{z}) . La mesure de position suivant l’axe \vec{x} est directement extraite par un algorithme de traitement d’image. Cependant, la mesure de l’altitude suivant l’axe \vec{y} n’est pas disponible. L’altitude de la particule est reconstruite avec un observateur à partir de la mesure de la position suivant \vec{x} et de \mathbf{U} . Cet observateur se base sur l’hypothèse qu’une partie de l’erreur en position suivant \vec{x} est liée à une mauvaise estimation de l’altitude. Celle-ci est reconstruite à partir de la mesure de la position suivant \vec{x} et du modèle.

L’architecture détaillée de ce contrôleur est décrite figure III.11. La consigne est une succession de positions désirées (x_k^{des}, y_k^{des}) . Ces consignes sont comparées avec les positions observées/reconstruites $(x_{k-1}^m, \tilde{y}_{k-1}^{corr})$. Cela permet d’obtenir une première erreur analogue à un déplacement $\delta\mathbf{X}$. Une seconde erreur ε_x représentant la différence entre la position théorique et la position mesurée est calculée. Un correcteur PI (proportionnel intégral) est ensuite utilisé pour obtenir une consigne $\delta\mathbf{X}^c$ basé sur ces deux types erreurs. Cette information est ensuite utilisée comme

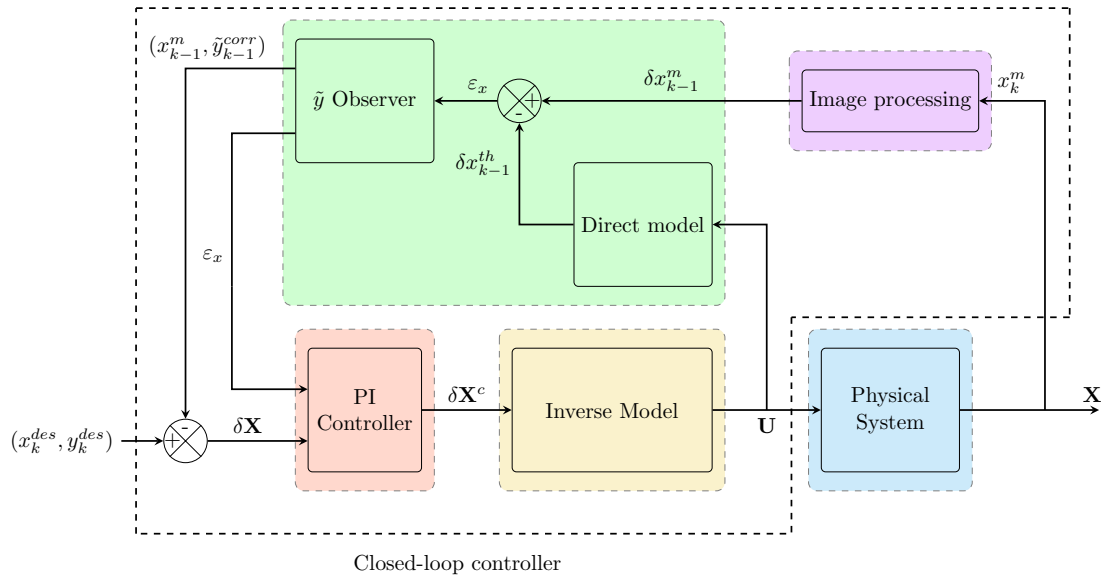


FIGURE III.11 – Schéma bloc détaillé du fonctionnement du contrôleur en boucle fermée

entrée du modèle inverse pour calculer le vecteur de commande \mathbf{U} . Ces tensions sont appliquées au système physique engendrant un déplacement de la particule. Ce mouvement est observé par caméra. Les sorties de l'observateur sont ensuite utilisées à l'itération suivante. Le cycle se répète ainsi et permet de réaliser un contrôle de trajectoire en boucle fermée.

Les prochaines parties de cette section détaillent le fonctionnement de chacun des blocs présents sur la figure III.11.

III.4.2 Traitement d'image, mesure de la position suivant \vec{x}

L'algorithme de traitement d'images utilise des algorithmes conventionnels de seuillage et de segmentation pour identifier la position de la particule dans l'image. Les positions successives sont enregistrées et utilisées pour calculer le déplacement entre deux itérations. Dans le cas de détections défectueuses, la position suivant l'axe \vec{x} est estimée par l'observateur à partir du modèle direct. Une détection est considérée comme défectueuse si la distance parcourue par la particule entre deux itérations est supérieure à un certain seuil ou si aucune cellule n'est détectée dans l'image. Les performances de cette détection sont discutées dans le chapitre suivant section IV.1.3.2 page 91 sur la base de données expérimentales.

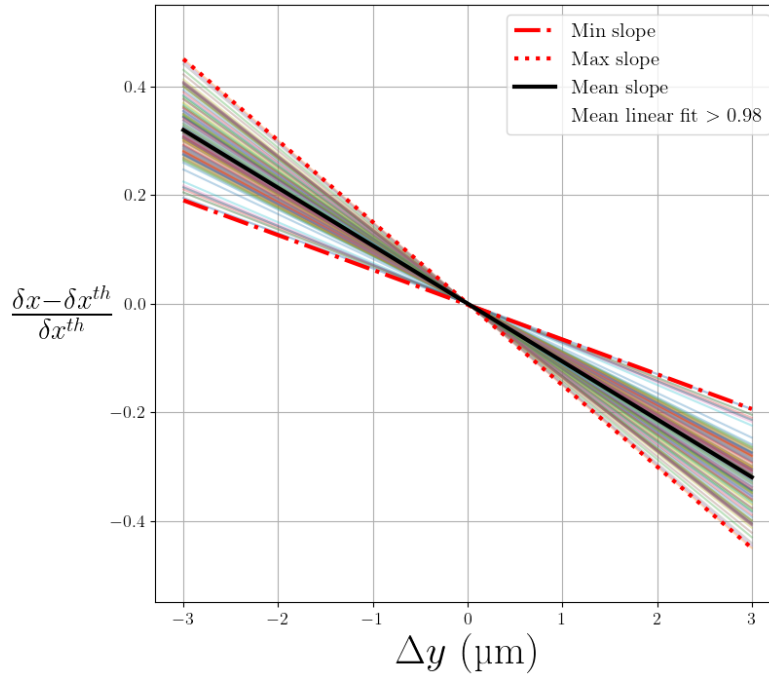


FIGURE III.12 – Analyse de l’influence de la décroissance de la force de diélectrophorèse suivant l’axe \vec{x} avec l’altitude. L’axe des abscisses représente la différence entre l’altitude à laquelle la force est calculée et l’altitude théorique.

L’axe des ordonnées représente l’erreur entre le déplacement simulé δx d’une particule et le déplacement théorique δx^{th} . Le graphique représente plus de deux cents courbes calculées pour différentes positions dans le plan et différents déplacements souhaités.

III.4.3 Observateur, reconstruction de la position suivant \vec{y}

L’altitude de la cellule ne peut être mesurée avec une image dans le plan (O, \vec{x}, \vec{z}) . Plusieurs techniques sont proposées dans la littérature pour estimer l’altitude d’une cellule dans cette configuration. L’utilisation de plusieurs sources lumineuses pour éclairer l’objet avec différents angles et l’estimation de son altitude à partir de la position de ses ombres [Gurtner 16] ou encore l’utilisation d’une seconde caméra permettant d’obtenir une image dans le plan (O, \vec{x}, \vec{y}) [Songok 14].

Le principe de l’observateur proposé dans cette thèse est de corriger l’estimation de l’altitude de la cellule \tilde{y} faite par le modèle en utilisant l’information sur l’altitude de la cellule contenue dans l’erreur mesurée sur l’axe \vec{x} .

L’erreur de position suivant l’axe \vec{x} est considérée comme étant la conséquence de deux imprécisions. La première sur les caractéristiques de la cellule et la seconde sur l’altitude estimée \tilde{y} . En effet, pour une position x donnée, la force de diélectrophorèse suivant \vec{x} décroît localement avec l’altitude. Ainsi, une cellule à une position $\mathbf{X} = [x, y]$ avec une altitude y supérieure à l’altitude théorique y^{th}

aura un déplacement δx suivant l'axe \vec{x} inférieur au déplacement théorique δx^{th} . Si la cellule à une altitude inférieure à celle théorique, elle a un déplacement suivant l'axe \vec{x} supérieur au déplacement théorique. L'erreur entre le déplacement théorique et le déplacement réel est nommée suivant l'axe \vec{x} est $\varepsilon_x = \delta x - \delta x^{th}$ (figure III.11). L'observateur exploite ce phénomène pour corriger l'estimation de l'altitude de la cellule faite par le modèle.

Pour étudier la variation de la force de diélectrophorèse suivant l'axe \vec{x} en fonction de l'altitude pour une position X et un vecteur de commande \mathbf{U} fixé, deux cent quarante jeux de données ont été créés. Ces jeux de données sont composés de plusieurs vecteurs de commande \mathbf{U} correspondant à un différent déplacement théorique $\delta \mathbf{X}^{th}$. Ils sont utilisés pour calculer l'évolution locale de la force de diélectrophorèse autour de \mathbf{X} .

Les résultats de cette étude sont présentés figure III.12. L'axe des abscisses représente la différence Δy entre l'altitude à laquelle la force est calculée et l'altitude théorique. L'axe des ordonnées représente la variation de l'erreur entre le déplacement simulé δx d'une cellule et le déplacement théorique δx^{th} . Il en résulte qu'autour du point \mathbf{X} , la variation de l'erreur relative peut être considérée comme linéaire (les régressions linéaires obtenues sont en moyenne précise à 98%). Le coefficient directeur de ces droites varie entre -0.095 et -0.15 avec une moyenne $sl_{mean} = -0.11$. Cela permet d'établir comme modèle pour l'observateur :

$$\frac{\delta x - \delta x^{th}}{\delta x^{th}} = \frac{\varepsilon_x}{\delta x^{th}} = \Delta y \cdot sl_{mean} \quad (\text{III.20})$$

L'équation III.20 est utilisée pour corriger l'altitude. En connaissant δx , mesuré par traitement d'image, et δx^{th} , calculé théoriquement, l'observateur agit comme un correcteur proportionnel sur l'altitude estimé avec un gain K_p^{corr} et permet d'estimer l'altitude avec l'équation III.21.

$$\tilde{y}^{corr} = \tilde{y} + \frac{K_p^{corr}}{sl_{mean}} \left(\frac{\varepsilon_x}{\delta x^{th}} \right) \quad (\text{III.21})$$

III.4.4 Contrôleur PI

Le contrôleur PI (proportionnel intégral) prend en entrée les deux types d'erreurs considérées, $\delta \mathbf{X}$ et ε_x . La sortie de ce contrôleur est un déplacement corrigé en fonction des erreurs antérieures. Il est défini par l'équation III.22

$$\delta \mathbf{X}^c = K_{p1} \delta \mathbf{X} + K_{p2} \varepsilon_x + K_{i1} \int \delta \mathbf{X} dt + K_{i2} \int \varepsilon_x dt \quad (\text{III.22})$$

Ce correcteur permet de régler les gains indépendamment sur chaque type d'erreur. Les résultats expérimentaux présentés en section IV.2.1 page 94 utilisent ce correcteur.

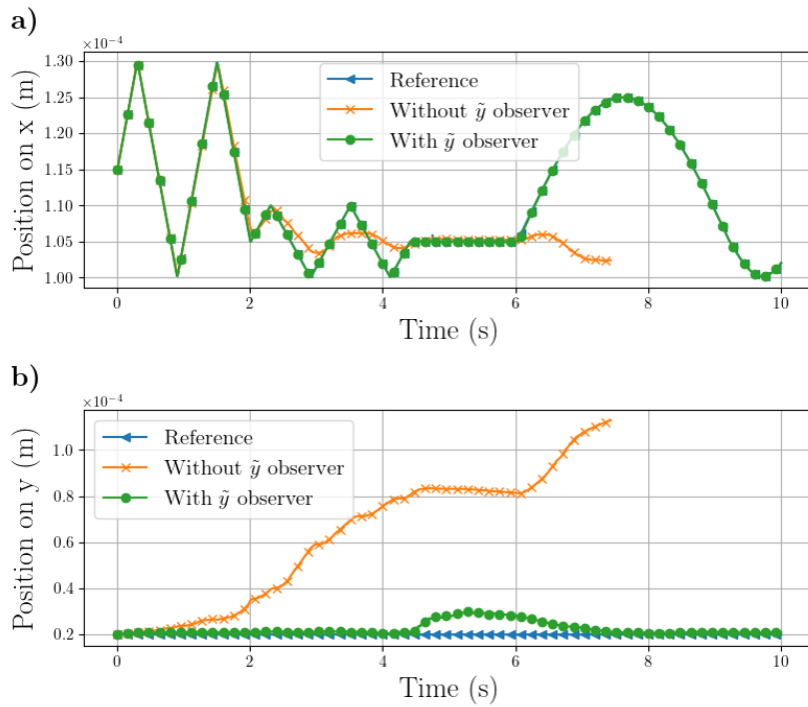


FIGURE III.13 – Simulation permettant de valider l’observateur \tilde{y} . Des erreurs sur le diamètre et la densité de la cellule ont été introduites dans la simulation. La courbe avec des triangles représente la trajectoire de référence. La courbe avec des croix représente la trajectoire suivie par une particule dont la position suivant l’axe \vec{x} est mesurée, mais la position suivant \vec{y} est uniquement estimée par le modèle. La courbe avec des points représente la trajectoire suivie par une particule dont la position suivant l’axe \vec{x} est mesurée et la position suivant \vec{y} et estimée par le modèle puis corrigée par l’observateur.

III.4.5 Simulation

La régulation en boucle fermée présentée dans cette section a été testée en simulation. Le but est de simuler le cas réel où la commande est calculée en considérant une particule théorique et est appliqué à une particule simulée dont les paramètres ne sont pas précisément connus. Une cellule théorique C_{th} dont les propriétés sont utilisées pour les calculs est définie. Une autre cellule C représentant la cellule simulée avec des propriétés légèrement différentes est également définie. Les valeurs du diamètre et de la densité de chaque cellule sont définies ci-dessous :

Le modèle inverse calcule le vecteur de commande \mathbf{U} en considérant les propriétés de la cellule C_{th} . Les déplacements $\delta\mathbf{X}$ et $\delta\mathbf{X}_{th}$ des cellules C et C_{th} engendrés par ces tensions sont calculés. Le déplacement calculé X_{th} représente le déplacement théorique alors que le déplacement de X représente le déplacement observé. Deux simulations ont été effectuées, une avec l’observateur et une sans. Les ré-

TABLE III.2 – Caractéristiques de particules simulées pour valider le contrôleur en boucle fermée

•	C	C_{th}
Densité	1.050	1.150
Rayon (μm)	5	5.75

sultats sont présentés [figure III.13](#). La trajectoire de référence est représentée par la courbe “Reference”. Les deux autres courbes représentent la trajectoire suivie par la cellule C dans les cas avec et sans observateur. La courbe représentant le déplacement sans observateur (avec des croix) suit la trajectoire de référence selon l’axe \vec{x} jusqu’à deux secondes. Ensuite, l’amplitude des déplacements diminue. La direction de la force appliquée est correcte, mais son amplitude est très faible du fait de l’altitude anormalement haute de la cellule ([figure III.13\(b\)](#)). Avec l’observateur, l’erreur est répartie entre la correction de l’estimation de l’altitude et de la trajectoire suivant l’axe \vec{x} . La trajectoire est proche de celle de référence suivant \vec{x} , suivant l’axe \vec{y} . Une erreur suivant l’axe \vec{y} apparaît lorsque le déplacement est nul suivant \vec{x} puis est compensée par la suite.

Ainsi, l’observateur utilisant la mesure de l’erreur suivant \vec{x} pour estimer l’altitude de la cellule permet en simulation de garantir le suivi de trajectoire d’une cellule malgré des imprécisions sur les paramètres physiques.

III.5 CONCLUSION

Ce chapitre définit un algorithme de contrôle en boucle fermée permettant de faire suivre des trajectoires arbitraires en deux dimensions à des objets micrométriques actionnés par diélectrophorèse. Dans un premier temps, un modèle direct permettant de calculer un déplacement $\delta\mathbf{X}$ en connaissant le vecteur de commande \mathbf{U} a été défini. Ensuite, un modèle inverse permettant de calculer le vecteur de commande à partir d’un déplacement a été proposé. Ce modèle inverse se base sur un algorithme de recuit simulé. Puis, un simulateur, basé sur le modèle inverse, permettant d’émuler des suivis de trajectoires a été défini. Il a permis de valider en simulation le contrôle de particules en boucle ouverte.

Il en résulte que le simulateur permet une fréquence d’échantillonnage de 160 Hz alors que les fréquences usuelles dans la littérature sont autour de 10 Hz pour des suivis de trajectoires basés sur des modèles analytiques. Le modèle permet de suivre une trajectoire avec des vitesses maximales de l’ordre de $300 \mu\text{m s}^{-1}$ en simulation.

Ce chapitre propose une étude sur la sensibilité du contrôle aux imprécisions sur les paramètres de l’objet manipulé. Cette étude montre la différence de comportement entre des objets de faible densité (représentant des cellules) et de densité

élevée (représentant des microbilles en verre) dans des cas où leur densité est sous-estimée ou surestimée. La perte de contrôle pour des objets de faible densité est due à une altitude trop élevée, alors que pour des objets de densité élevée, la perte de contrôle est induite par une erreur suivant l'axe horizontal. Cette étude met en évidence la nécessité d'un contrôle en boucle fermée.

Enfin un contrôleur pour réaliser un suivi de trajectoire en boucle fermée a été défini. Celui-ci est basé sur le modèle inverse, un algorithme de traitement d'image pour récupérer la position des particules suivant l'axe horizontal ainsi qu'un observateur permettant d'estimer l'altitude de la particule. L'observateur proposé dans cette thèse considère que l'information obtenue par caméra suivant l'axe horizontal contient des informations concernant l'altitude de la particule. Cet effet non-linéaire a été caractérisé et exploité pour la synthèse de l'observateur.

La commande en boucle fermée avec l'observateur a été simulée et permet de garantir un suivi de trajectoire malgré des imprécisions sur les propriétés de la particule manipulée.

Le prochain chapitre est consacré à la validation expérimentale du contrôleur proposé. Des résultats expérimentaux pour des objets en verre de densité élevée et des cellules de densité faible seront présentés.

Chapitre IV

Conception, réalisation et validation d'une plateforme expérimentale pour le suivi de trajectoire en boucle fermée

IV.1	Conception et réalisation	79
IV.1.1	Mise en place d'un environnement dédié à la manipulation de cellules biologiques	80
IV.1.1.1	Environnement de travail dédié pour la mani- pulation d'objets biologiques	80
IV.1.1.2	Cellules et microbilles	81
IV.1.1.3	Définition d'un milieu dédié au contrôle de cel- lules biologiques par diélectrophorèse	82
IV.1.1.4	Mise en place de protocoles expérimentaux	84
IV.1.2	Les puces microfluidiques	86
IV.1.2.1	Puce microfluidique avec des électrodes en or	87
IV.1.2.2	Puce microfluidique avec des électrodes en ITO	89
IV.1.3	Calcul et génération des signaux	90
IV.1.3.1	Conception matériel	90
IV.1.3.2	Algorithme de traitement d'images	91
IV.1.3.3	Validation de la plateforme expérimentale	92

IV.2	Résultats expérimentaux	94
IV.2.1	Expérience de suivi de trajectoires sur des cellules	94
IV.2.2	Expérience de suivi de trajectoires sur des microbilles	98
IV.2.3	Discussion	101
IV.3	Conclusion	103

Le chapitre précédent a permis de définir des algorithmes de commande permettant le suivi de trajectoires d'objets micrométriques par diélectrophorèse. Ces lois de commande ont été validées en simulation. Ce chapitre a pour but de présenter le dispositif expérimental conçu et réalisé au cours de cette thèse. Il s'agit, à notre connaissance, de la première plateforme expérimentale dédiée au contrôle de trajectoire de cellules biologiques en boucle fermée actionnée par diélectrophorèse. Cette plateforme est utilisée pour valider expérimentalement les lois de commande présentées au chapitre précédent.

Ce chapitre présente, dans un premier temps, une salle dédiée à la manipulation d'objets biologiques mise en place au cours de cette thèse. Une étude sur la confection d'un milieu utilisable pour la diélectrophorèse et compatible avec la manipulation de cellules ainsi que les objets micrométriques utilisés pendant les expériences sont présentés. Ensuite, la conception et la réalisation de puces microfluidiques répondant au double objectif de la commande en boucle fermée et de la manipulation de cellules biologiques sont présentées. Puis, la plateforme expérimentale est décrite en détaillant l'implémentation de la commande en boucle fermée et la génération des signaux.

Enfin, plusieurs contrôles de trajectoire réalisés sur des objets variés valident expérimentalement les résultats obtenus en simulation du chapitre précédent. Ces résultats expérimentaux sont détaillés et discutés, soulevant de nouvelles problématiques et perspectives dont les solutions seront présentées au chapitre suivant.

IV.1 CONCEPTION ET RÉALISATION D'UNE PLATEFORME EXPÉRIMENTALE

Après avoir étudié en simulation un algorithme de commande en boucle fermée, il est nécessaire de réaliser un dispositif expérimental afin de valider son fonctionnement en conditions réelles. Ce dispositif doit prendre en compte la double contrainte induite par le contrôle en boucle fermée et la compatibilité avec la manipulation de cellules biologiques. Les expériences sont réalisées sur des objets artificiels ayant une densité élevée, des microbilles en verre, et sur des objets biologiques, des lymphocytes T ayant une densité plus faible. Le dispositif expérimental est composé de différents éléments présentés dans la [figure IV.1](#) et détaillés au cours de cette section. Succinctement, une caméra filme en vue de dessus. Les images sont envoyées à une unité de calcul, un ordinateur. Seize signaux sinusoïdaux indépendants en amplitude sont générés. Les tensions sont ensuite appliquées sur chaque électrode de la puce microfluidique, engendrant un champ électrique et donc une force de diélectrophorèse qui provoque un déplacement des objets. Un environnement de travail compatible avec la manipulation d'objets biologiques a été mis en place et permet leur manipulation en milieu stérile.

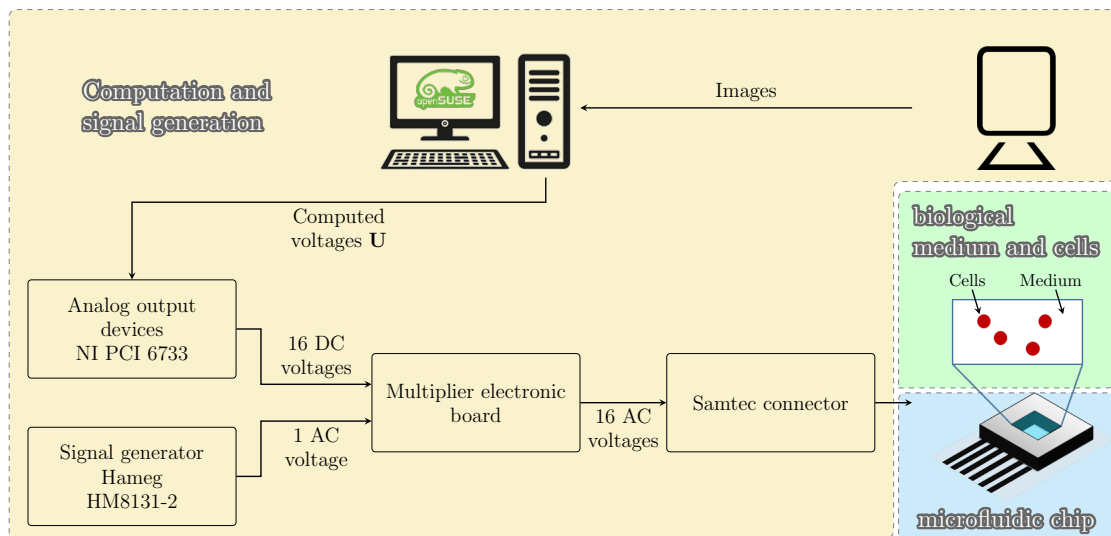


FIGURE IV.1 – Schéma bloc représentant le fonctionnement du dispositif expérimental.

IV.1.1 Mise en place d'un environnement dédié à la manipulation de cellules biologiques

IV.1.1.1 Environnement de travail dédié pour la manipulation d'objets biologiques

La manipulation d'objets biologiques nécessite de prendre des précautions et de mettre en place un environnement spécifique. Comme aucune salle ou équipement dédiés n'étaient présents au début de cette thèse, il a fallu mettre en place un espace dédié et équipé. Une salle contrôlée en humidité et température a été créée. De plus, cette pièce est en surpression et l'air y est filtré. Cette pièce garantit une répétabilité des conditions expérimentales ainsi qu'une absence de poussière facilitant la réalisation des expériences. En effet, des poussières de taille micrométrique peuvent perturber le déroulement d'expériences dans des puces microfluidiques en bouchant des canaux ou en rendant des parties de l'espace de travail inaccessible.

Pour pouvoir manipuler de manière stérile des objets biologiques, des dispositions ont été prises. Cette pièce a été équipée d'un poste de sécurité microbiologique (PSM). Un poste de sécurité microbiologique est une enceinte isolée de l'extérieur par un flux d'air laminaire. L'air à l'intérieur y est recyclé et filtré. Ce dispositif permet de protéger l'utilisateur en garantissant une séparation entre l'intérieur et l'extérieur de l'enceinte infranchissable par des objets biologiques volatiles. Utilisé correctement, l'intérieur de cette enceinte est stérile et permet de manipuler des objets biologiques s'y trouvant sans les contaminer, *i.e.* sans les mélanger avec d'autres objets biologiques non souhaités. Ce point est important. Il garantit que

seules les cellules souhaitées sont présentes et seront donc manipulées au cours de l'expérience. Il permet également de conserver plusieurs jours un échantillon de cellules, même après en avoir extrait une partie.

Des poubelles pour les déchets d'activité de soins à risques infectieux (DASRI) ont été installées et la gestion de ces déchets a été mise en place. Du matériel consommable (pointes de micropipette, Eppendorf ...) stérile a été acheté pour éviter toutes contaminations¹.

IV.1.1.2 Cellules et microbilles

Les microbilles utilisées pour les expériences sont de SPI supplies. Ce sont des microbilles en borosilicate de 10 μm de diamètre avec une densité élevée de 2.5.

Les cellules utilisées pour les expériences sont des cellules de mammifères CEM/C1 (CRL-2265TM, ATCC®). CEM/C1 est un type de lymphocyte T. Les cellules CEM/C1 ont été cultivées dans du RPMI 1640 (72400-021, Gibco) complété avec 10 % de sérum fœtal bovin (10270, Gibco) et 1 % de pénicilline/streptomycine (15140-122, Gibco) dans un incubateur à 37°C avec 5 % de CO₂. La concentration initiale est de $1 \cdot 10^7$ cellules/mL dans du RPMI 1640. Toutes ces étapes sont réalisées par le département MN2S (Micro Nano Sciences et Systèmes) de l'institut FEMTO-ST.

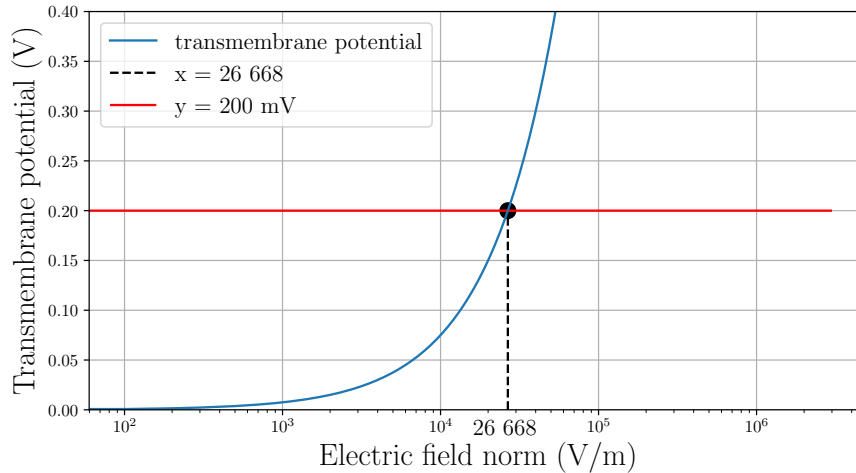


FIGURE IV.2 – Évolution du potentiel transmembranaire en fonction de la norme du champ électrique. La simulation considère des lymphocytes T humain de 10 μm de diamètre, avec $C_{mem} = 10e^{-3} \text{ F m}^{-2}$, $\sigma_{cyto} = 0.65 \text{ S m}^{-1}$, $\sigma_{mem} = 20 \text{ S m}^{-1}$ dans un milieu avec $\sigma_m = 0.2 \text{ S m}^{-1}$. La ligne rouge horizontale représente la valeur maximale $V_{tm} = 200 \text{ mV}$. Cette valeur correspond à une norme du champ électrique $|\mathbf{E}|_{max} = 26668 \text{ V m}^{-1}$.

1. La formation à l'utilisation de ce matériel et à la manipulation d'objets biologiques a été dispensée par le département MN2S de l'institut FEMTO-ST. Je tiens à remercier Annie Frelet Barrand, Pauline Bourgeois et Emma Schenckbecher pour leur support au cours de cette thèse.

Comme précisé dans le chapitre II.1.2, les cellules sont sensibles au champ électrique. Le champ électrique maximal applicable aux lymphocytes T afin de ne pas les endommager est calculé à partir des travaux de Mittal *et al.* [Mittal 07]. Le potentiel aux bornes de la membrane de la cellule ne doit pas dépasser 200 mV et est défini par l'équation (II.4). En considérant ces cellules et le milieu "Buffer 1" présenté en tableau IV.1, la norme maximale du champ électrique est $|\mathbf{E}_{max}| = 26\,700\text{ V m}^{-1}$.

IV.1.1.3 Définition d'un milieu dédié au contrôle de cellules biologiques par diélectrophorèse

La manipulation par diélectrophorèse se déroule en milieu liquide. Les propriétés de ce milieu impactent la force de diélectrophorèse, notamment la permittivité et la conductivité, qui influent sur le facteur de Claussius-Mossotti. La conductivité du milieu influence également un phénomène électrochimique, observé expérimentalement engendrant la détérioration des électrodes. Plus la conductivité est élevée, plus ces phénomènes apparaissent pour de faibles tensions.

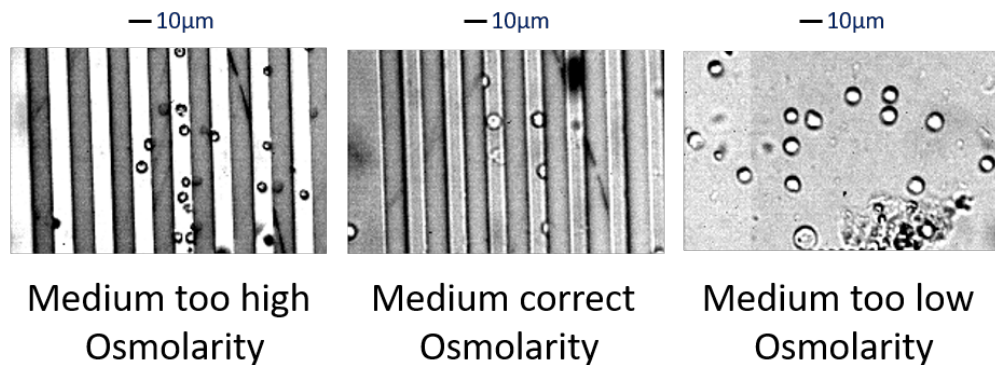


FIGURE IV.3 – Effet de l'osmolarité sur la forme des lymphocytes T.

Dans le cas de cellules biologiques, l'osmolarité du milieu a également un impact sur la forme des cellules. L'osmolarité représente la concentration de soluté dans la solution. Les cellules équilibrent leur osmolarité avec celle du milieu dans lequel elles se trouvent, ainsi, si l'osmolarité du milieu est supérieure à celle de la cellule, la cellule réduit son volume pour atteindre l'osmolarité du milieu. Dans le cas inverse, la cellule se dilate. Ce phénomène est observable figure IV.3. Il est donc important de compenser l'osmolarité du milieu pour que celle-ci soit égale à celle de la cellule.

En prenant en compte ces contraintes, deux milieux utilisés pour les expériences inspirées de Di Martino *et al.* [Di Martino 16] ont été confectionnés. Un premier milieu favorable à l'actionnement et un second permettant de contrôler la viabilité des cellules lors du déplacement par diélectrophorèse.

TABLE IV.1 – Composition des milieux utilisés

Components	Buffer 1 : Control	Buffer 2 : Viability test
Glucose ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	11	11
Sucrose (mg mL^{-1})	104	104
RPMI (%)	13 (v/v)	13 (v/v)
BSA (%)	0.0033 (w/v)	0.0033 (w/v)
Trypan Bleu (%)	-	0.02

Le milieu favorable à l'actionnement est basé sur le milieu de culture cellulaire, le RPMI (Roswell Park Memorial Institute medium), avec une conductivité initiale $\sigma_{RPMI} = 1.6\text{S m}^{-1}$. Cette conductivité est abaissée à $\sigma_m = 0.2\text{S m}^{-1}$ par dilution dans de l'eau. Le but est d'abaisser la conductivité afin de limiter la présence de courant électrique dans le milieu tout en diluant le moins possible le milieu de culture cellulaire et ne pas endommager les électrodes. Après dilution, le milieu étant composé majoritairement d'eau, sa permittivité est estimée à $\varepsilon_m = 78$. La compensation en osmolarité est effectuée via l'ajout de sucrose et de glucose après dilution du RPMI dans l'eau. La composition détaillée de ce milieu nommée "Buffer 1" est spécifiée dans le tableau IV.1.

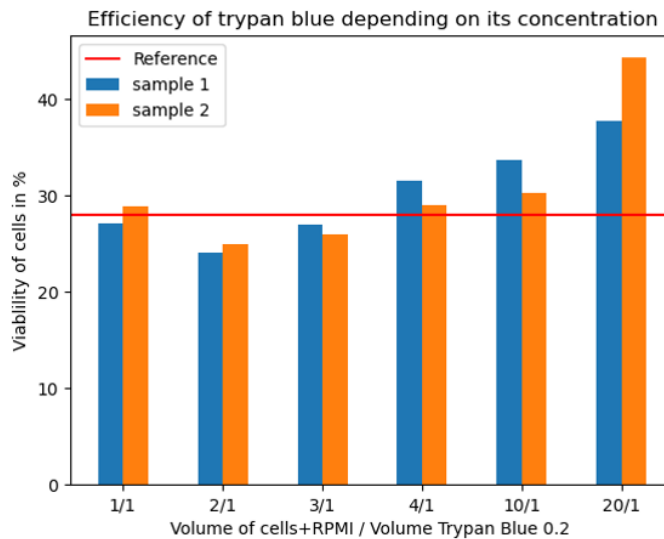


FIGURE IV.4 – Étude de la concentration minimum de bleu de trypan permettant une bonne détection des cellules mortes. Deux échantillons ont été comparés pour chaque concentration de bleu de trypan. La concentration la plus haute est utilisée comme référence.

Le milieu permettant de tester la viabilité des cellules est basé sur le milieu favorable à l'actionnement. Il contient en plus du bleu de trypan. Le bleu de trypan est un colorant permettant de colorer les cellules mortes. La concentration

minimum de bleu de trypan nécessaire à la détection de cellules morte a été déduite expérimentalement. Un échantillon de cellules avec une faible concentration de cellules viables a été divisé en plusieurs échantillons avec des concentrations de bleu de trypan décroissantes. L'échantillon avec la plus haute concentration sert de référence et est comparé aux autres. La figure IV.4 montre le taux de viabilité pour différentes concentrations de bleu de trypan. En dessous de 10% de bleu de trypan 0.2, la viabilité mesurée croit, ce qui montre une perte d'efficacité de la détection.

Cette quantité de bleu de trypan a été choisie après avoir vérifié que cette quantité n'empêche pas la détection des cellules par caméra et n'influe pas sur le déplacement de cellules induit par diélectrophorèse. La figure IV.5 montre la réponse de cellules à des échelons de tensions de 3 V alternatif à une fréquence de 50 kHz avec et sans bleu de trypan. Aucune différence notable n'est observée et permet de conclure que ce colorant, dans ces concentrations, n'impacte pas la force de diélectrophorèse. La composition de ce milieu, nommée "Buffer 2", permettant de tester la viabilité des cellules est présentée dans le tableau IV.1.

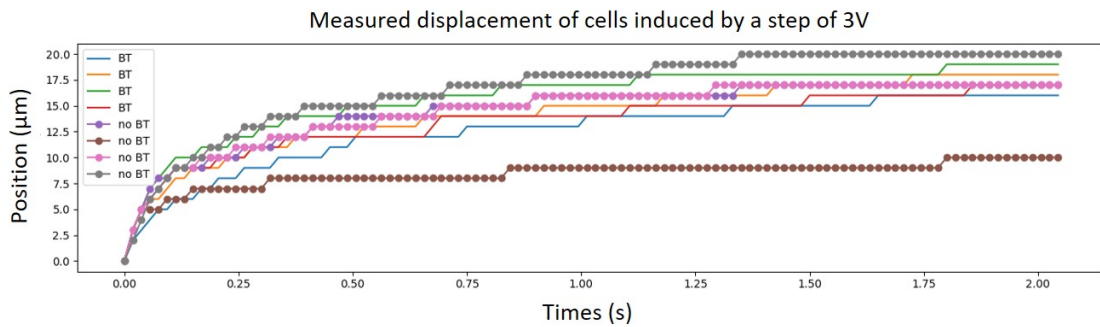


FIGURE IV.5 – Analyse de l'impact du bleu de trypan à faible concentration sur le déplacement de cellules induit par diélectrophorèse. Les courbes sans point représentent les trajectoires suivies par des cellules sur l'axe \vec{x} dans une solution avec bleu de trypan. Les courbes avec des points représentent les trajectoires suivies par des cellules dans un milieu sans bleu de trypan.

IV.1.1.4 Mise en place de protocoles expérimentaux

La réalisation d'expériences avec des objets micrométriques nécessite de prendre en considération les phénomènes d'adhésions et d'agrégation. Ces expériences se déroulent en piscine, un volume de liquide contenant les objets à manipuler est déposé sur la puce microfluidique. Le volume de liquide est contenu dans une zone par une pièce en PDMS et ne circule pas. De ce fait, au début de l'expérience, les particules auront sédimenté et seront en contact avec le fond de cette piscine, *i.e.* la puce microfluidique. Les forces d'adhésion étant non négligeables à cette échelle (I.1 page 6), il est compliqué de décoller la particule du "sol". Ce phénomène n'étant pas modélisé, il est nécessaire de le limiter au maximum. La

BSA (bovine serum albumin) est une protéine biocompatible utilisée en laboratoire pour limiter l'adhérence des cellules biologique au matériel. C'est pourquoi elle sera utilisée pour limiter l'adhésion lors des expériences.

La formation d'agrégats est également problématique pour le contrôle de particules par diélectrophorèse. Lorsque les particules s'agrègent, elles forment un groupe de particules dont les propriétés physiques et électriques diffèrent sensiblement de celles d'une particule unique. Les modèles présentés en chapitre III ne fonctionnent donc pas pour la manipulation d'agrégats de particules. Afin de limiter ces phénomènes, la concentration de particules utilisées pour les expériences est de 1.10^6 billes ou cellules/mL. La BSA aide également à diminuer l'adhésion des particules entre elles.

Ainsi, pour la réalisation des expériences, deux protocoles ont été utilisés. Un pour les microbilles et un second pour les cellules biologiques prenant en compte les contraintes spécifiques à la manipulation d'objets biologiques.

Pour les microbilles, la BSA (bovine serum albumin) est déposée sur la puce et agit pendant dix minutes. Puis, la puce est rincée à l'eau. La piscine de PDMS est ensuite déposée sur la puce microfluidique présentée section IV.1.2. Cette dernière est remplie avec une solution composée du milieu "Buffer 1" (tableau IV.1 page 83) et de microbilles en verres avec une concentration d'environ 1.10^6 billes/mL. Une lamelle de microscope est déposée sur la piscine pour éviter la présence d'un ménisque concave ou convexe pouvant gêner l'observation par caméra. Cela contribue également à éviter l'évaporation du milieu au cours de l'expérience. La puce est ensuite installée dans le connecteur de bord de carte.

Pour les expériences avec des cellules, le protocole est similaire, mais réalisé sous le poste de sécurité microbiologique (PSM) pour garantir la stérilité. La puce microfluidique est dans un premier temps stérilisée à l'éthanol puis amenée sous le PSM. Le protocole présenté pour les microbilles est ensuite entièrement réalisé sous le PSM. La lame de microscope permet également de sceller la piscine et de conserver les cellules en milieu stérile même une fois hors du PSM.

Le milieu "Buffer 2" (tableau IV.1) est utilisé lors des expériences ayant pour but d'analyser l'effet de la diélectrophorèse sur la viabilité des cellules. Le milieu "Buffer 1" (tableau IV.1) est utilisé pour les autres expériences de commande en boucle fermée.

La figure IV.6 montre le déroulement du protocole expérimental après avoir laissé agir la BSA et rincé la puce microfluidique.

La prochaine section présente les puces microfluidiques conçues et réalisées pour les expériences ainsi qu'une étude sur l'impact de l'épaisseur des électrodes.

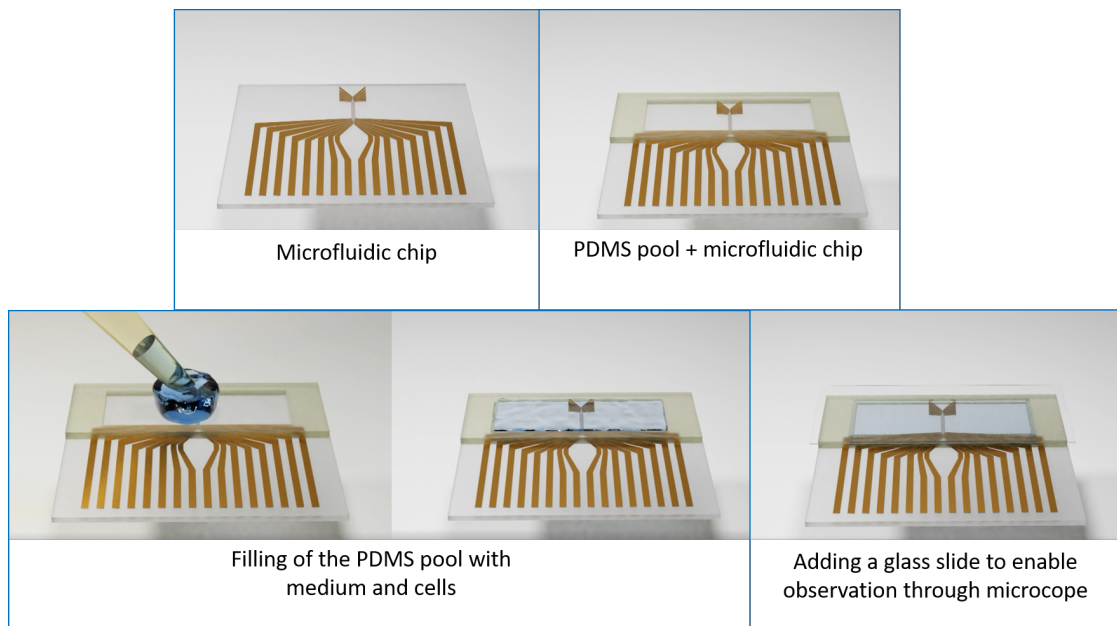


FIGURE IV.6 – Illustration montrant les étapes de préparation de l'expérience après avoir laissé la BSA agir pendant dix minutes et rincé la puce.

IV.1.2 Les puces microfluidiques

Les puces microfluidiques dans lesquelles sont générées le champ électrique permettant de déplacer des cellules et des microbilles sont présentées ici. Une première partie présente leur conception et leur fabrication, puis une seconde partie présente une étude sur l'impact de l'épaisseur des électrodes.

Les puces microfluidiques conçues sont composées de trois parties. Le substrat, qui constitue le "sol" de la puce. C'est sur lui que seront déposés les électrodes et les autres composants. Il doit permettre l'observation et est donc en verre (BF32) couramment utilisé pour les processus de microfabrication. La piscine, qui est découpée dans une plaque de PDMS d'environ un millimètre d'épaisseur. Il s'agit d'un matériau biocompatible couramment utilisé dans la fabrication de puces microfluidiques. Les électrodes, qui permettent la génération du champ électrique au sein de la puce. Afin de pouvoir utiliser le modèle développé dans la section II.3.2.1, elles doivent respecter les hypothèses 1 à 4 rappelées ci-dessous :

1. les électrodes sont considérées comme des conducteurs parfaits ;
2. la double couche à la surface des électrodes est considérée comme négligeable ;
3. l'épaisseur des électrodes est négligeable ;
4. les électrodes sont planes.

Ces hypothèses sont considérées comme vraies pour des électrodes déposées par couches minces. Ce processus est donc utilisé pour la fabrication des électrodes.

Les électrodes doivent également, en plus de répondre aux hypothèses du modèle, permettre une détection par vision des particules manipulées pour le contrôle, permettre la génération de champs électriques capables de déplacer des particules par diélectrophorèse et respecter l'intégrité des cellules. Les différences notables entre les microbilles et les cellules sont la sensibilité des cellules à l'intensité du champ électrique et le besoin d'électrodes transparentes pour pouvoir les observer.

Trois types d'électrodes, et donc de puces, ont été fabriquées au cours de cette thèse en utilisant deux procédés de fabrication différents. Ces trois puces microfluidiques ont la même géométrie d'électrodes. Elles sont composées de seize électrodes parallèles de $10\ \mu\text{m}$ de large et espacées de $10\ \mu\text{m}$. La [figure IV.7](#) est une image de microscope montrant la géométrie des électrodes parallèles.

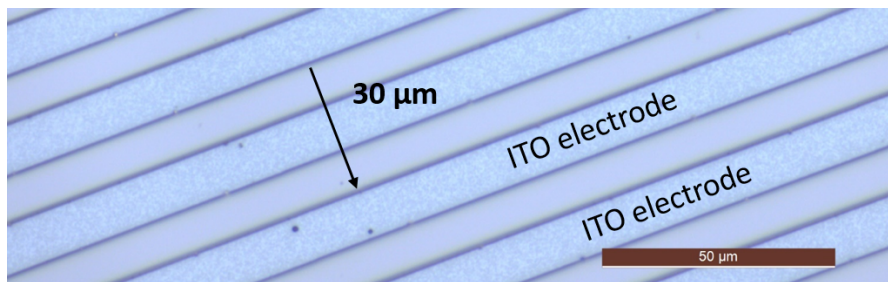


FIGURE IV.7 – Image d'une puce avec des électrodes en ITO (Indium Tin Oxide). Les électrodes sont des électrodes coplanaires, parallèles, de $10\ \mu\text{m}$ de large et espacées de $10\ \mu\text{m}$.

L'utilisation du modèle permettant de calculer le champ électrique présenté section II.3.2.2 suppose que l'épaisseur des électrodes est négligeable. Les moyens de microfabrication utilisés lors de cette thèse permettent de contrôler l'épaisseur de matériaux conducteurs déposée. Ainsi, des puces avec des électrodes en or de $200\ \text{nm}$ et $20\ \text{nm}$ ainsi que des puces avec des électrodes en ITO (Indium Tin Oxide) de $370\ \text{nm}$ ont été fabriquées.

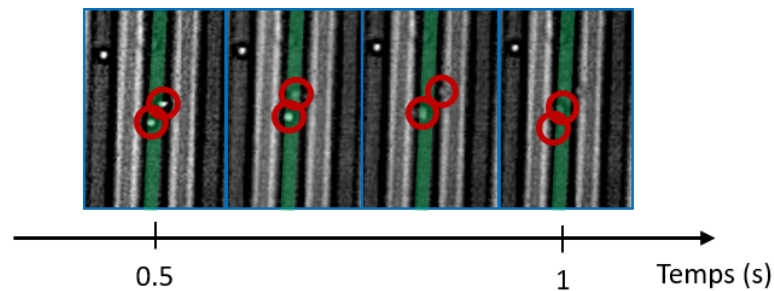
IV.1.2.1 Puce microfluidique avec des électrodes en or

L'utilisation d'électrodes en or de plusieurs centaines de nanomètres d'épaisseur est répandue pour les dispositifs d'actionnement par diélectrophorèse. Lorsqu'il n'est pas nécessaire d'avoir des électrodes transparentes, des électrodes en or de $200\ \text{nm}$ d'épaisseur sont utilisées, ce qui est le cas sur les expériences sur des microbilles en borosilicate présentées section IV.2.2 page 98.

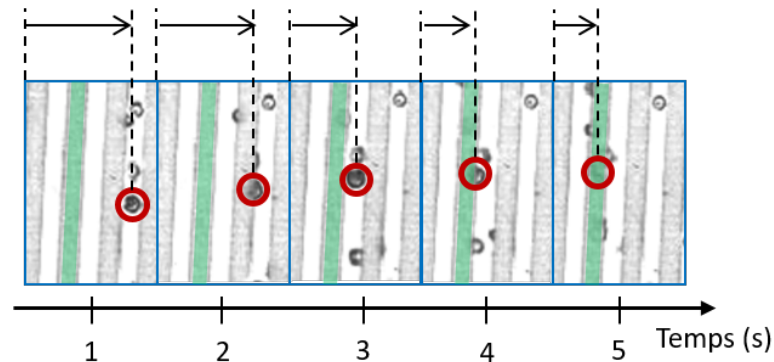
Dans le cas où des électrodes transparentes sont nécessaires, les électrodes en or de $20\ \text{nm}$ d'épaisseur semblent intéressantes pour deux raisons : l'hypothèse concernant l'épaisseur négligeable des électrodes est d'autant plus vraie, et l'or est presque transparent tout en conservant des propriétés électriques intéressantes (déphasage et atténuation quasi nuls à $50\ \text{kHz}$). Le processus de fabrication est succinctement présenté ci-dessous.

Les électrodes en or ont été fabriquées en utilisant un processus de lift-off. Une couche sacrificielle est déposée sur le substrat, cette couche est ensuite gravée par photolithographie pour obtenir un motif. La couche métallique est déposée par évaporation. Enfin, la couche sacrificielle est nettoyée pour ne laisser du métal qu'aux endroits souhaités. Le métal restant sur le substrat constitue les électrodes.

Toutefois, deux observations faites lors de l'utilisation de puces avec des électrodes en or de 20 nm, représentées figure IV.8, montrent les difficultés rencontrées. Les images ont été réalisées lors d'expériences utilisant le milieu "Buffer 1" défini dans le tableau IV.1 et avec les cellules présentées section IV.1.1.2.



(a) Succession d'images montrant l'explosion de cellules (entourées en rouge) engendrée par un champ électrique élevé induit par une électrode d'or (surlignée en vert) d'épaisseur 20 nm alimentée par une tension sinusoïdale de 7 V à 50 kHz.



(b) Succession d'images montrant le déplacement des cellules lorsqu'une tension sinusoïdale 5 V à 50 kHz est appliquée sur une électrode (surlignée en vert) en or d'épaisseur 20 nm. Les flèches supérieures sont une aide afin de visualiser l'évolution de la position de la cellule entourée en rouge par rapport au bord de l'image.

FIGURE IV.8 – Effets d'une tension sinusoïdale d'amplitude inférieure à 10 V appliquée sur une électrode en or d'épaisseur 20 nm.

Le premier problème illustré sur la [figure IV.8a](#), est l'explosion de cellules situées sur une électrode. Ce phénomène s'est produit lorsqu'une tension alternative de 7 V à 50 kHz a été appliquée sur l'électrode surlignée en vert. Le champ électrique étant lié au gradient du potentiel, plus l'électrode est fine, plus la norme du champ électrique à la frontière entre l'électrode et le milieu est élevée. La norme du champ électrique, à une distance fixe des électrodes, en fonction de l'épaisseur des électrodes a été simulée en utilisant le logiciel COMSOL. À une distance de 0.1 μm d'une électrode, la norme du champ électrique est respectivement de $1.29 \times 10^6 \text{ V m}^{-1}$ et $0.94 \times 10^6 \text{ V m}^{-1}$ pour des électrodes de 20 nm et 460 nm, soit une différence d'environ $350 \times 10^3 \text{ V m}^{-1}$. Cette valeur locale élevée du champ électrique peut être la cause de ce phénomène. En effet, comme expliqué en section [II.1.2 page 28](#), les cellules sont sensibles à la norme du champ électrique. Cette haute intensité locale du champ électrique engendre un phénomène d'électroporation non contrôlé entraînant l'explosion des cellules lorsque celles-ci sont trop proches des électrodes.

Le second problème illustré [figure IV.8b](#), est le déplacement de cellules engendré par un mouvement du fluide induit par l'application d'une tension alternative de 5 V à 50 kHz sur l'électrode surlignée en vert. Ce mouvement est opposé à celui induit par la force de diélectrophorèse. En effet, la force de diélectrophorèse, avec ces paramètres, est censée éloigner les cellules des lieux de concentration du champ électrique, or, ces images montrent que les cellules sont attirées vers l'électrode alimentée. La puissance dissipée par effet joule est directement liée au champ électrique, ainsi, des champs électriques élevés entraînent une élévation locale de température par effet joule. Ce gradient de température crée un flux de convection dans le liquide, pour des tensions de quelques volts, suffisant pour déplacer des cellules. Il est également possible que les cellules soient affectées par un phénomène d'électroporation, changeant les propriétés électriques des cellules et modifiant la valeur du coefficient de Clausius-Mossotti ayant pour conséquence de réaliser de la diélectrophorèse positive et non négative.

Les propositions formulées dans les deux paragraphes précédant sont des hypothèses afin d'expliquer ce qui a été observé, il ne s'agit en aucun cas d'affirmations, des études plus approfondies sont nécessaires pour comprendre précisément ces phénomènes. Toutefois, quelque soit les causes de ces phénomènes, l'utilisation d'électrodes en or de 20 nm d'épaisseur ne semblait pas permettre la manipulation d'objets biologiques par diélectrophorèse. Une alternative a donc été trouvée en utilisant un autre matériau.

IV.1.2.2 Puce microfluidique avec des électrodes en ITO

Pour les expériences sur des objets biologiques, des électrodes transparentes en ITO (Indium Tin Oxide) de quelques centaines de nanomètres d'épaisseur ont été testées avec succès. L'utilisation de ce matériau (réputé transparent et conducteur) permet un compromis entre l'épaisseur des électrodes afin de limiter la norme du champ électrique, le respect des hypothèses nécessaires à l'utilisation du modèle et

la transparence nécessaire à l'observation des cellules déplacées. Aucun problème n'a été rencontré lors du déplacement de cellules biologiques par diélectrophorèse avec ces électrodes. Le processus de fabrication de ces électrodes est présenté succinctement ci-dessous.

Les électrodes en ITO ont été déposées par un processus de pulvérisation et de gravure. Une couche d'ITO de 370 nm est déposée de manière homogène sur tout le substrat par l'entreprise SOLEMS par pulvérisation. Une couche sacrificielle est ensuite appliquée et gravée par photolithographie pour obtenir un motif. L'ITO non protégé par la couche sacrificielle est enlevé par gravure plasma. Enfin, la couche sacrificielle est nettoyée. L'ITO restant sur le substrat constitue les électrodes. Ce procédé de gravure par plasma en utilisant un gaz d'Argon a été développé au cours de cette thèse et est détaillé en annexe B.

Ainsi, les électrodes en or de 200 nm d'épaisseur sont utilisées pour les expériences sur des microbilles en borosilicate. L'utilisation d'un éclairage par transmission et réflexion permet d'observer les microbilles au-dessus des électrodes. Les électrodes en ITO sont utilisées pour les expériences sur des cellules nécessitant des électrodes transparentes pour pouvoir correctement visualiser la trajectoire des cellules via un éclairage par transmission.

La prochaine section présente les parties de la plateforme expérimentale permettant le calcul et la génération des signaux permettant de réaliser une commande en boucle fermée.

IV.1.3 Calcul et génération des signaux

IV.1.3.1 Conception matériel

Pour effectuer les calculs nécessaires au fonctionnement de la boucle fermée, un ordinateur Dell T3400 avec un processeur Intel core2duo et 2Go de mémoire RAM est utilisé. Le système d'exploitation est OpenSuse 13.2 avec un noyau 2.6 patché avec RTAI 3.8.1. Cette configuration a pour but d'obtenir un fonctionnement en temps réel. Un fonctionnement en temps réel signifie que la fréquence d'échantillonnage est garantie pendant l'exécution, ce qui est important en automatique lors de l'utilisation de modèle ou de régulation dépendante du temps. Le contrôleur a été implémenté en C++. Il effectue le traitement d'images et la communication avec les cartes de sortie analogiques. Les images sont prises par une caméra haute vitesse Photon Focus MV-D 1024 avec une résolution de 0.8 $\mu\text{m}/\text{pixel}$. Deux cartes de sorties analogiques NI PCI 6733 sont utilisées pour générer un total de seize tensions continues. Une carte électronique (schéma électrique en Annexe D) permet ensuite de multiplier les tensions continues avec une tension sinusoïdale de référence de 1 V_{rms} à une fréquence $f_{Hz} = 50 \text{ kHz}$ générée par un HAMEG HM8131-2. Cela permet d'obtenir seize tensions sinusoïdales de même fréquence et de même phase,

mais d'amplitude indépendante. La transmission des signaux à la puce microfluidique est effectuée en utilisant un connecteur de bord de carte SAMTEC MB1 mini. L'aspect fonctionnel est détaillé dans le schéma IV.1.

IV.1.3.2 Algorithme de traitement d'images

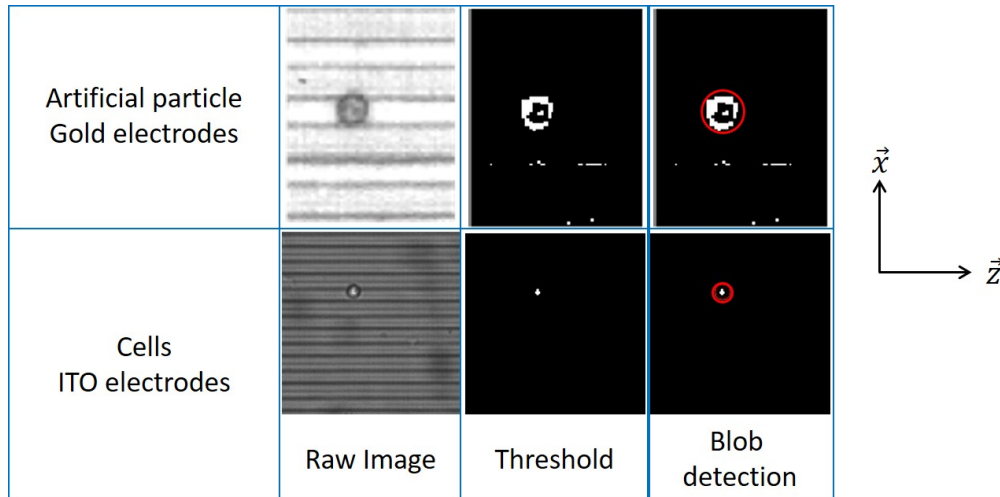


FIGURE IV.9 – Description du processus de traitement d'images pour deux cas d'étude. Le premier concerne une microbille en borosilicate au-dessus d'électrodes en or. Le second représente un lymphocyte T sur des électrodes en ITO (Indium Tin Oxide). Pour chaque cas, des algorithmes de seuillage puis de détection de blob sont appliqués à l'image originale et permettent d'extraire la position suivant l'axe \vec{x} .

Cette partie détaille l'algorithme utilisé pour extraire l'information de la position d'une particule suivant l'axe horizontal \vec{x} . L'image est considérée en noir et blanc, ce qui permet de limiter la quantité d'information à traiter et à communiquer entre la caméra et l'unité de calcul. La première étape consiste à définir une région d'intérêt autour de la particule. Seule cette partie de l'image est analysée. Un seuillage est appliqué et permet de binariser l'image. Les paramètres de ce seuillage dépendent de la particule observée. Pour des objets artificiels, un éclairage par transmission et réflexion est utilisé avec des électrodes en or. Le seuillage permet alors de détecter les pixels les plus sombres. Pour des objets biologiques, un éclairage par transmission avec des électrodes transparentes en ITO (Indium Tin Oxide) est utilisé. Le seuillage détecte alors les pixels les plus clairs. L'image obtenue est noire avec un groupement de pixels blancs à la position de la cellule. Un algorithme de détection de blob est ensuite appliqué sur l'image binarisée. Celui-ci permet d'obtenir la position, dans l'image, du centre de masse du groupe de pixels blancs, ce qui correspond au centre de la cellule. Les résultats de l'algorithme de traitement d'image et des étapes intermédiaires sont présentées figure IV.9 dans le cas d'électrodes en or et en ITO.

IV.1.3.3 Validation de la plateforme expérimentale

Le traitement d'images et la génération des signaux du système expérimental sont validés à travers un test de réponse indicielle permettant également de valider le modèle direct présenté en section III.1.3 page 55. Pour ce faire, les déplacements d'une particule simulée et observée expérimentalement sont comparés pour un scénario d'alimentation donné. Le scénario d'alimentation choisi est le suivant. Les électrodes sont à la masse pendant une seconde, puis une électrode est alimentée avec une tension alternative de 3 V à 50 kHz pendant une seconde et demie. Ensuite, cette électrode est de nouveau mise à la masse alors qu'une autre électrode est alimentée avec la même tension alternative de 3 V à 50 kHz pendant une seconde et demie. Ce changement de potentiel est réalisé trois fois.

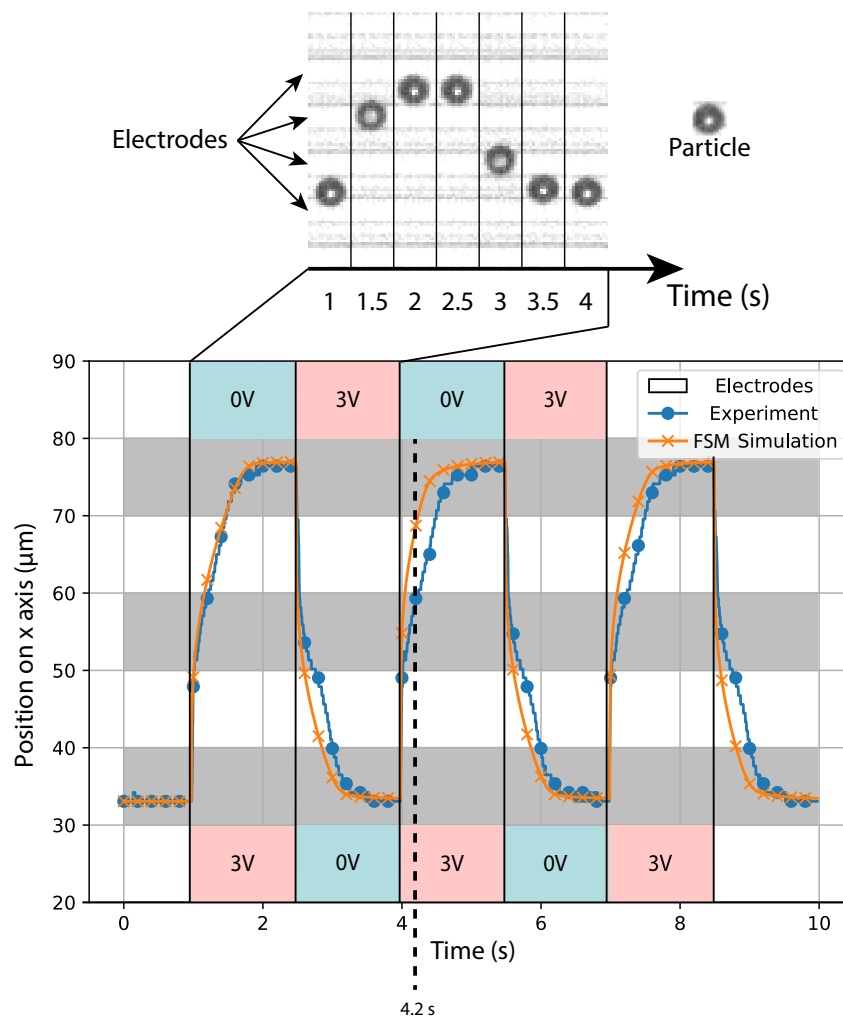


FIGURE IV.10 – Validation du modèle direct par comparaison avec des données expérimentales. La partie supérieure est une succession d'images prises du dessus montrant l'évolution de la particule au cours du temps durant l'expérience. Le graphique compare, pour un même scénario d'alimentation des électrodes, le déplacement simulé et observé.

Ce test se déroule en utilisant une puce microfluidique avec des électrodes parallèles fabriquées par dépôt de couches minces, dont la géométrie et la même que celle considérée section II.3.2.2 page 41. Les paramètres de la simulation sont identiques au tableau III.1 page 55, la seule différence est la valeur de la densité de la particule qui est $\rho_p = 2.5$ pour cette expérience. Cette densité correspond à la densité du verre, matériau des microbilles utilisées.

La figure IV.10 présente la comparaison du déplacement observé par caméra lors de l'expérience et le déplacement simulé en utilisant le modèle direct. La partie supérieure de la figure est une succession d'images montrant le déplacement de la particule lors de l'expérience. Le graphique montre l'évolution de la position sur l'axe \vec{x} en fonction du temps et du potentiel sur les deux électrodes d'intérêt. Les deux trajectoires sont proches, toutefois, le modèle surestime la vitesse de la particule comme cela peut être observé à $t = 4.2$ s. L'erreur moyenne en position sur un cycle est inférieure à $1 \mu\text{m}$ avec un écart type inférieur au rayon de la particule.

Cette courbe valide la capacité à actionner et à suivre la position d'un objet. Le modèle proposé section III.1 page 51 permet de prédire le déplacement avec une précision moyenne de $1 \mu\text{m}$, soit 10% du diamètre de l'objet. La figure IV.11 montre une image du dispositif expérimental utilisé issu des études et conceptions présentées dans cette section.

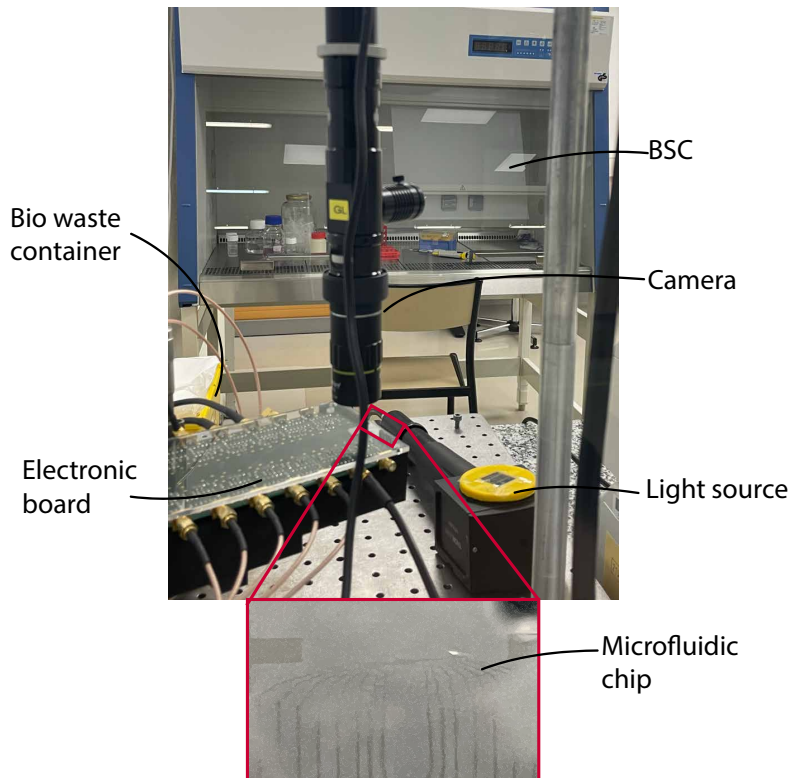


FIGURE IV.11 – Image du dispositif expérimental utilisé pour le contrôle de la trajectoire de particules par diélectrophorèse.

La prochaine partie présente les résultats expérimentaux obtenus concernant le contrôle de trajectoire de cellules biologiques et d'objets artificiels.

IV.2 RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Cette section détaille les résultats expérimentaux concernant le contrôle de trajectoire par diélectrophorèse. Elle est organisée en deux parties respectivement consacrées à des expériences sur des lymphocytes T puis sur des microbilles en verre. Enfin, les résultats sont mis en perspective.

IV.2.1 Expérience de suivi de trajectoires sur des cellules

Les cellules (lymphocytes T) utilisées lors de ces expériences ainsi que le protocole de préparation ont été présentées section IV.1.1. Le contrôleur utilisé pour ces expériences est rappelé ci-dessous.

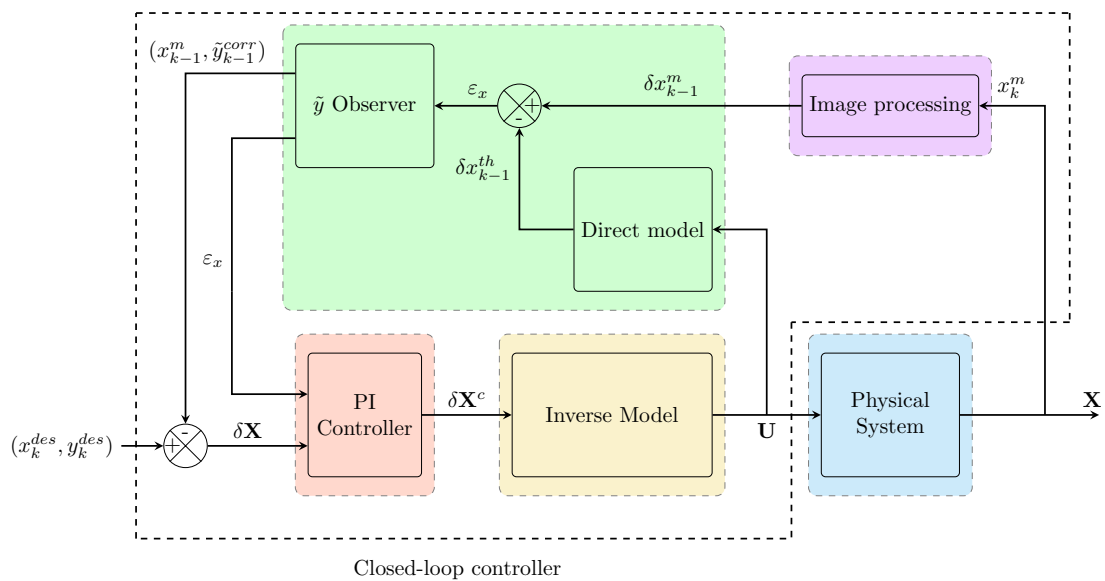
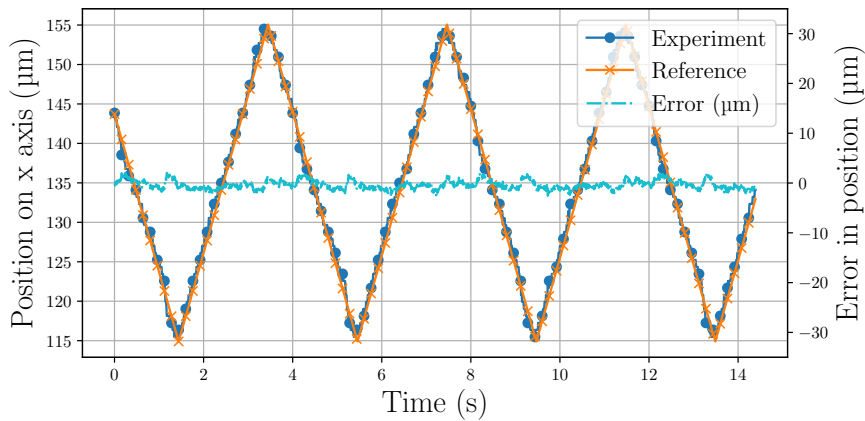


FIGURE III.11 – Schéma bloc détaillé du fonctionnement du contrôleur en boucle fermée (rappel de la figure originale page 70)

L'altitude de la cellule est estimée et corrigée avec l'observateur \tilde{y} tandis que la position de la cellule suivant l'axe \vec{x} est mesurée par caméra. La fréquence d'échantillonnage est de $f_{cl} = 125\text{Hz}$. La norme du champ électrique est limitée à $|E_{max}| = 25\,000\text{ V m}^{-1}$ à la position de la cellule. La puce utilisée possède des électrodes en ITO de 370 nm d'épaisseur pour faciliter l'observation par caméra des cellules et l'extraction de leur position suivant l'axe \vec{x} . Plusieurs trajectoires suivant l'axe \vec{x} ont été réalisées avec des objectifs différents.

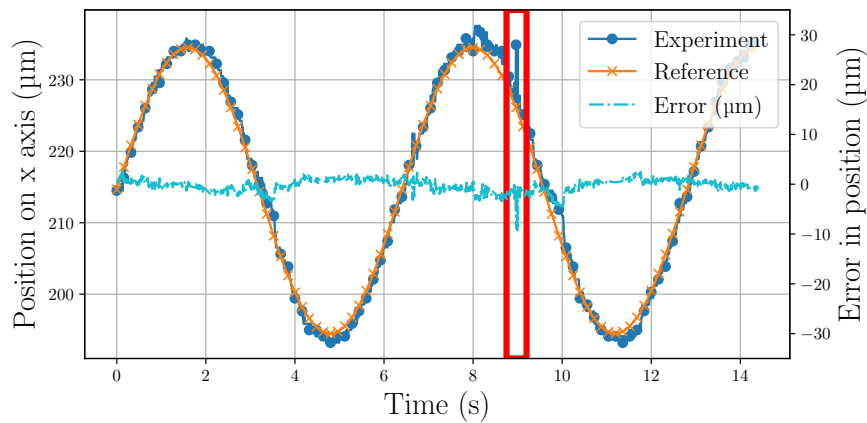
1. La trajectoire triangulaire, identique à la figure III.6 page 63, est utilisée pour montrer (i) la capacité à appliquer une force constante (engendrant une vitesse constante) le long de rampes et (ii) l'absence d'inertie, caractéristique de l'échelle considérée, illustrée par les changements de direction.
2. Une trajectoire sinusoïdale utilisée pour montrer la résolution en vitesse du contrôle, *i.e.* la différence minimale entre deux vitesses de contrôle.
3. Une trajectoire plus complexe étant une combinaison d'une trajectoire triangulaire, sinusoïdale de différentes amplitudes et fréquences avec une période d'immobilité similaire à la trajectoire simulée figure III.13.

La trajectoire suivant l'axe \vec{y} consiste à maintenir une altitude constante de $25\ \mu\text{m}$. Cela permet de conserver la cellule dans le plan focal de la caméra et facilite la détection par traitement d'images. Les résultats de ces expériences sont présentés figure IV.12. Pour chaque figure, la courbe bleue avec des points représente la trajectoire observée expérimentalement. La courbe orange avec des croix représente la trajectoire de référence. La courbe cyan représente l'erreur entre les deux courbes.

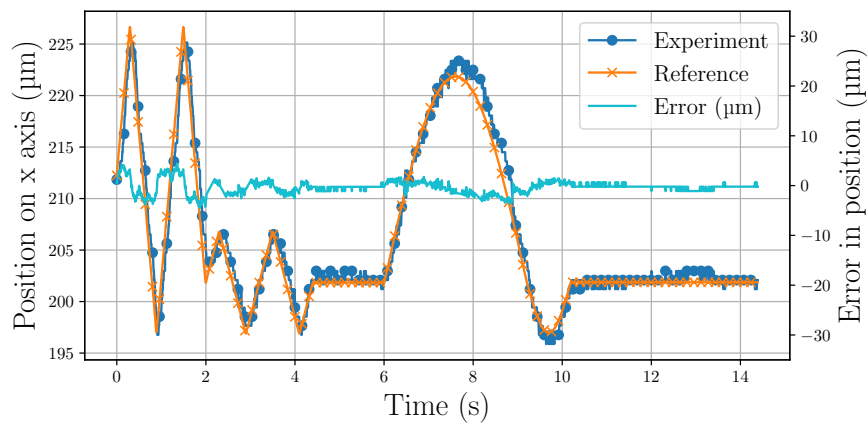


(a) Résultat expérimental du suivi de trajectoire triangulaire avec une vitesse maximale de $20\ \mu\text{m s}^{-1}$. L'erreur maximale est de $2.5\ \mu\text{m}$, l'erreur moyenne est de $0.8\ \mu\text{m}$.

La figure IV.12a montre le résultat pour le suivi d'une trajectoire triangulaire avec une vitesse de $20\ \mu\text{m s}^{-1}$. L'erreur maximale est de $2.5\ \mu\text{m}$ soit 25 % du diamètre de la cellule. La figure IV.12b montre le résultat pour le suivi d'une trajectoire sinusoïdale avec une vitesse maximale de $20\ \mu\text{m s}^{-1}$. Le rectangle rouge met en évidence une erreur de détection de la position de la cellule pendant l'expérience. Cette erreur ne perturbe pas le suivi de trajectoire, car elle a été identifiée comme "détection défectueuse" par l'algorithme de traitement d'image présenté section III.4.2. Pour cette itération, la position suivant l'axe \vec{x} a été estimée en utilisant le modèle. L'erreur maximale, en omettant cette détection défectueuse, est de $4.5\ \mu\text{m}$. La figure IV.12c montre le résultat pour le suivi d'une trajectoire complexe avec une vitesse maximale de $50\ \mu\text{m s}^{-1}$. L'erreur maximale est de $4.4\ \mu\text{m}$.



(b) Résultat expérimental du suivi de trajectoire sinusoïdale avec une vitesse de $20 \mu\text{m s}^{-1}$. L'erreur maximale est de $4.5 \mu\text{m}$, l'erreur moyenne est de $0.9 \mu\text{m}$. Le rectangle rouge met en évidence une mauvaise détection de la position de la cellule. Cette erreur n'est pas prise en compte dans les performances citées plus tôt dans la description de cette figure.



(c) Résultat expérimental du suivi de trajectoire complexe avec une vitesse maximale de $50 \mu\text{m s}^{-1}$. L'erreur maximale est de $4.4 \mu\text{m}$, l'erreur moyenne est de $1 \mu\text{m}$.

FIGURE IV.12 – Résultats expérimentaux du contrôle de trajectoire de cellules le long de trois trajectoires.

Après avoir vérifié les performances en ce qui concerne le suivi de trajectoire, il est nécessaire de s'assurer de la viabilité des cellules déplacées. L'expérience présentée figure IV.12b a été effectuée en utilisant le milieu "Buffer 2", présenté dans le tableau IV.1, contenant du bleu de trypan (cet échantillon a été utilisé pour vérifier la viabilité des cellules après déplacement par diélectrophorèse). Après

l'expérience, la puce microfluidique est observée avec un microscope et une caméra couleur. La cellule déplacée par diélectrophorèse est toujours vivante après les expériences.

La limitation de la norme du champ électrique implémentée dans la commande est effective sur la cellule manipulée mais n'est pas conçue pour limiter le champ électrique sur les autres objets présents dans l'espace de manipulation. Toute fois, un essai pour évaluer la viabilité des cellules proche de celle manipulée a été effectuée. Un échantillon test a été utilisé pour effectuer un contrôle de trajectoire similaire à celui présenté [figure IV.12b](#) en utilisant le milieu "Buffer 2". La viabilité totale des cellules proche de celle manipulée a été comparée à la viabilité d'un échantillon de référence. Cet échantillon de référence est issu de la même préparation que celui utilisé pour la manipulation par diélectrophorèse et a été placé dans une lame de malassez² en amont de l'expérience. Les cellules de cet échantillon n'ont pas été soumises à la diélectrophorèse. 280 cellules ont été comptées pour chaque échantillon. La viabilité de l'échantillon de référence est de 90.6 %. La viabilité de l'échantillon test ayant subi la manipulation par diélectrophorèse est de 85 %. Cette différence de viabilité de 5 % est faible et montre que la manipulation par diélectrophorèse d'une cellule affecte peu la viabilité des autres cellules proche, présentes dans l'espace de manipulation. Deux phénomènes expliquent ces résultats. Tout d'abord, il a été observé en simulation que la limitation du champ électrique pour une cellule diminue la valeur maximale du champ électrique dans tout l'espace de travail d'environ 30 %.

En résumé, le contrôle de lymphocyte T le long d'une trajectoire arbitraire a été réalisé pour trois trajectoires différentes. L'erreur maximale pour ces trois trajectoires est de 4.5 μm avec une erreur moyenne de 1 μm . La vitesse maximale pour ces trajectoires est de 50 $\mu\text{m s}^{-1}$. Le contrôle permet également de maintenir la cellule à une position constante. Les cellules sont manipulées sur des périodes longues de 15 s. L'altitude des cellules n'est pas mesurée, mais l'observateur permet une reconstruction assez précise pour permettre le suivi de trajectoire dans un espace où l'altitude de la cellule n'est pas contrainte. De plus, grâce à la limitation du champ électrique implémenté, le contrôle de trajectoire par diélectrophorèse ne semble pas affecter la viabilité de la cellule manipulée et très peu la viabilité des cellules proches pour lesquelles la limitation du champ électrique n'est pas directement effective.

2. Une lame de malassez, ou cellule de malassez, est une lame de verre quadrillée spécifiquement utilisé pour le comptage de cellules au microscope.

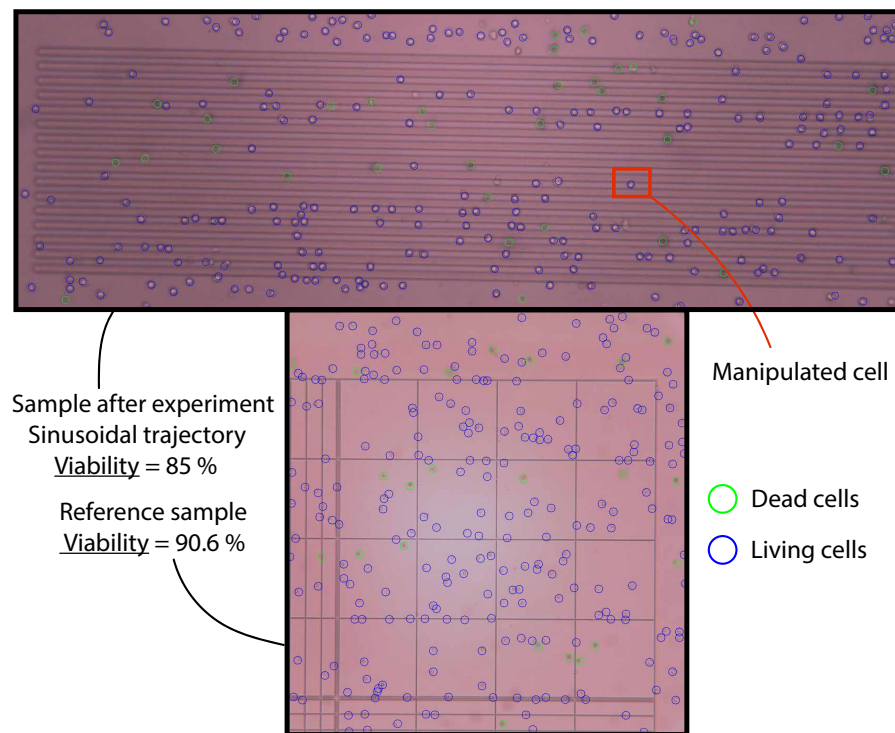


FIGURE IV.13 – Étude de la viabilité des cellules après déplacement par diélectrophorèse. Comparaison à un échantillon de référence pour étudier la viabilité de toutes les cellules impactées par le champ électrique généré pendant l'expérience de suivi de trajectoire.

IV.2.2 Expérience de suivi de trajectoires sur des microbilles

Cette section présente les résultats expérimentaux obtenus lors de la manipulation de microbilles en borosilicate de diamètre $10\ \mu\text{m}$ et de densité $\rho_p = 2.5$. La puce utilisée est composée d'électrodes en or d'épaisseur $200\ \text{nm}$. Le milieu utilisé est le milieu 1 défini tableau IV.1. Les tensions utilisées sont des tensions sinusoïdales de $50\ \text{kHz}$ avec une amplitude maximale de $5\ \text{V}$ afin d'éviter de détériorer les électrodes.

La trajectoire de référence suivant l'axe \vec{x} est une trajectoire triangulaire, identique à celle utilisée pour la simulation de la figure III.6. Comme dans le cas précédent, cette trajectoire est choisie pour mettre en évidence la précision du système (capacité à maintenir une vitesse constante) et l'absence d'inertie à cette échelle (discontinuité dans la trajectoire). La trajectoire suivant l'axe \vec{y} est le maintien d'une altitude constante à $10\ \mu\text{m}$ qui permet de conserver la microbille dans le plan focal de la caméra et faciliter la détection par traitement d'images. Cette campagne expérimentale a pour but d'évaluer les performances du contrôle de trajectoire en termes de précision et de vitesse atteignable. En effet, pour ces expériences, les caractéristiques de la particule manipulée sont connues. Les microbilles utilisées

sont calibrées, sphérique et avec des variations de diamètre maximum de $1 \mu\text{m}$. Le schéma bloc du contrôleur utilisé pour ces expériences est présenté figure IV.14. Il correspond à une version simplifiée du schéma de commande précédent où l'observateur a été remplacé par un simple modèle direct du système. En effet, comme le montre l'analyse figure III.8, la cause d'une perte de trajectoire sur les objets dense est une accumulation de l'erreur suivant l'axe \vec{x} . L'observateur utilisé pour reconstruire l'altitude de la particule définit section III.4.3 n'est donc plus nécessaire.

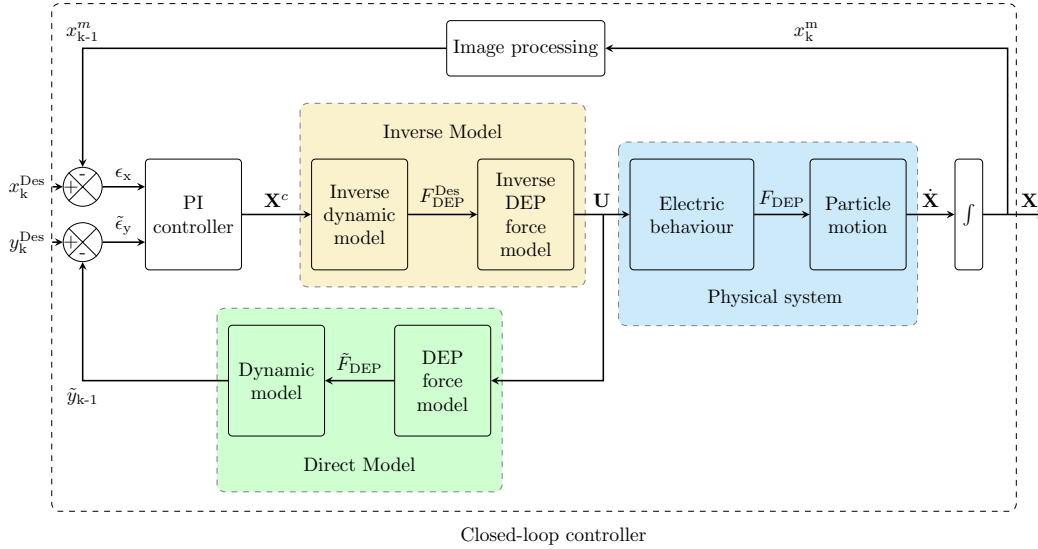
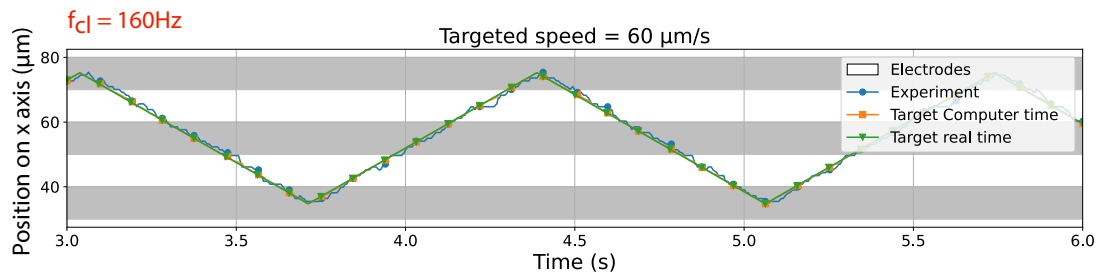


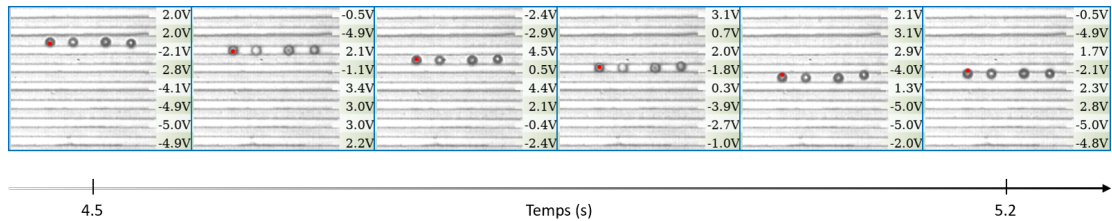
FIGURE IV.14 – Présentation sous forme d'un schéma bloc du contrôleur en boucle fermée utilisé pour le contrôle de trajectoire de microbilles.

Les microbilles n'étant pas endommagées par le champ électrique, sa limitation lors de l'inversion du modèle n'est pas prise en compte. Le terme $Flag_{|E|}$ a été enlevé de la fonction de coût de l'algorithme de recuit simulé (Eq. III.15). La fréquence d'échantillonnage utilisée est de 160 Hz.

Le contrôle de trajectoire a été réalisé pour des vitesses allant de $30 \mu\text{m s}^{-1}$ à $210 \mu\text{m s}^{-1}$ par incrément de $30 \mu\text{m s}^{-1}$. La figure IV.15 est le résultat du contrôle de trajectoire pour une vitesse $60 \mu\text{m s}^{-1}$. La trajectoire de référence théorique est représentée par la courbe verte avec des triangles. Il s'agit d'une trajectoire triangulaire d'amplitude $40 \mu\text{m}$ échantillonnée à 160 Hz. La courbe orange avec des carrés représente la trajectoire de référence émise par l'ordinateur. La trajectoire émise par l'ordinateur est la trajectoire théorique où deux points sont temporellement séparés de la période d'échantillonnage réelle. Si la période d'échantillonnage est constante et respectée pendant l'expérience, les trajectoires théoriques et émises par l'ordinateur sont identiques, ce qui est le cas figure IV.15. La courbe avec des ronds bleus représente la trajectoire mesurée de la microbille. L'erreur moyenne mesurée est de $1.09 \mu\text{m}$ avec un écart type de 0.87.



(a) Résultats expérimentaux pour le contrôle de trajectoires d’une microbille en boucle fermée. La courbe bleue avec des points représente la trajectoire mesurée expérimentalement. La courbe orange représente la trajectoire de référence émise par l’ordinateur. La courbe verte avec des triangles représente la trajectoire de référence théorique où chaque point (non représentés sur la courbe) est précisément espacé de la période d’échantillonnage soit 6.25 ms



(b) Succession d’images issues de la même expérience. Le point rouge représente la position ciblée, les lignes horizontales blanches sont les électrodes tandis que les sphères sont les microbilles en borosilicate de 10 μm de diamètre

FIGURE IV.15 – Expérience du contrôle de trajectoire de micro billes en borosilicate de 10 μm de diamètre le long d’une trajectoire triangulaire avec une vitesse maximale de 60 μm s⁻¹

La figure IV.16 montre le résultat du contrôle de trajectoire à 210 μm s⁻¹. Le graphique représente les trois mêmes courbes que la figure IV.15a. Les courbes vertes (avec des triangles) et orange (avec des carrés) sont distinctes. Cette différence est induite par une différence entre la fréquence d’échantillonnage théorique et réelle. En effet, le temps de calcul nécessaire pour inverser le modèle est en moyenne supérieure au temps entre deux échantillons théoriques 6.25 ms. Cela induit un retard de la trajectoire de référence émise par l’ordinateur par rapport à la trajectoire théorique. Ce retard s’accumule avec le nombre d’itérations et est représenté sur la figure IV.16 par les traits rouges mentionnés “accumulated delay”. Ce comportement est dû à un choix de conception qui consiste à laisser l’algorithme inversant le modèle converger même si celui-ci ne trouve pas de solution dans le temps imparti. La convergence de l’algorithme est vérifiée par la juxtaposition des courbes mesurées expérimentalement (bleu avec des points) et la courbe de trajectoire de référence émise par l’ordinateur (orange avec des carrés).

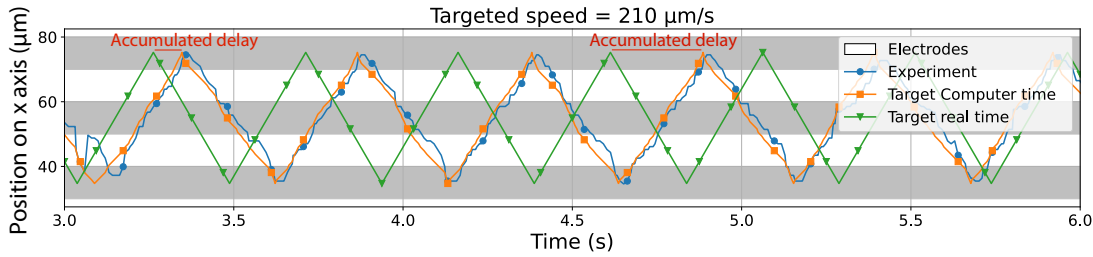


FIGURE IV.16 – Résultat d’un suivi de trajectoire pour une vitesse de $210 \mu\text{m s}^{-1}$. La courbe bleue avec des points représente la trajectoire de référence où chaque point (non représentés sur la courbe) est espacé de 6.25 ms équivalent à une période d’échantillonnage de 160 Hz . La courbe orange avec des carrés représente la trajectoire de référence émise par l’ordinateur. Chaque point (non représentés sur la courbe) est espacé au minimum de 6.25 ms et de plus si l’inversion du modèle a nécessité plus de temps. La courbe verte représente la trajectoire mesurée au cours de l’expérience.

En résumé, la figure IV.17 montre l’erreur moyenne ainsi que l’écart type obtenu pour les différentes expériences réalisées pour des vitesses allant de $30 \mu\text{m s}^{-1}$ à $210 \mu\text{m s}^{-1}$. L’erreur moyenne mesurée pour des vitesses jusqu’à $150 \mu\text{m s}^{-1}$ est inférieure à $2 \mu\text{m}$. Au-dessus de cette vitesse l’erreur augmente fortement. Au-dessus de $150 \mu\text{m s}^{-1}$, l’inversion du modèle ne peut être réalisée à une fréquence de 160 Hz , induisant un retard sur la trajectoire de référence. Le suivi de trajectoires triangulaires confirme la capacité du contrôleur à générer une force constante sur la particule indépendamment de sa position et confirme l’influence négligeable de l’inertie à cette échelle. Ces performances ont été obtenues en se basant uniquement sur le modèle pour estimer l’altitude de la microbille, ce qui confirme la précision du modèle dans le cas où les propriétés des objets manipulés sont connues, calibrées et de densité élevée.

IV.2.3 Discussion

Les sections IV.2.1 et IV.2.2 montrent la possibilité de contrôler précisément en deux dimensions des particules micrométriques de densités différentes (billes en verre et lymphocyte T) par diélectrophorèse avec une erreur moyenne inférieure à $2 \mu\text{m}$. Il s’agit, à notre connaissance du premier contrôle en boucle fermée proposé pour la manipulation d’objets artificiels de $10 \mu\text{m}$ de diamètre et de cellules biologiques.

Plusieurs pistes peuvent être étudiées pour améliorer les performances obtenues. La position de la particule selon l’axe \vec{x} est obtenue directement par traitement d’images. Celle selon l’axe \vec{y} est, dans le cas des cellules, calculée par l’observateur qui utilise la position selon \vec{x} obtenue par traitement d’images. Or la résolution est limitée ($0.8 \mu\text{m}/\text{pixel}$), ce qui limite la précision des positions mesurées et estimées par l’observateur et donc les performances du suivi de trajectoires.

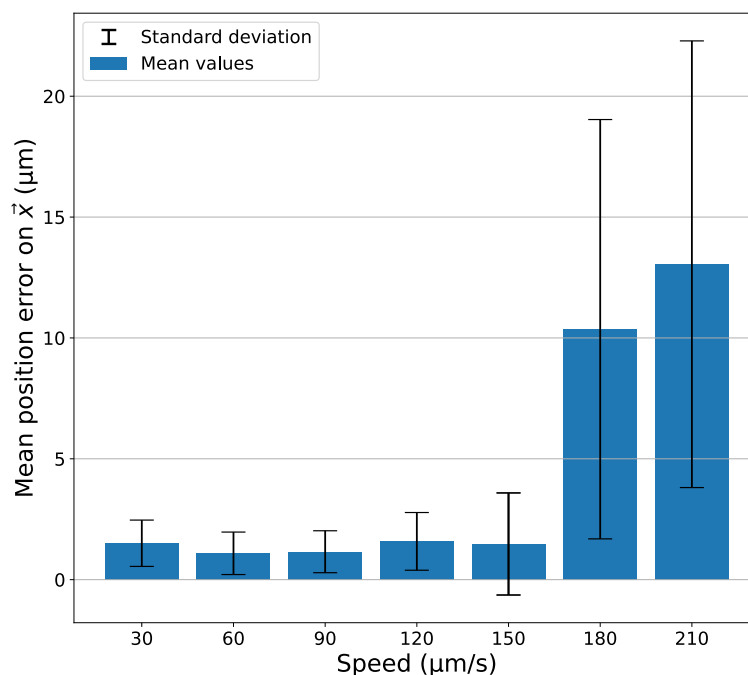


FIGURE IV.17 – Graphique montrant le résultat d’expériences de suivi de trajectoires sur des microbilles en verres pour des trajectoires triangulaires avec des vitesses de $30 \mu\text{m s}^{-1}$ à $210 \mu\text{m s}^{-1}$ par incrément de $30 \mu\text{m s}^{-1}$. Les barres bleues représentent l’erreur moyenne sur le suivi de trajectoire et les intervalles noirs représentent l’écart type.

Une meilleure résolution de l’image permettrait d’améliorer les performances globales du contrôleur. Cependant, une image avec une plus grande résolution augmenterait le temps du traitement et pourrait imposer une réduction de la période d’échantillonnage. À titre d’exemple, il est actuellement possible de doubler la taille de l’image utilisée pour les expériences [figure IV.12](#) sans affecter la période d’échantillonnage.

Les sections [IV.2.1](#) et [IV.2.2](#) montrent une différence en termes de vitesse maximale possible lors du contrôle de trajectoire, $50 \mu\text{m s}^{-1}$ pour les cellules et $150 \mu\text{m s}^{-1}$ pour les microbilles. Le phénomène limitant la vitesse maximale atteignable est le même pour ces deux particules. Au-dessus d’une certaine vitesse, le temps nécessaire à l’inversion du modèle est supérieur à la période d’échantillonnage. Ce phénomène a lieu pour des vitesses différentes pour les billes en verre et les cellules, car leur densité est différente. Les composantes de la force de diélectrophorèse suivant les axes \vec{x} et \vec{y} sont couplées et il est difficile de générer une force de diélectrophorèse d’amplitude élevée suivant l’axe \vec{x} , et très faible suivant l’axe \vec{y} . La densité des billes étant plus de deux fois supérieure à celle des cellules, la force exercée par la gravité et la poussée d’Archimède sur les billes suivant l’axe \vec{y} est nettement supérieure à celle des cellules. Ainsi, la force de diélectrophorèse qu’il est nécessaire d’appliquer suivant l’axe \vec{y} pour maintenir les billes à une alti-

tude constante est supérieure à celle nécessaire pour une cellule. Ainsi, le nombre de vecteurs de commande \mathbf{U} permettant d'induire une vitesse élevée suivant l'axe \vec{x} tout en maintenant la particule à une altitude constante est supérieur pour une bille. Le temps de convergence est donc généralement plus court dans le cas de billes de forte densité que de cellules.

De plus, la densité élevée des billes permet de compenser les erreurs d'estimations de position de l'altitude. Si l'altitude est surestimée, le vecteur de commande \mathbf{U} génère une force suivant l'axe \vec{x} plus grande que nécessaire, entraînant une élévation de la bille. Cependant, sa densité la fera retomber rapidement, permettant une reprise du suivi de trajectoire. La simulation [figure III.8](#) montre que la perte de contrôle de particules denses est induite par une accumulation suivant \vec{x} . Dans le cas d'une cellule, la force exercée par la poussée d'Archimède et la gravité suivant \vec{y} est plus faible, entraînant une sédimentation plus longue et une perte du suivi de trajectoire dans le cas d'une surestimation de l'altitude.

La limitation concernant le temps d'inversion du modèle est également directement liée à la capacité de calcul de l'unité de commande utilisée. Ici un ordinateur Dell T3400 avec un processeur Intel core2duo. Cet ordinateur a plus de quinze ans et possède des capacités de calcul limitées. Il ne possède que deux cœurs de calcul, un utilisé pour l'affichage à 25 Hz et le second pour le calcul à 125 Hz, ce qui ne permet pas d'optimiser l'implémentation du contrôleur. Ainsi, il est possible qu'implémenter l'algorithme de commande présenté dans ce chapitre sur un ordinateur plus récent permette d'améliorer les performances obtenues. Toutefois, la réalisation de ces suivis de trajectoires avec ce matériel, possédant des performances aujourd'hui proche d'ordinateurs types "Raspberry Pi", montre la possibilité de réaliser des systèmes de manipulation par diélectrophorèse à faible coût et peu encombrants.

Concernant les cellules, les tests de viabilité attestent que celles-ci sont toujours vivantes après manipulation par diélectrophorèse, cependant, cela ne donne pas d'informations sur leur fonction physiologique. Une prochaine étape consisterait à soumettre un grand nombre de cellules à la diélectrophorèse avant d'observer si leurs fonctions physiologiques sont toujours actives.

IV.3 CONCLUSION

Ce chapitre présente les résultats expérimentaux obtenus concernant la manipulation en boucle fermée d'objets micrométrique par diélectrophorèse.

La plateforme mise en place pour réaliser les expériences de suivi de trajectoire a été présentée. Le matériel utilisé afin de générer les signaux et le traitement d'images permettant d'extraire la position de l'objet manipulé suivant l'axe \vec{x} ont été présentés. Cette partie du dispositif a été validée expérimentalement à travers des tests de réponses impulsionnelles.

Une première partie de ce chapitre a été consacrée à la description de l'environnement mis en place pour pouvoir travailler avec des objets biologiques ainsi que la description des objets manipulés. Une étude sur le milieu pour garantir la viabilité des cellules et le bon fonctionnement de la diélectrophorèse a été présentée. Une attention a été portée à la réalisation d'un milieu permettant d'observer la viabilité de la cellule déplacée par diélectrophorèse pendant les expériences.

Une seconde partie de ce chapitre présente les puces microfluidiques utilisées pour les expériences ainsi que leur processus de fabrication. Une étude sur l'impact de l'épaisseur des électrodes sur la manipulation par diélectrophorèse est proposée. Il semble que des électrodes très fines, avec une épaisseur de l'ordre de quelques dizaines de nanomètres, engendrent une concentration de champs électriques à leur bord détruisant les cellules avec de faibles tensions et créant un flux de convection déplaçant les cellules. Ces constatations expérimentales nous ont conduits à privilégier des électrodes de quelques centaines de nanomètres d'épaisseur.

Une troisième partie de ce chapitre détaille les résultats expérimentaux obtenus sur des particules micrométriques artificielles et des cellules biologiques. Des lymphocytes T ont été dirigés le long de différentes trajectoires. Une trajectoire triangulaire, une trajectoire sinusoïdale et une trajectoire plus complexe. L'erreur maximale mesurée sur ces trois trajectoires est de $4.5 \mu\text{m}$ pour des vitesses allant jusqu'à $50 \mu\text{m s}^{-1}$. Soit une erreur inférieure au rayon de la cellule pour une vitesse de dix fois son rayon par seconde. Des tests de viabilités ont été réalisés après que les cellules aient été déplacées par diélectrophorèse et attestent que la diélectrophorèse, avec les signaux et le milieu utilisés, n'affecte pas la viabilité des cellules lors des tests par bleu de trypan. Des microbilles en borosilicate ont également été dirigées le long de trajectoires triangulaires à différentes vitesses. L'erreur moyenne mesurée au cours des différentes expériences est inférieure à $2 \mu\text{m}$ jusqu'à $150 \mu\text{m s}^{-1}$. Pour des vitesses plus élevées, le temps nécessaire à l'inversion du modèle est supérieur au temps d'échantillonnage, ce qui ne permet plus de suivre la trajectoire. Ces performances ont été obtenues avec un contrôleur simplifié n'utilisant pas l'observateur pour corriger l'estimation de l'altitude faite par le modèle. Cette simplification est possible en raison de la densité importante des microbilles en verre.

Enfin les résultats obtenus ont été mis en perspectives et des possibilités d'amélioration ont été proposées.

Ce chapitre montre, à notre connaissance, le premier contrôle de trajectoire en 2D en boucle fermée sur des cellules biologiques à l'aide d'un actionnement par diélectrophorèse et d'un retour visuel. Pour aller plus loin, le chapitre suivant présente l'extension de ces résultats pour un contrôle en 3D. De plus, le retour visuel induit des limitations comme la complexité de mise en place liée aux problématiques d'éclairage, l'absence d'information sur l'altitude, le faible champ de vision. Le chapitre suivant présente également une solution basée sur une mesure d'impédance qui permettra à l'avenir d'effectuer des suivis de trajectoires en 3D dont la mesure de position sera basée sur des principes électriques.

Chapitre V

Commande avancée par diélectrophorèse

V.1	Contrôle 3D d'objets micrométriques	107
V.1.1	Conception de l'actionnement pour un contrôle en 3D.	107
V.1.2	Modèle direct et inverse.	108
V.1.3	Algorithme de contrôle de suivi de trajectoire en 3D	110
V.1.4	Simulation de contrôle de trajectoire en 3D.	110
	V.1.4.1 Manipulation d'une particule	111
	V.1.4.2 Manipulation simultanée de deux particules.	111
V.1.5	Bilan.	113
V.2	Dispositif de tri d'objets micrométriques tout électrique.	115
V.2.1	Configuration des électrodes	116
V.2.2	Algorithme de détection de pics	117
	V.2.2.1 Détection de pics par dérivation	117
	V.2.2.2 Détection de pics par intégration.	119
	V.2.2.3 Validation en simulation	121

V.2.3	Actionnement	122
V.2.4	Plateforme expérimentale	123
V.2.4.1	Puce microfluidique.....	123
V.2.4.2	Génération et traitement des signaux	123
V.2.4.3	Milieu, microbilles et contrôle du fluide	126
V.2.4.4	Observation visuelle.....	127
V.2.5	Validations expérimentales	127
V.2.5.1	Changement de position de particules.....	128
V.2.5.2	Tri en fonction de la taille	131
V.2.6	Bilan.....	134
V.3	Conclusion	135

Les chapitres précédents ont proposé un algorithme de commande en boucle fermée ainsi qu'une plateforme expérimentale dédiée au contrôle de trajectoire permettant le contrôle en position d'objets biologiques et artificiels par diélectrophorèse. Cependant, les résultats présentés sont limités au contrôle d'une trajectoire selon deux dimensions d'un objet unique à partir de données issues d'une caméra. Pour aller vers des systèmes avec des performances accrues, ce chapitre propose deux extensions.

La première est le contrôle de trajectoires en trois dimensions de plusieurs objets micrométriques de manière simultanée, mais indépendante. Ce système est présenté et validé en simulation.

La deuxième extension est le résultat d'une collaboration avec le professeur Federica Caselli de l'université Tor Vergata à Rome. Elle présente un nouveau dispositif microfluidique actionné par diélectrophorèse permettant un positionnement d'objets micrométriques dans un canal en utilisant comme retour d'informations des données d'impédance. L'algorithme de traitement de données ainsi que des expériences sont présentées.

V.1 CONTRÔLE 3D D'OBJETS MICROMÉTRIQUES

Ce chapitre présente une extension du dispositif présenté chapitres III et IV. Le but est de permettre le contrôle 3D de plusieurs objets micrométriques par diélectrophorèse en utilisant les algorithmes et le modèle basé sur les séries de Fourier présenté chapitre III. Dans un premier temps, le principe de fonctionnement de ce dispositif est présenté. Puis, une validation en simulation du contrôle simultané en trois dimensions de deux particules simultanées est réalisée.

V.1.1 Conception de l'actionnement pour un contrôle en 3D

Le chapitre IV a permis de valider expérimentalement le contrôle en boucle fermée d'objets micrométriques en utilisant des électrodes parallèles. Toutefois, la conception de ce dispositif le limite à un contrôle à deux dimensions. En effet, en considérant des électrodes parallèles dans le plan (O, x, z) avec une géométrie invariante suivant l'axe \vec{z} , la force de diélectrophorèse qu'il est possible de générer est nulle suivant l'axe \vec{z} .

Cette section propose un dispositif basé sur les modèles présentés au chapitre III et validés expérimentalement chapitre IV pour manipuler en trois dimensions des objets micrométriques. Pour ce faire, une puce microfluidique, avec une nouvelle conception, est proposée. Elle est composée de deux plans d'électrodes parallèles, un plan supérieur et un plan inférieur espacés d'une distance de quelques micromètres. Le plan supérieur est composé d'électrodes parallèles dans le plan

(O_{sup}, x, z) avec une géométrie invariante suivant l'axe \vec{x} . Il permet de générer une force de diélectrophorèse suivant les axes \vec{z} et \vec{y} . Le plan inférieur est composé d'électrodes parallèles dans le plan (O_{inf}, x, z) avec une géométrie invariante suivant l'axe \vec{z} . Il permet de générer une force suivant les axes \vec{x} et \vec{y} . Cette conception de puce est présentée figure V.1.

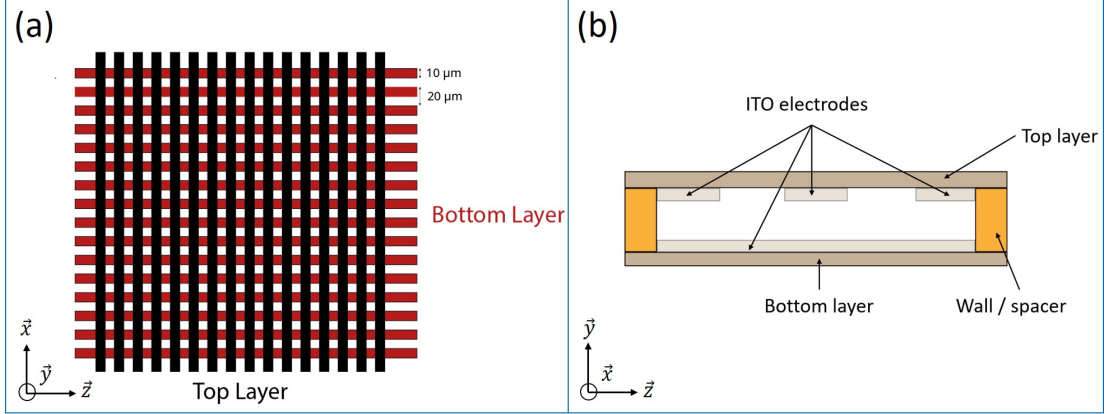


FIGURE V.1 – (a) Représentation du dispositif en vue de dessus. (b) Représentation du dispositif en vue de côté. Le plan supérieur possède des électrodes parallèles suivant l'axe \vec{x} et le plan inférieur possède des électrodes suivant l'axe \vec{z} .

Il en résulte, en vue de dessus, un quadrillage d'électrode. En utilisant ces deux plans d'électrodes simultanément, il est ainsi possible de générer une force de diélectrophorèse permettant de déplacer en trois dimensions une particule micro-métrique. Le plan supérieur étant composé d'électrodes, il est possible de générer une force de diélectrophorèse négative suivant l'axe \vec{y} et facilite le contrôle de l'altitude de la particule.

La prochaine partie détaille les modifications apportées au modèle direct défini section III.1 page 51 et au modèle inverse défini section III.2 page 57 pour être adaptés à cette nouvelle architecture de système.

V.1.2 Modèle direct et inverse

Le système étant composé d'électrodes parallèles, il est possible d'utiliser le modèle présenté en section III.1 pour modéliser le champ électrique. En considérant que les électrodes du plan inférieur et supérieur sont parfaitement orthogonales, et en utilisant la formulation définie section III.2, le champ électrique généré par chacun des plans peut être défini par :

$$\mathbf{E}_{Inf} = -\vec{\nabla}(\phi_{Inf}) = - \begin{bmatrix} 0 \\ \frac{\partial \phi}{\partial y} \mathbf{A}_{inf} U_{inf} \\ \frac{\partial \phi}{\partial z} \mathbf{A}_{inf} U_{inf} \end{bmatrix} \quad (\text{V.1})$$

$$\mathbf{E}_{Sup} = -\vec{\nabla}(\phi_{Sup}) = - \begin{bmatrix} \frac{\partial e^T}{\partial x} \mathbf{A}_{sup} U_{sup} \\ \frac{\partial e^T}{\partial y} \mathbf{A}_{sup} U_{sup} \\ 0 \end{bmatrix} \quad (\text{V.2})$$

avec :

- \mathbf{e}^T un vecteur de termes exponentiels
- \mathbf{A}_{inf} et \mathbf{A}_{sup} les matrices composées respectivement des coefficients de Fourier des plans inférieur et supérieur.
- \mathbf{U}_{inf} et \mathbf{U}_{sup} les matrices représentant respectivement le potentiel appliqué sur chacune des électrodes du plan inférieur et supérieur.

Ces termes sont définis précisément section III.2. Il est toutefois nécessaire de prendre en compte que la source du champ électrique généré par le plan supérieur est à une altitude h_{sup} et est orienté vers $-\vec{y}$. Le code permettant de calculer la force dans cette configuration est présent en Annexe C.

En utilisant le théorème de superposition du champ électrique, le champ électrique résultant est :

$$\mathbf{E} = \mathbf{E}_{Inf} + \mathbf{E}_{Sup} \quad (\text{V.3})$$

Une fois ce champ électrique obtenu, il est possible de calculer la force de DEP exercée sur l'objet à manipuler :

$$\mathbf{F}_{DEP} = C_{DEP} \begin{bmatrix} E_x \frac{\partial E_x}{\partial x} + E_y \frac{\partial E_x}{\partial y} + E_z \frac{\partial E_x}{\partial z} \\ E_x \frac{\partial E_y}{\partial x} + E_y \frac{\partial E_y}{\partial y} + E_z \frac{\partial E_y}{\partial z} \\ E_x \frac{\partial E_z}{\partial x} + E_y \frac{\partial E_z}{\partial y} + E_z \frac{\partial E_z}{\partial z} \end{bmatrix} \quad (\text{V.4})$$

Ce calcul de la force de diélectrophorèse étant basé sur le modèle présenté dans le chapitre III, il conserve les mêmes avantages. En effet, les paramètres géométriques, de commande et de position restent découplés dans la formulation équation V.4. Dans ce cas de contrôle à trois dimensions, l'équation du mouvement reste l'équation III.13. Les forces s'appliquant sur la particule à déplacer sont similaires au cas à deux dimensions.

Le modèle inverse, permettant de calculer le potentiel à appliquer sur chaque électrode connaissant le déplacement, est également basé sur l'algorithme de recuit simulé. La fonction de coût est modifiée pour prendre en compte la force de diélectrophorèse suivant les trois dimensions. Elle est définie par :

$$i \in [x, y, z]; \quad f_{cost}(\mathbf{U}) = \frac{1}{\sum w_i} \sum w_i \frac{|(F_{DEP,i}^{Des} - F_{DEP,i}(\mathbf{U}))| - \varepsilon_{precision}}{\varepsilon_{precision}} + Flag_{|E|} \quad (\text{V.5})$$

Suivant chaque axe, cette erreur est exprimée en pourcentage par rapport à une valeur fixe appelée $\varepsilon_{precision}$. De plus, chaque axe peut se voir appliquer un poids w_i . Ces poids permettent de pondérer l'importance de la précision de la force de diélectrophorèse calculée suivant chaque axe.

V.1.3 Algorithme de contrôle de suivi de trajectoire en 3D

Les modèles direct et inverse étant similaires aux modèles proposés chapitre III et validés chapitre IV, l'algorithme de contrôle proposé ici est inspiré de celui défini figure III.11 et est présenté figure V.2 avec

$$\mathbf{X} = \begin{bmatrix} x \\ y \\ z \end{bmatrix} \quad (\text{V.6})$$

Représentant la position de la particule. Le retour d'information est obtenu par traitement d'image et permet de mesurer la position suivant les axes \vec{x} et \vec{z} . L'altitude est estimée par l'observateur décrit section III.4.3 en considérant le déplacement dans le plan (O, x, z) et non plus le déplacement uniquement suivant l'axe \vec{x} . Ainsi l'équation III.21 devient :

$$\tilde{y}^{corr} = \tilde{y} + \frac{K_p^{corr}}{sl_{mean}} \left(\frac{\delta xz - \delta xz^{th}}{\delta xz^{th}} \right) \quad (\text{V.7})$$

avec δxz le déplacement dans le plan (O, x, z) .

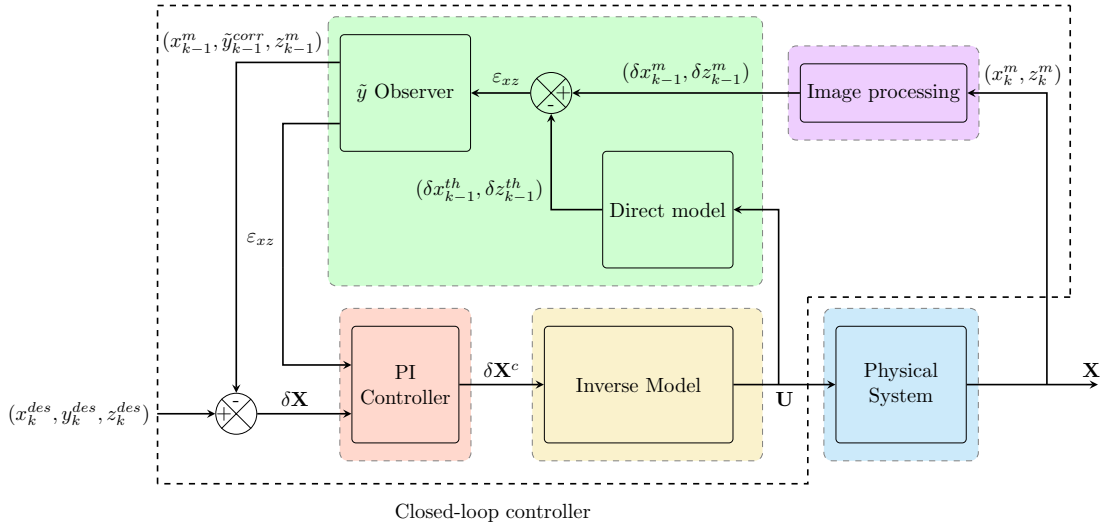


FIGURE V.2 – Description du contrôleur permettant un contrôle en trois dimensions d'objets micrométriques par diélectrophorèse.

V.1.4 Simulation de contrôle de trajectoire en 3D

Cette partie présente des simulations de contrôle de trajectoire en trois dimensions. La puce microfluidique considérée possède deux plans d'électrodes et est définie figure V.1. Chaque plan d'électrode est composé de huit électrodes. Les paramètres de simulation utilisés sont définis par le tableau III.1. La distance entre

les deux plans d'électrodes est de 50 μm . Ces simulations sont réalisées sur un ordinateur équipé d'un processeur Intel Core i7 cadencé à 1.90 GHz avec 16 Gbit de mémoire vive.

V.1.4.1 Manipulation en trois dimensions d'une particule

La première simulation se concentre sur le suivi d'une trajectoire en trois dimensions. Les trajectoires de référence suivant les axes \vec{x} et \vec{z} sont définies par :

$$\begin{cases} x_{ref} = 100 \times 10^{-6} + 20e^{-6} \cos(t \frac{2\pi}{400}) \\ y_{ref} = 1.25 \times 10^{-8} t + 25 \times 10^{-6} \\ z_{ref} = 90 \times 10^{-6} + 20 \times 10^{-6} \cos(t \frac{2\pi}{200}) \end{cases} \quad (\text{V.8})$$

Il s'agit de deux trajectoires sinusoïdales avec des fréquences différentes. Selon \vec{y} , la trajectoire est une droite de pente constante. Le but est ici de montrer le découplage de l'actionnement suivant chaque axe et de vérifier les performances du contrôleur. Aucune imprécision sur les propriétés de l'objet n'est considérée. La fréquence d'échantillonnage pour cette simulation est de 65 Hz.

Les résultats de la simulation sont présentés figure V.3. La figure V.3(a) montre la trajectoire de référence et la trajectoire suivie par la particule simulée dans le plan (O, x, z) . Les deux trajectoires sont très proches avec une erreur maximale de 0.6 μm . La figure V.3(b) montre la trajectoire de référence ainsi que la trajectoire simulée suivant l'axe \vec{y} . La figure V.3(c) montre le temps de calcul nécessaire à l'algorithme de contrôle pour calculer le vecteur de commande \mathbf{U} représentant le potentiel à appliquer sur chaque électrode pour suivre la trajectoire de référence. Le temps de calcul maximal est inférieur à 9 ms. Ce faible temps de calcul et les faibles erreurs en position montrent la possibilité d'utiliser cet algorithme pour faire suivre une trajectoire arbitraire, en trois dimensions, à une particule micrométrique avec une fréquence d'échantillonnage de 65 Hz.

V.1.4.2 Manipulation simultanée en 3D de deux particules

Cette simulation a pour but de valider la manipulation simultanée de deux particules. Deux particules identiques sont considérées. Les propriétés du milieu, des particules et des électrodes sont définies tableau III.1. Les trajectoires à suivre pour chaque particule sont différentes afin de démontrer la possibilité de contrôler chaque particule indépendamment. Le contrôleur utilisé est identique à celui présenté section V.2 en considérant cette fois-ci :

$$\mathbf{X} = [\mathbf{X}_1, \mathbf{X}_2] = \begin{bmatrix} x_1, x_2 \\ y_1, y_2 \\ z_1, z_2 \end{bmatrix} \quad (\text{V.9})$$

avec \mathbf{X}_i la position de la particule i . La fonction de coût est également modifiée pour prendre en compte plusieurs particules. La fonction de coût à minimiser est définie par :

$$f_{cost}(\mathbf{U}) = \frac{1}{\sum \psi_j} \sum_{j=0}^{j=nb_{part}} \psi_j f_{cost}^{p_j}(\mathbf{U}) \quad (\text{V.10})$$

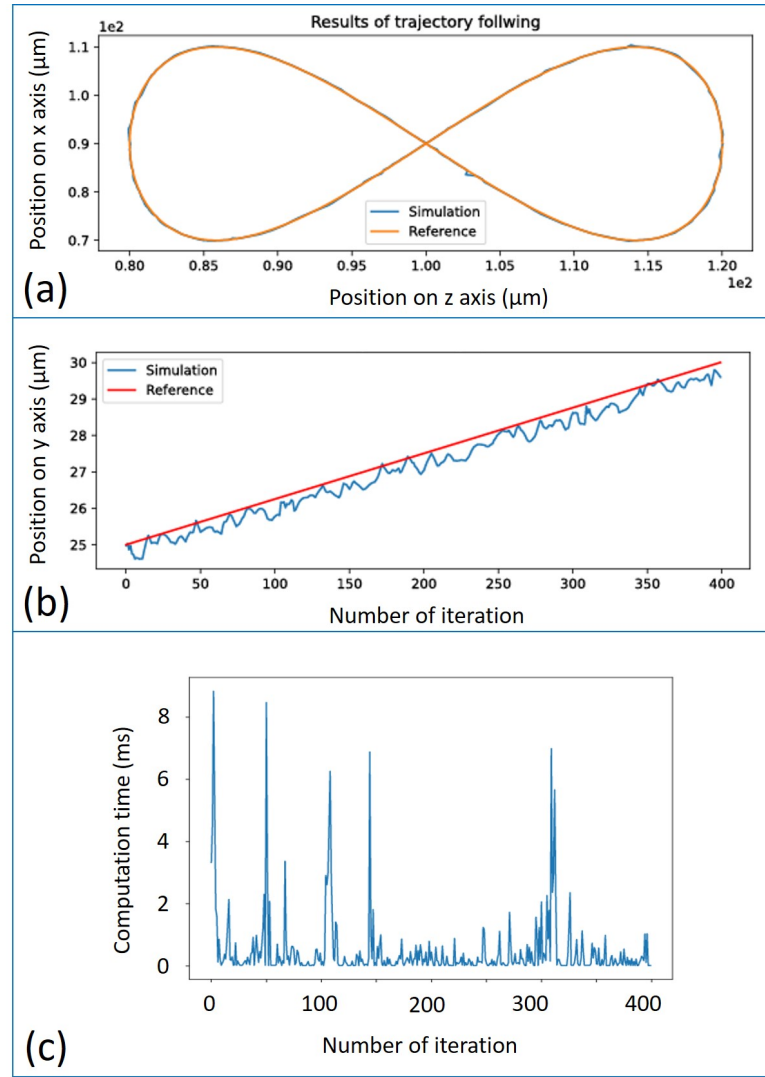
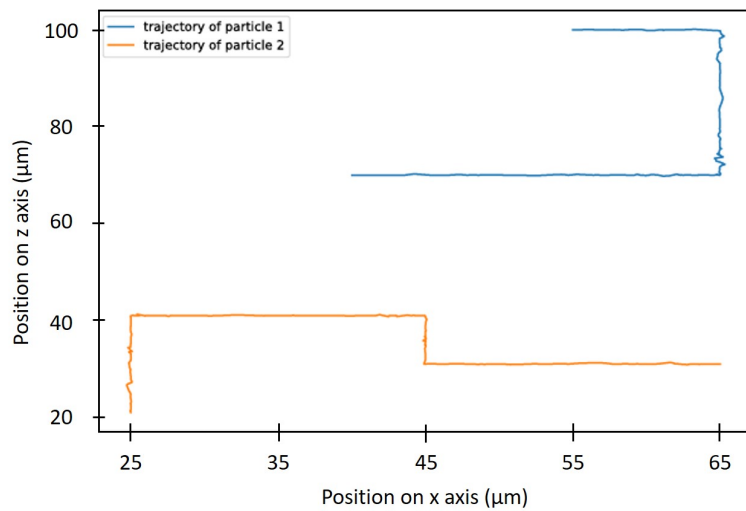


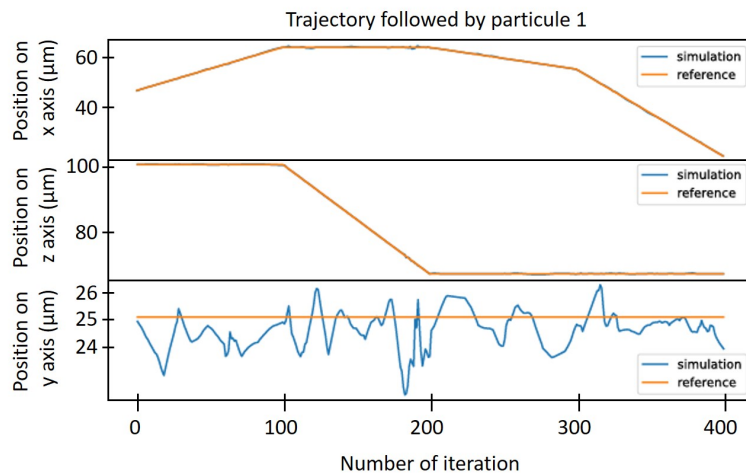
FIGURE V.3 – (a) Représentation de la trajectoire de référence ainsi que de la trajectoire simulée dans le plan (O, x, z) . (b) Représentation de la trajectoire de référence ainsi que la trajectoire simulée suivant l'axe \vec{y} . (c) Représentation du temps de calcul nécessaire à l'algorithme de commande pour calculer le potentiel à appliquer sur chaque électrode.

où nb_{part} est le nombre de particules manipulées en simultané, ψ_j est un paramètre permettant de pondérer la contribution de chaque particule à la fonction de coût total et $f_{cost}^{p_j}(\mathbf{U})$ est la fonction de coût définie équation V.5 appliquée à la particule j .

Le résultat d'une simulation est présenté figure V.4. Cette figure est composée de quatre sous-figures représentant la trajectoire suivie par chacune des particules en vue de dessus, la comparaison entre la trajectoire de référence et la trajectoire simulée de chaque particule suivant chaque axe ainsi que le temps de calcul nécessaire à chaque itération. Il en résulte que les deux particules sont contrôlées indépendam-



(a) Trajectoires suivies par les deux particules.

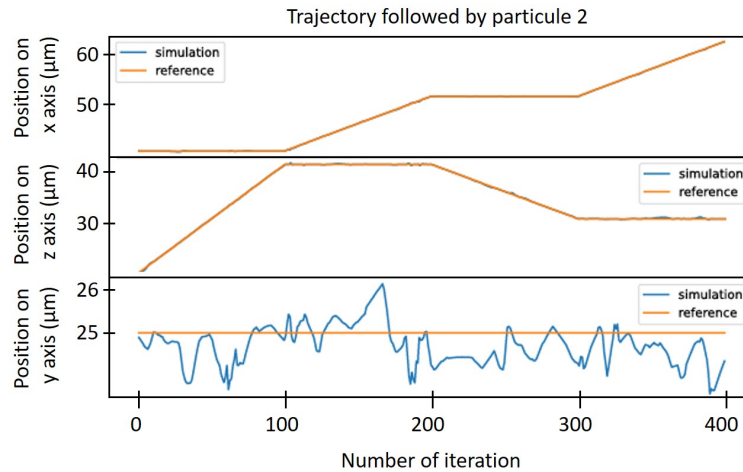


(b) Trajectoire de référence et trajectoire simulée suivant chaque axe pour la particule 1.

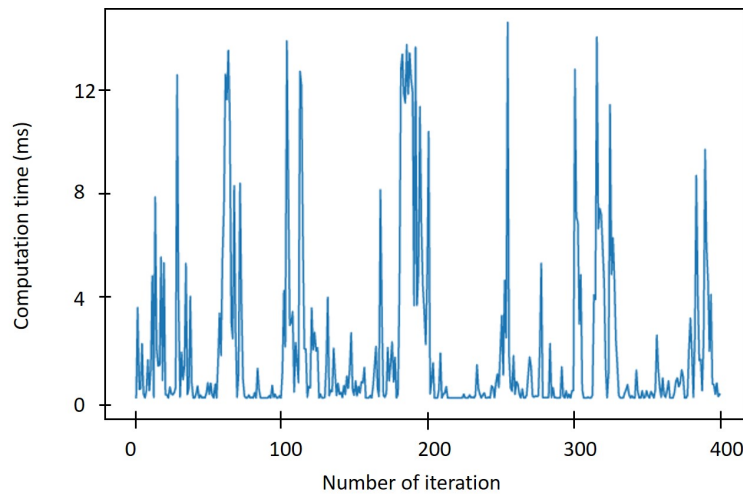
ment et suivent respectivement leur trajectoire de référence. L'erreur maximale, en considérant les deux particules et les trois axes, est inférieure à $1.5 \mu\text{m}$. Le temps de calcul maximal nécessaire au cours de la simulation est inférieur à 15 ms , ce qui permet d'utiliser cet algorithme à une période d'échantillonnage d'environ 60 Hz .

V.1.5 Bilan

Cette section propose une puce microfluidique composée de deux plans d'électrodes permettant le contrôle en trois dimensions de particules micrométriques. Chaque plan est composé d'électrodes parallèles. La direction des électrodes du plan supérieur est orthogonale à la direction des électrodes inférieures. Chaque plan d'électrode permet de générer une force de diélectrophorèse suivant deux directions. Ainsi, la combinaison des deux permet de générer une force de diélec-



(c) Trajectoire de référence et trajectoire simulée suivant chaque axe pour la particule 2.



(d) Temps de calcul nécessaire à l'algorithme de commande pour trouver le potentiel à appliquer sur chaque électrode afin de suivre la trajectoire de référence.

FIGURE V.4 – Simulation du contrôle simultané, en trois dimensions, de la trajectoire de deux particules avec des propriétés identiques.

trophorèse en trois dimensions avec une redondance suivant l'altitude \vec{y} . Cette géométrie d'électrodes permet de réutiliser les modèles directs et inverses développés chapitres III avec de légères modifications afin de contrôler le déplacement d'une particule suivant les trois directions. Des simulations ont permis de valider le contrôle en trois dimensions de particules micrométriques avec des temps de calcul inférieurs à 15 ms et une erreur en position de l'ordre du micromètre. Une simulation montre également la possibilité de manipuler simultanément plusieurs particules.

Des validations expérimentales restent à mener pour valider la conception de cette puce microfluidique ainsi que l'utilisation de ce contrôleur en conditions réelles.

V.2 DISPOSITIF DE TRI D'OBJETS MICROMÉTRIQUES TOUT ÉLECTRIQUE

Les sections précédentes de cette thèse présentent un dispositif permettant le contrôle de trajectoire d'objets biologiques et artificiels. L'attention était portée sur le suivi de trajectoire complexe nécessitant un retour d'information par vision. Cette section se concentre sur la conception et la validation d'un dispositif actif de tri d'objet micrométrique ne nécessitant pas d'information visuelle pour fonctionner. Les capteurs majoritairement utilisés dans ces applications sont basés sur la vision. Cependant, les caméras sont limitées en termes de vitesse d'acquisition et de champ de vision. De plus, ces méthodes nécessitent un marquage par fluorescence des cellules pour les différencier, ce qui est un problème si celles-ci ont pour but d'être réutilisées pour la confection de médicaments.

La section I.4 page 20 présente des alternatives aux systèmes de vision conventionnels. Le principe de la spectroscopie d'impédance y est expliqué. Elle est basée sur la mesure de variation d'impédance et donc de courant induit par la présence d'un objet. Cette méthode est actuellement utilisée dans des canaux microfluidiques pour le comptage de cellules ou la caractérisation de cellules par post-traitement des signaux. Cette méthode se caractérise par une vitesse d'acquisition de plusieurs dizaines de kilohertz. De plus, la mesure d'impédance étant locale et peu encombrante, il est possible d'effectuer plusieurs mesures simultanément à différentes positions et donc, de paralléliser les lieux de tris sur un même dispositif pour augmenter le nombre de cellules triées par minutes par dispositif. Enfin, cette méthode ne nécessite pas de marquer les cellules pour pouvoir les caractériser. Elle permet, en fonction des signaux d'excitation choisis, de caractériser différentes propriétés des cellules [Honrado 21] et d'en mesurer la position relativement aux électrodes [Daguerre 21].

Cette section présente une puce microfluidique pour le tri d'objets micrométriques, actionnée par diélectrophorèse, utilisant des mesures d'impédance pour mesurer la position et les propriétés des cellules en temps réel. Ce dispositif ne nécessite pas de caméra ni de microscope pour fonctionner, ce qui réduit considérablement l'encombrement du dispositif ainsi que son coût, tout en augmentant son débit, *i.e.* le nombre de particules triées par minutes. L'efficacité du dispositif proposé est évaluée à travers deux démonstrations expérimentales :

1. le changement de position initiale d'une particule
2. le tri en fonction de la taille

Ces deux développements sont présentés figure V.5. Ces travaux ont été effectués en collaboration avec le professeur Federica Caselli de l'université Tor Vergata à Rome, lors d'un séjour d'un mois en Italie.

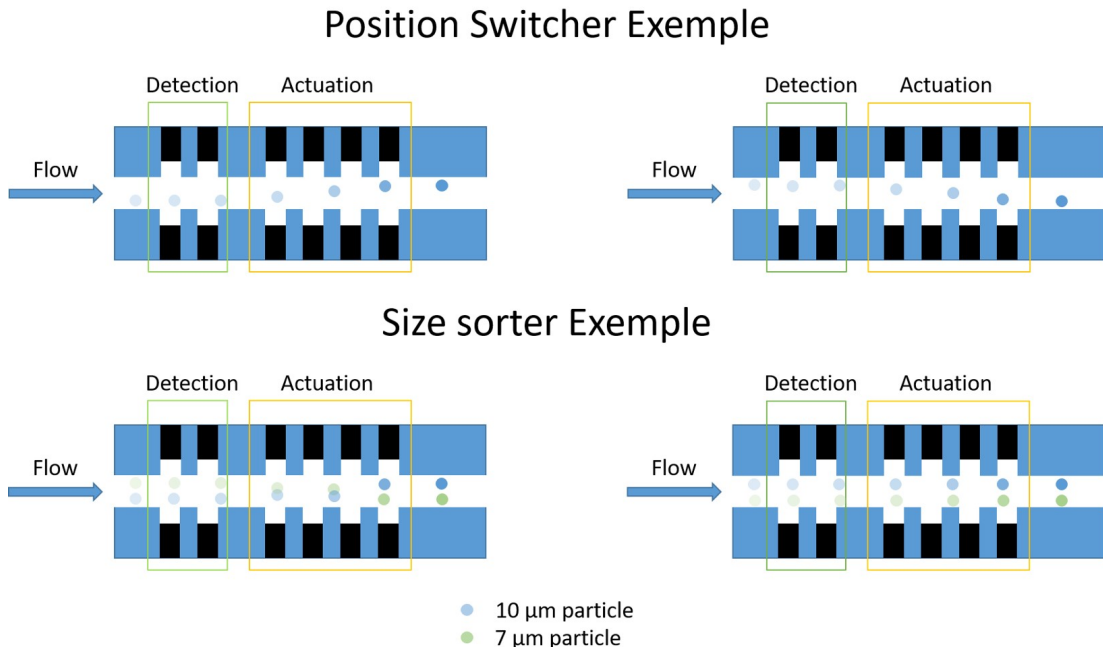


FIGURE V.5 – Présentation des applications visées : le changement de position latéral de particules dans un canal et le tri en fonction de la taille.

Cette section débute par une présentation de la configuration d'électrodes choisie. Les algorithmes de traitement du signal permettant de détecter et d'extraire des informations sur les objets micrométriques sont présentés. Puis, un système expérimental est conçu et réalisé et les résultats expérimentaux de contrôle d'objets micrométriques par une approche tout électrique sont exposés et discutés.

V.2.1 Configuration des électrodes

Dans le cas de puces microfluidiques, la mesure d'impédance est utilisée pour caractériser un fluide, et des objets contenus entre deux ou plusieurs électrodes. Lorsqu'un objet avec des propriétés électriques différentes du fluide passe proche des électrodes, celui-ci perturbe le passage du courant et entraîne une variation d'impédance. En utilisant plusieurs électrodes et des configurations d'excitation complexes, il est possible d'utiliser la dépendance spatiale de la variation d'impédance induite par un objet pour en déduire la position de la particule relativement aux électrodes [Reale 18],[Daguerre 21].

Pour les démonstrations expérimentales choisies, le premier travail consiste à définir une configuration d'électrodes permettant d'extraire la taille et la position des particules à partir de la variation d'impédance. Une configuration proposée par

le groupe du professeur Caselli est présentée figure V.6(a). La figure V.6(b) montre la variation de courant, induite par le passage de particules entre les électrodes en fonction de leur position initiale. Le signal mesuré est une gaussienne bipolaire asymétrique dont les paramètres caractéristiques sont présentés en figure V.6(c). Avec cette configuration, la position latérale de la particule est représentée par [Caselli 17] :

$$\Delta = \frac{a_2 - a_1}{(a_1 + a_2)/2} \quad (\text{V.11})$$

À partir de ces informations, le diamètre peut également être estimé indépendamment de la position particule par [Caselli 17] :

$$D = \frac{D_{raw}}{1 + b(\Delta - c)^2} \quad \text{avec} \quad D_{raw} = G[(a_1 + a_2/2)]^{1/3} \quad (\text{V.12})$$

où b et c sont des coefficients indépendants de la taille de la particule, G est un coefficient fonction de la géométrie des électrodes et D_{raw} est une estimation du diamètre dépendante de la position de la particule.

Cette configuration d'électrodes est donc choisie pour la suite de ces travaux. La section suivante présente deux algorithmes de traitement du signal permettant d'identifier en temps réel les paramètres caractéristiques d'une gaussienne bipolaire asymétrique définie figure V.6(c).

V.2.2 Algorithme de détection de pics

En considérant un dispositif avec une conception identique à celle présentée figure V.6, le passage d'une particule entre les électrodes produit une variation de courant de forme gaussienne bipolaire asymétrique. En considérant les équations V.11 et V.12, les informations relatives à la position et au diamètre de la particule sont directement liées aux paramètres a_1 et a_2 caractérisant cette gaussienne.

Cette section présente un algorithme de détection de pics, pouvant fonctionner à plusieurs kilohertz, permettant d'extraire les paramètres a_1 et a_2 définis figure V.6(c). Deux algorithmes ont été développés, un premier basé sur la dérivée de la variation de courant mesuré ainsi qu'un second basé sur l'intégration de ce signal¹.

V.2.2.1 Détection de pics par dérivation

Dans un premier temps, le signal brut représentant le courant mesuré est filtré en utilisant une moyenne glissante définie comme :

$$\bar{x}_n = \frac{1}{v} \sum_{k=0}^{v-1} x_{n-k} \quad (\text{V.13})$$

1. Cet algorithme à été conçu par l'équipe du professeur Caselli. Il a été implémenté, testé et optimisé en collaboration avec les professeurs Caselli et Bisegna lors du séjour d'une durée de un mois en Italie.

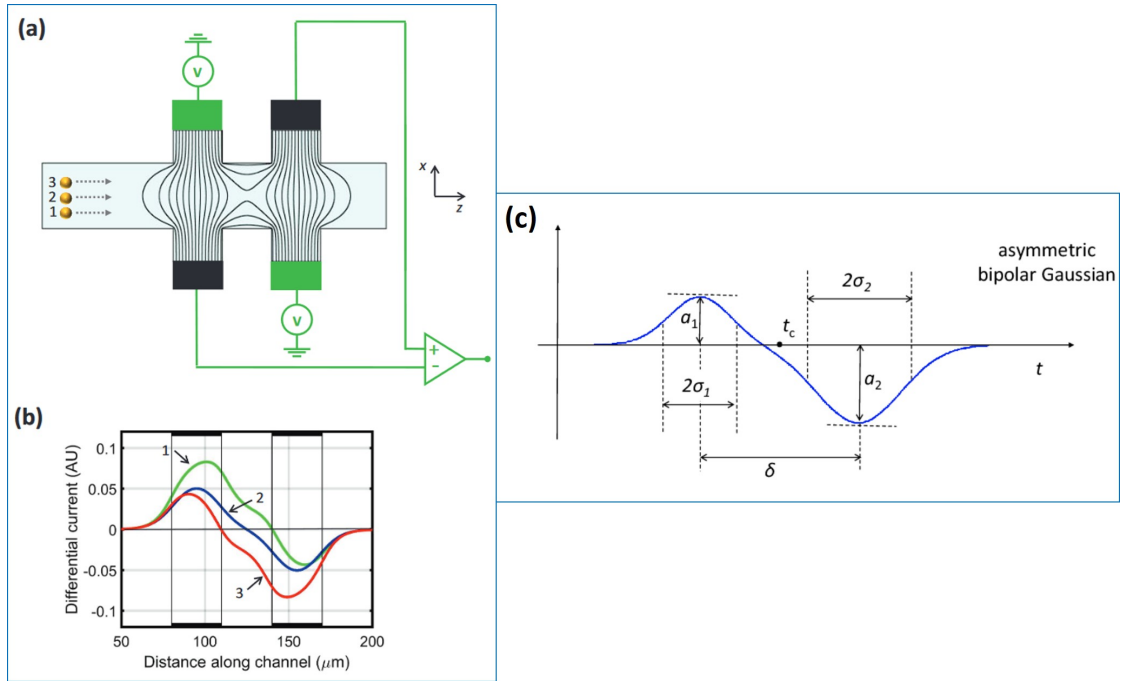


FIGURE V.6 – Utilisation d'électrodes dites "liquides" inspirées de [Demierre 08] pour permettre la mesure de la position latérale de particules par impédance [Reale 19]. (a) Représentation de la position initiale de trois particules ainsi que de la position des électrodes. Le courant alternatif est injecté par les électrodes en vert. La mesure utilisée est la différence de courant entre les deux électrodes noires afin de limiter le bruit de mesure. (b) Variation de courant mesuré induite par chaque particule en fonction de leur position. (c) Paramètres caractéristiques des courbes de variation de courant lors du passage d'une particule entre les électrodes présentées en (a) [Caselli 17].

avec v le nombre de données utilisées pour calculer la moyenne. La valeur de v dépend de la fréquence d'échantillonnage. Ce signal filtré est ensuite dérivé. La dérivée représente la variation de courant entre deux points :

$$\forall n > lag \quad d\bar{x} = \frac{\bar{x}_n - \bar{x}_{n-lag}}{lag} \quad (V.14)$$

avec n et lag le numéro des échantillons considérés. La prise en compte de deux échantillons non consécutifs ($lag > 1$) permet de filtrer le bruit présent sur la dérivée. Ce calcul de la dérivée précédé d'un filtrage agit comme un filtre passe-bande et permet de filtrer les variations avec des dynamiques très importantes ainsi que la composante continue du signal. La figure V.7 représente ces deux premières étapes de traitement du signal appliquées sur un jeu de données issues d'expériences réalisées avec la géométrie d'électrodes et le schéma d'alimentation présenté figure V.6.

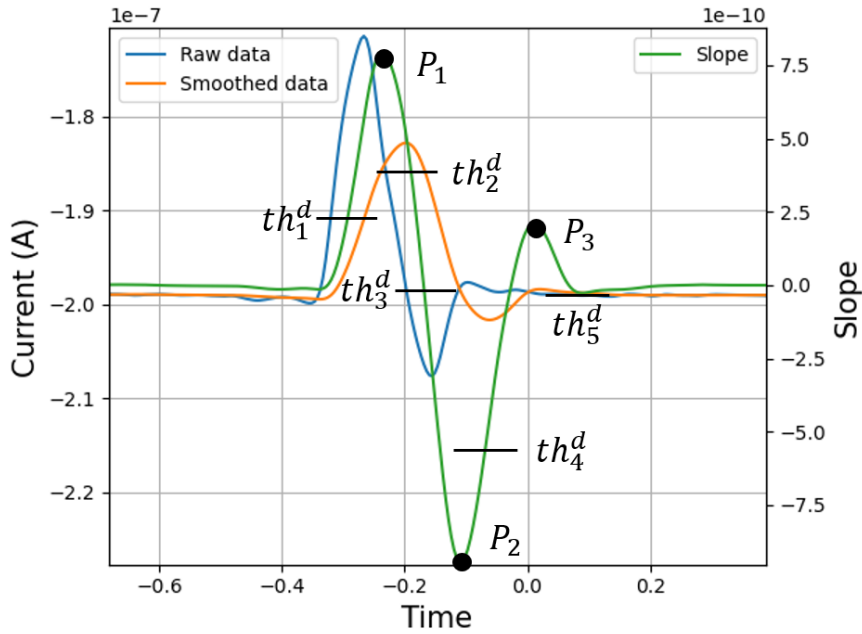


FIGURE V.7 – Représentation des premières étapes de l'algorithme de détection de pics basé sur la dérivée. La courbe bleue représente le signal d'impédance brute, la courbe orange représente le signal filtré par moyenne glissante et la courbe verte représente la dérivée du signal filtré. Les points et les droites représentent les paramètres permettant de définir l'algorithme.

La dérivée représentée par la courbe verte sur la figure V.7 est le signal utilisé pour déclencher le changement d'état de l'algorithme de détection de pics. Pour tout passage de particules entre les électrodes, la courbe représentant la dérivée du signal filtré possède une forme définie par un pic positif, suivi d'un pic négatif et d'un dernier pic positif représenté respectivement par les points P_1 , P_2 , P_3 . L'algorithme est une machine à état composé de cinq états dont le passage d'un état à l'autre est défini par les seuils th_i^d figure V.7. Les états et leur transition sont définis dans la figure V.8.

Cette succession de seuils permet d'éviter les fausses détections liées à des perturbations (changement brutal de la composante continue, objet bloqué dans la zone de mesure). Cependant, le nombre de paramètres rend le réglage de l'algorithme fastidieux.

V.2.2.2 Détection de pics par intégration

Une deuxième méthode a également été proposée par Caseli *et al.*. Cet algorithme est également une machine à état composé uniquement de deux états. Dans un premier temps, un filtre passe-haut est appliqué. Il moyenne la valeur du signal sur un grand nombre d'itérations et permet de supprimer la composante continue

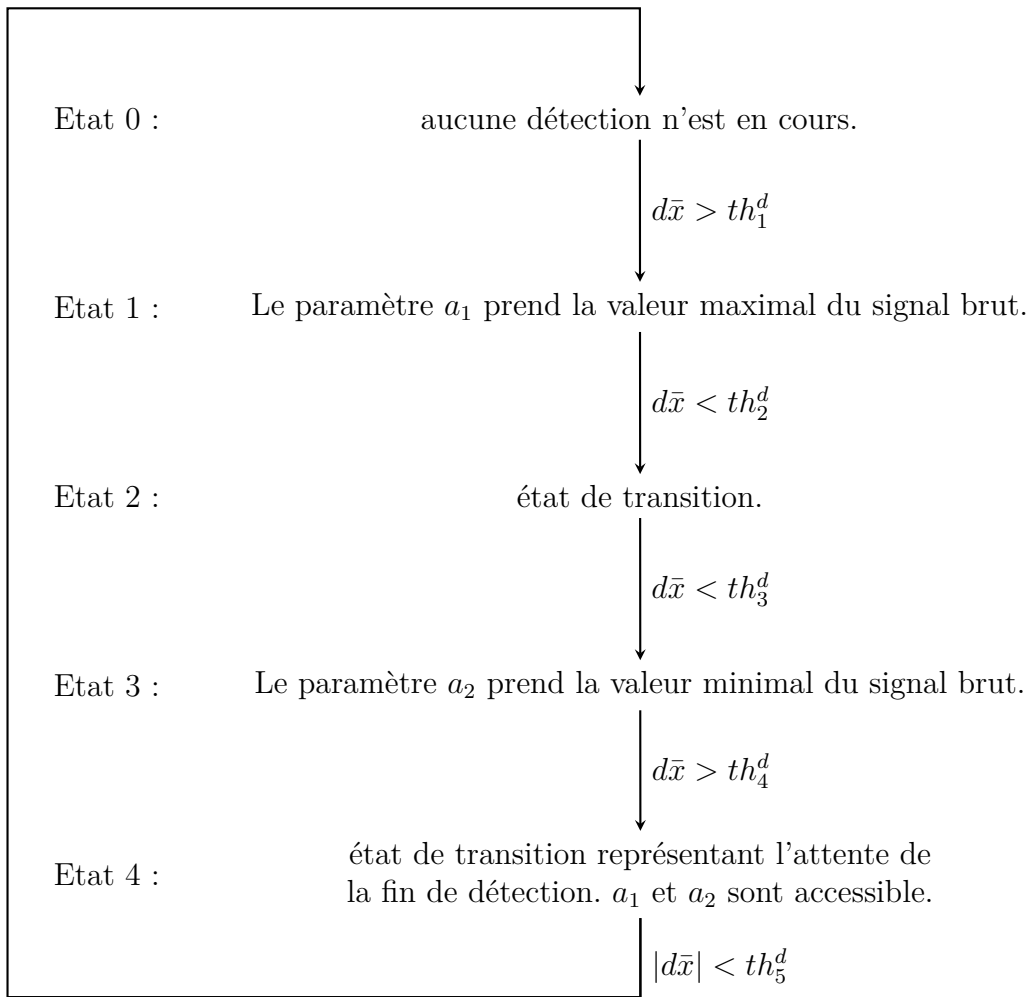


FIGURE V.8 – Définition des différents états de l'algorithme de détection de pics

du signal.

$$\bar{x}_n = x_n - \frac{1}{v_1} \sum_{k=0}^{v_1-1} x_{n-k} \quad (\text{V.15})$$

avec v_1 grand devant δ (nombre d'échantillons entre deux pics définis figure V.6). La valeur absolue du signal est ensuite intégrée :

$$s_n^{int} = \sum_{k=0}^{v_2-1} |\bar{x}_{n-k}| \quad (\text{V.16})$$

avec v_2 le nombre d'échantillons utilisés pour l'intégration. La figure V.9 présente les trois signaux.

Un seuillage est ensuite appliqué sur l'intégrale s^{int} . L'algorithme est initialisé dans l'état 0. Lorsque la valeur de l'intégrale devient supérieure au seuil th_1^i , la détection est active, l'algorithme est dans l'état 1. Lorsque la valeur redevient inférieure à th_2^i l'algorithme passé à l'état 0. Durant l'état 1, la recherche de valeur

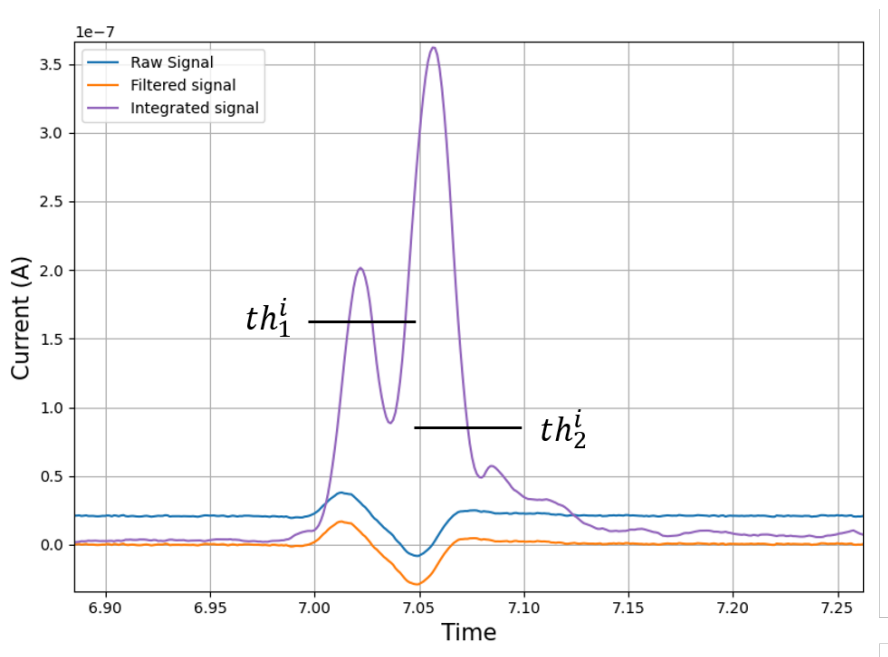


FIGURE V.9 – Représentation des premières étapes de l’algorithme de détection de pics basé sur l’intégration du signal. Les traits horizontaux représentent les différents seuils nécessaires à l’algorithme.

minimale et maximale du signal brut permet l’identification des paramètres a_1 et a_2 . Cet algorithme est plus simple à paramétrer du fait du peu de paramètres, mais est plus sensible aux fausses détections.

V.2.2.3 Validation en simulation

Les deux algorithmes de détection de pics, par dérivation et par intégration, ont été testés en simulation. Ils ont été implémentés en Python et appliqués sur des données fournies par le professeur Federica Caselli. Ces données sont issues d’expériences avec des microbilles de diamètre $10\ \mu\text{m}$ en utilisant une puce microfluidique conçue en respectant les données de la figure V.6. Les deux algorithmes sont implémentés pour pouvoir fonctionner en temps réel sans utiliser de fonctions spécifiques au langage Python. Le résultat d’une détection est présenté pour chaque algorithme figure V.10. Les deux algorithmes identifient a_1 et a_2 , avec des résultats similaires.

Toutefois, les deux algorithmes sont défaillants si plusieurs particules sont présentes dans la zone de mesure. Par conséquent, ce cas n’est pas considéré dans les évaluations expérimentales menées en section V.2.5.

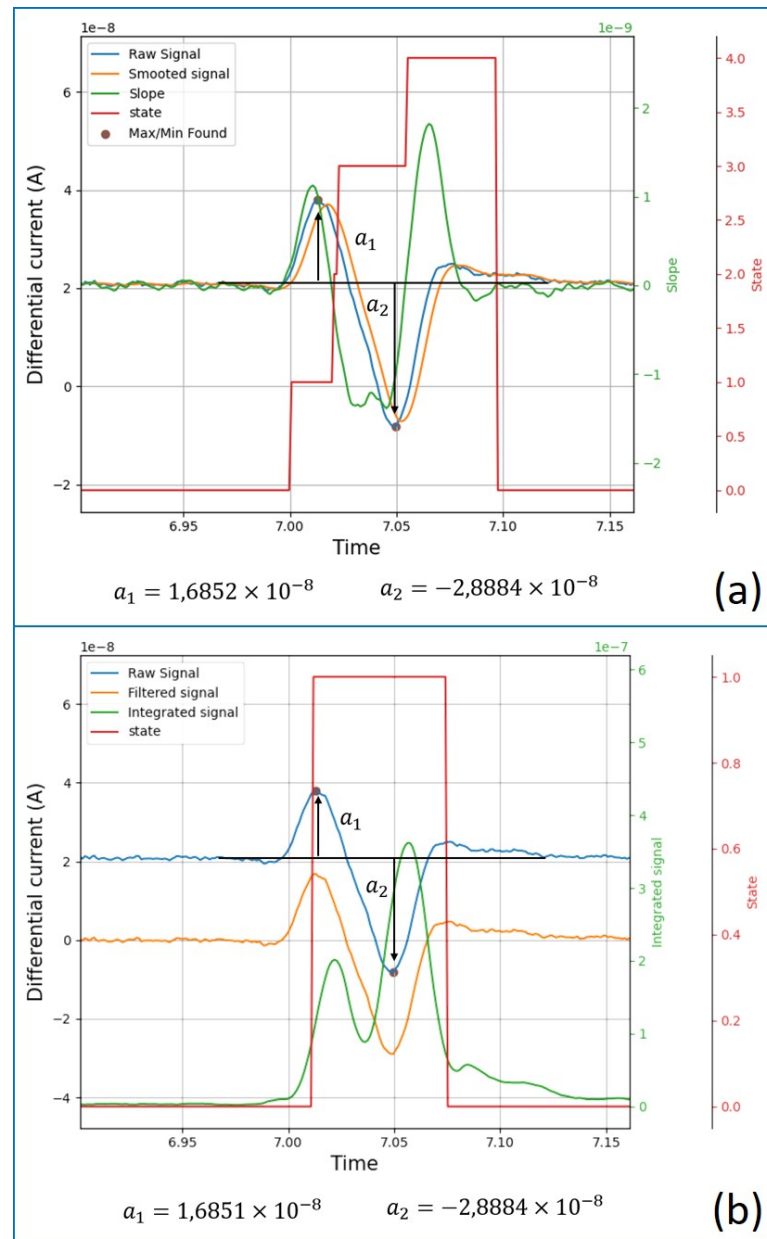


FIGURE V.10 – Résultat des algorithmes de détection de pics en simulation. (a) représente l'extraction de a_1 et a_2 en utilisant l'algorithme par dérivation du signal brut filtré. (b) représente l'extraction de a_1 et a_2 en utilisant l'algorithme par intégration du signal brut filtré.

V.2.3 Actionnement

Après avoir extrait les informations a_1 et a_2 permettant de déduire la position latérale des particules dans le canal ainsi que leur taille, il est nécessaire de déplacer les particules en fonction de la démonstration expérimentale choisie. Le but étant d'obtenir une puce microfluidique tout électrique, la diélectrophorèse est utilisée

pour déplacer les particules dans le canal. La géométrie d'électrodes choisie est également inspirée de [Demierre 08] et est présentée figure V.11 dans le carré orange nommé "Actuation". Cette géométrie d'électrodes permet de contrôler la position latérale de la particule en contrôlant le rapport :

$$\lambda = V_1/V_2 \quad (\text{V.17})$$

Avec V_1 et V_2 les tensions appliquées. En effet, si $V_1 = V_2$, la particule sera centrée dans le canal. Dans le cas de la diélectrophorèse négative, si $V_1 > V_2$, la particule sera positionnée dans la partie inférieure du canal et inversement si $V_1 < V_2$. Plus λ est différent de 1, plus la particule sera proche des bords du canal.

La section suivante est dédiée à la conception et la réalisation de la plateforme expérimentale.

V.2.4 Plateforme expérimentale

La plateforme expérimentale développée a pour but d'extraire des informations de la mesure d'impédance et de contrôler en conséquence les tensions V_1 et V_2 en temps réel. Elle est composée de plusieurs éléments qui peuvent être séparés en quatre parties. La première partie est la puce microfluidique. La seconde partie est relative aux éléments liés à la génération et au traitement des signaux électriques. Une troisième partie relative au milieu et aux microbilles utilisées ainsi qu'au contrôle de l'écoulement du fluide dans la puce. Et une dernière partie liée à l'observation visuelle utilisée uniquement pour confirmer le bon fonctionnement du dispositif.

V.2.4.1 Puce microfluidique

La puce microfluidique est composée d'un substrat en verre sur laquelle des électrodes en platine d'environ 400 nm ont été déposées. Le canal ainsi que les connexions fluidiques sont obtenus grâce au moulage d'une pièce en PDMS. Cette pièce est ensuite alignée manuellement et collée en utilisant un plasma d'oxygène sur le substrat. Cela permet d'obtenir la puce visible figure V.11. La largeur du canal est $l = 50 \mu\text{m}$, la hauteur du canal est $h = 20 \mu\text{m}$. Les électrodes ont une largeur $l_{elec} = 30 \mu\text{m}$. Les autres dimensions caractéristiques des électrodes respectent les règles de conception établies dans [Demierre 08]. Pour ces tests, la puce possède une unique entrée et une unique sortie microfluidique.

V.2.4.2 Génération et traitement des signaux

La plateforme expérimentale doit permettre la génération des signaux d'excitation nécessaire à la mesure d'impédance et à l'actionnement par diélectrophorèse. Elle doit également pouvoir exécuter les algorithmes de détection de pics définis en section V.2.2 et mesurer l'impédance en temps réel. La variation de courant induite par le passage d'une particule de quelques micromètres de diamètre entre deux électrodes dans un canal est de l'ordre du microampère. Pour mesurer des

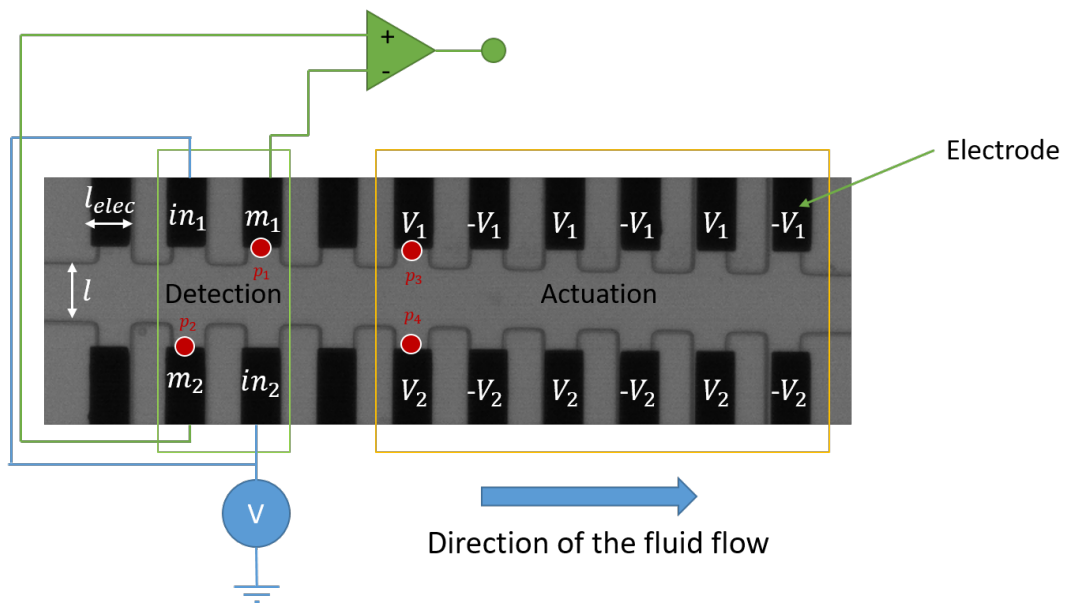


FIGURE V.11 – Image de la puce fabriquée et utilisée pour les expériences. La partie dans le rectangle vert est utilisée pour la détection. Les deux électrodes in_1 et in_2 reliées en bleu à l’alimentation sont utilisées pour injecter un courant sinusoïdal. Les électrodes m_1 et m_2 , reliées au soustracteur en vert, sont utilisées pour la mesure différentielle de courant. La partie dans le rectangle orange est utilisée pour déplacer les particules. Les électrodes sont alimentées avec les potentiels indiqués sur l’image. Les points de p_1 à p_4 sont utilisés comme repère pour les explications section V.2.5.1

variations aussi faibles, les appareils de mesure utilisent des convertisseurs analogiques/numériques à haute résolution et reposent sur des “lock-in amplifier” pour minimiser le bruit de mesure et mesurer précisément le courant provenant de la source d’excitation par une démodulation fréquentielle [Stimpson 19]. Ainsi, un bloc central de cette plateforme expérimental est un spectroscope d’impédance produit par la société Zurich Instrument basé sur ces technologies.

Les différents éléments composant le dispositif et leur interconnexion sont définis dans la figure V.12 ainsi que dans la liste ci-dessous :

Zurich Instrument HF2IS et HF2TA Ces deux appareils permettent de mesurer le courant et l’impédance. Le HF2IS est un spectroscope d’impédance avec 2 entrées et deux sorties ainsi que plusieurs sorties auxiliaires analogiques. Il est composé de plusieurs oscillateurs utilisés pour générer des signaux de fréquence arbitraire et un lock-in amplifier. Cet instrument possède également un processeur à instruction réduite programmable permettant de traiter le signal avec une fréquence d’échantillonnage élevée. Le HF2TA est un convertisseur/amplificateur de courant avec deux entrées et deux sorties.

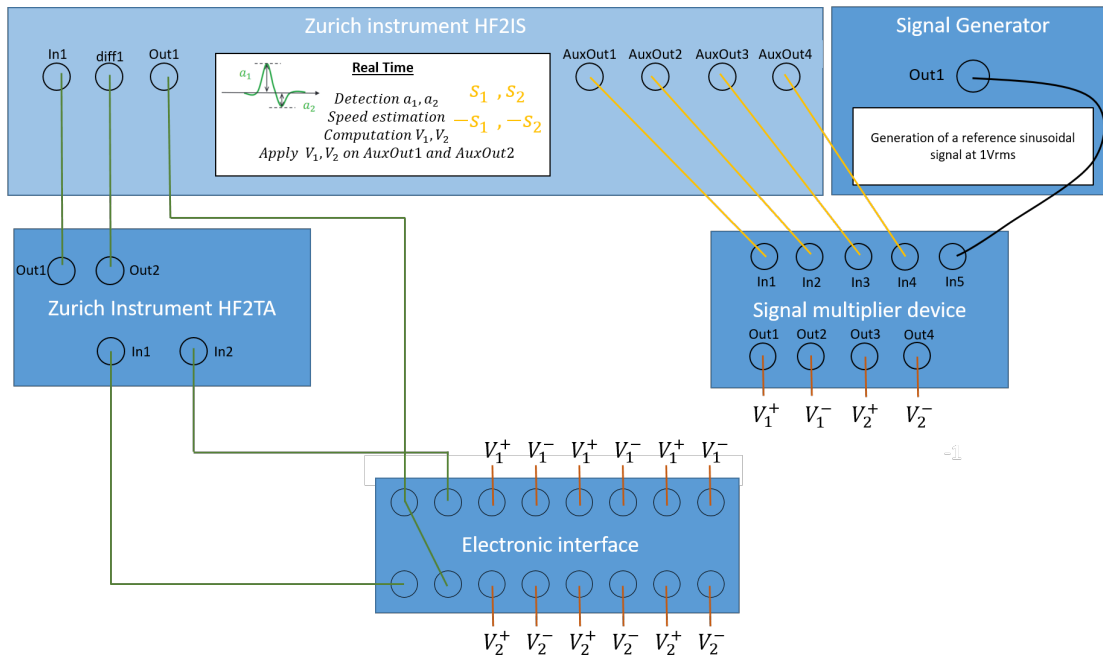


FIGURE V.12 – Description des différents éléments permettant la mesure de courant par spectroscopie d'impédance et la génération des signaux d'actionnement.

Le HF2IS est dans un premier temps utilisé pour générer les tensions sinusoïdales utilisées pour la mesure. Les signaux des électrodes de mesure sont amplifiés par le HF2TA. Les sorties du HF2TA sont ensuite renvoyées au HF2IS effectuant une soustraction entre les deux signaux pour obtenir une mesure différentielle. Cette mesure est démodulée par rapport à la fréquence des signaux d'excitation par l'intermédiaire d'un lock-in amplifieur présent dans le HF2IS. La mesure de courant utilisé pour le traitement du signal est accessible après la démodulation. Les algorithmes de détection de pics présents dans la section V.2.2 sont implémentés en C dans le processeur à instructions réduites présent dans le HF2IS. Cela permet d'obtenir une fréquence d'échantillonnage de l'ordre de 14 kHz. Les tensions calculées par les algorithmes de détection de pics sont générées sous forme de tension continue s_1 , s_2 , $-s_1$ et $-s_2$ par des sorties auxiliaires analogiques du HF2IS. Il en résulte que toutes les sorties du HF2IS sont utilisées. Cela rend donc impossible l'enregistrement des valeurs calculées par l'algorithme de détection de pics, par exemple a_1 et a_2 . Seule la mesure différentielle de courant pourra être enregistrée. Cela n'est pas problématique pour la réalisation des expériences, cependant, les valeurs de a_1 et a_2 présentées dans les figures qui suivent ont dû être recalculées hors ligne.

Générateur de signaux ainsi qu'une carte de multiplication de signaux

Le générateur de signal est un KeySight 33500B. Il est utilisé pour générer un signal sinusoïdal de $1V_{rms}$ à une fréquence permettant de faire de la diélectrophorèse

négative, ici 500 kHz. Ce signal est multiplié aux signaux continus s_1 , s_2 , $-s_1$ et $-s_2$ générées par le HF2IS. Cela permet d'obtenir les quatre signaux sinusoïdaux d'amplitude modulable et de fréquence fixe V_1 , V_2 , $-V_1$ et $-V_2$ nécessaires au positionnement par diélectrophorèse.

Interface macro/micro Il s'agit d'une carte électronique servant d'interface avec la puce. Cette carte électronique permet d'alimenter les électrodes présentes sur la puce microfluidique avec des connexions SMA. L'interface ainsi que la puce microfluidique sont présentées sur la figure V.13



FIGURE V.13 – Image du dispositif expérimental. La carte électronique bleue est l'interface permettant l'accès aux électrodes de la puce microfluidique par les connecteurs SMA (dont un est encadré en violet). La puce microfluidique est encadrée en rouge.

V.2.4.3 Milieu, microbilles et contrôle du fluide

Pour réaliser ces expériences en canal microfluidique, il est nécessaire de définir le milieu et les microbilles utilisés. Il faut également choisir un système permettant de faire circuler le fluide dans la puce à une vitesse constante.

Le milieu doit être adapté à la fois à la détection par impédance, nécessitant une conductivité élevée du milieu, et à l'actionnement par diélectrophorèse, ne pouvant pas fonctionner avec un milieu à conductivité élevée à cause du phénomène électrochimique énoncé section IV.1.1.3 page 82. La composition du milieu est donc un compromis entre ces deux contraintes. Il doit également permettre de pallier les phénomènes d'adhésions et d'agrégats. Le milieu choisi est un mélange de PBS (phosphate-buffered saline), d'eau, de TWEEN® 20 et de sucrose. Le PBS est une solution conductrice dont la conductivité est abaissée à 0.9 S m^{-1} en ajoutant les autres solutions, dont l'eau. Le TWEEN® 20 est un surfactant, évitant l'agrégation des microbilles. Le sucrose a pour but d'augmenter la densité du milieu afin qu'elle soit identique à celle des microbilles. Cela permet d'éviter la sédimentation des microbilles et homogénéise l'altitude des billes dans le microcanal.

Afin d'effectuer les expériences avec des objets possédant une densité proche de celle de cellules biologiques, des microbilles en polystyrène de chez Sigma-Aldrich avec une densité $\rho_p = 1.05$ ont été choisies. Des microbilles de diamètre 7, 8, 10 et 12 μm ont été utilisées.

Enfin, un contrôleur en pression OB1 de la marque Elveflow est utilisé pour faire circuler le fluide dans la puce. Le contrôleur de pression est utilisé pour augmenter la pression dans un Eppendorf contenant le fluide composé du milieu et des microbilles. Cette surpression pousse le fluide le faisant remonter dans un tube microfluidique connecté à l'entrée de la puce. Le fluide traversant la puce est évacué par un tube situé à la sortie de la puce. Ce système est présenté dans [Casquillas 21] et permet d'obtenir un flux stable avec un temps de réponse faible (environ 40 ms).

V.2.4.4 Observation visuelle

La plateforme expérimentale est ensuite composée d'éléments liés à l'observation visuelle permettant de valider la détection par impédance ainsi que l'efficacité du déplacement par diélectrophorèse. Cette observation visuelle n'est pas utilisée pour l'actionnement ou la détection. Elle est utilisée uniquement pour rendre compte des résultats et peut être retirée du dispositif sans altérer ses performances. Les deux éléments utilisés sont :

- un microscope Zeiss Axio Observer utilisé pour observer les expériences et vérifier le fonctionnement de la détection et de l'actionnement ;
- une caméra haute vitesse Photron FASTCAM Mini UX100 pour enregistrer les expériences et rendre compte a posteriori des performances du contrôle.

En résumé, la plateforme expérimentale existante permettant uniquement la mesure d'impédance (sans analyse de signaux) au sein de puces microfluidiques et l'observation visuelle par caméra a été améliorée. Un système de génération de signaux a été mis en place par l'intermédiaire de cartes électroniques de multiplication de signaux. Un algorithme de détection de pics appliqué en temps réel sur la mesure d'impédance a été implémenté et contrôle en temps réel les tensions V_1 et V_2 permettant de déplacer un objet micrométrique proche des électrodes. Un milieu spécifique répondant à la double contrainte de l'actionnement par diélectrophorèse et de la mesure par impédance a été réalisé.

La plateforme expérimentale présentée ici est utilisée dans la section suivante afin de valider le concept d'un dispositif tout électrique pour tri d'objets micrométrique.

V.2.5 Validations expérimentales

L'objectif des validations expérimentales est de démontrer la faisabilité d'un système actif actionné par diélectrophorèse basé sur des mesures d'impédances en temps réel. La validation est réalisée à travers deux validations expérimentales, le changement de position initial et le tri en fonction de la taille. Avec la conception d'électrodes choisie pour l'actionnement (section V.2.3 page 122), la position de la particule dans le canal est directement liée au rapport V_1/V_2 . $V_1 > V_2$ génère une force diélectrophorèse déplaçant la particule dans la partie inférieure du canal. $V_1 < V_2$ génère une force diélectrophorèse déplaçant la particule dans la partie supérieure

du canal. Les résultats présentés ici sont composés de mesures de courant ainsi que d'images enregistrées en ligne, pendant l'expérience. Cependant, il n'a pas été possible d'enregistrer les valeurs de a_1 , a_2 et D calculée en temps réel pendant ces expériences. Elles ont donc été recalculées hors ligne en exécutant l'algorithme de détection de pics sur les données de mesure différentielle d'impédance.

V.2.5.1 Changement de position de particules

Le changement de position de particules est représenté dans la partie supérieure de la figure V.5 page 116. Une particule arrivant dans la moitié inférieure du canal devra être dirigée vers la partie supérieure du canal et inversement. Pour cette démonstration, il est nécessaire de connaître la position de la particule dans le canal. Le paramètre Δ , défini par l'équation V.11 page 117, représentant cette information. $\Delta > 0$ implique que la particule est dans la partie supérieure du canal. $\Delta < 0$ implique que la particule est dans la partie inférieure du canal. Ainsi, Δ est utilisé comme critère pour choisir les valeurs de V_1 et V_2 à appliquer pour déplacer la particule. Ainsi, les potentiels V_1 et V_2 sont définis par :

$$\begin{cases} V_1 \gg V_2 & \text{si } \Delta > 0 \\ V_1 \ll V_2 & \text{si } \Delta < 0 \end{cases} \quad (\text{V.18})$$

Le changement de position de particules a été validé à travers deux expériences. Chacune utilisant un des algorithmes de détections de pic (présenté section V.2.2.1) différent, mais avec les mêmes conditions expérimentales.

Le signal d'excitation pour la mesure est une sinusoïde d'amplitude 7 V avec une fréquence de 460.526 kHz. Les signaux utilisés pour l'actionnement sont de fréquence 50 kHz et d'amplitude contrôlées par les sorties auxiliaires de HF2TA. Ce découplage fréquentiel entre l'actionnement et la mesure combinée à l'utilisation du lock-in amplifieur permet que la mesure de ne soit pas influencée par l'actionnement. Les microbilles utilisées sont de diamètre 7 μm avec une concentration de 2.10^6 billes/ml.

Résultats expérimentaux Une première expérience a été réalisée avec l'algorithme de détection de pics par dérivation. Au cours de cette expérience, la vitesse d'une particule située au centre du canal est d'environ 700 $\mu\text{m s}^{-1}$. L'expérience a duré deux minutes au cours de laquelle 43 billes ont été déviées. La figure V.14 montre les images prises au cours de l'expérience représentant la trajectoire suivie par les billes attestant du changement de position latéral dans le canal. Chaque image est liée au signal mesuré sur lequel les pics détectés sont indiqués en rouge.

La figure V.14(a) montre le passage d'une particule initialement située sous la barre horizontale blanche, donc dans la partie inférieure du canal. Le courant mesuré est représenté dans le graphique. Les deux pics détectés sont représentés par des ronds rouges. L'amplitude du pic positif est plus grande que celle du pic négatif signifiant que la particule est dans la partie inférieure du canal et $\Delta < 0$.

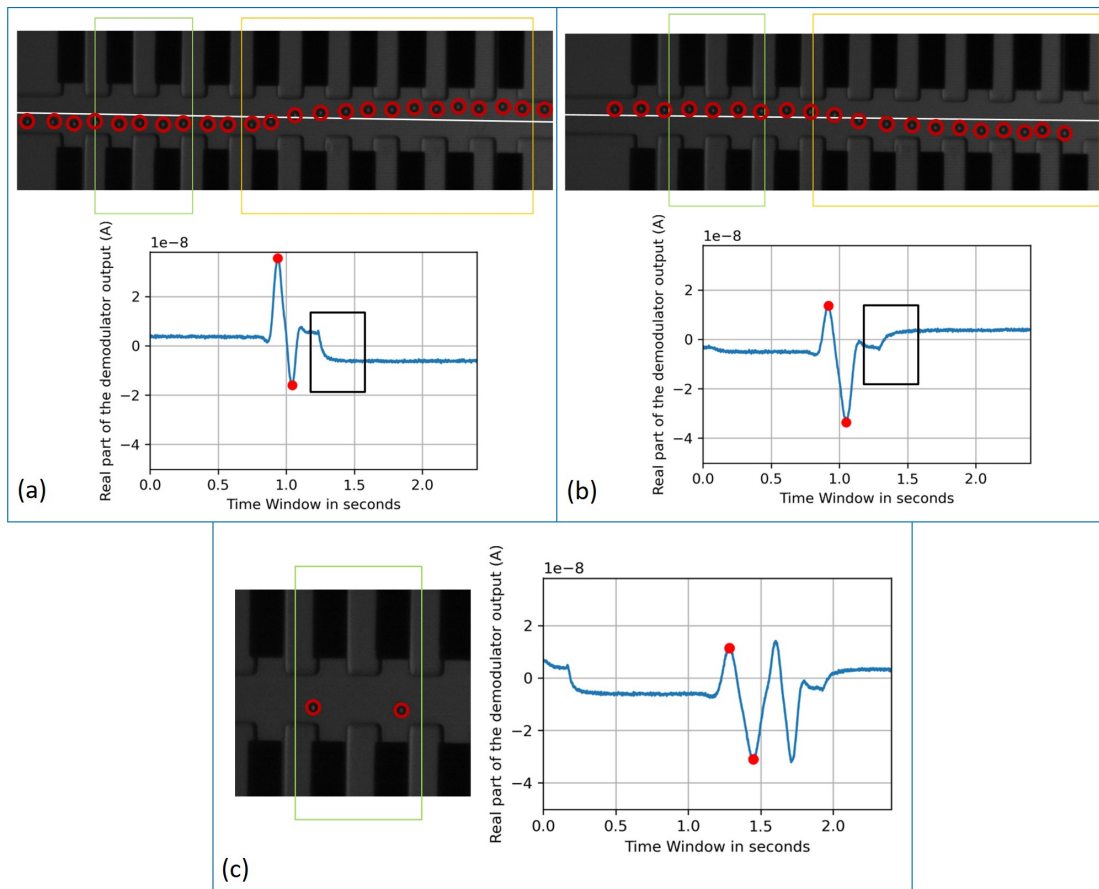


FIGURE V.14 – Résultat expérimental obtenu pour le changement de position latérale dans un canal microfluidique de microbilles. Les microbilles sont entourées en rouge sur les images. La détection de la position latérale est effectuée en temps réel par spectroscopie d'impédance dans les rectangles verts. L'actionnement est effectué par diélectrophorèse dans les rectangles orange. Chaque sous-figure est composée d'une composition d'image montrant la trajectoire suivie par la microbille attestant du changement de position latérale et d'un graphique montrant la partie réelle du courant mesuré et les pics détectés (en rouge). La ligne horizontale blanche représente le milieu du canal. (a) représente une microbille initialement située sous la ligne blanche et terminant au-dessus d'elle. Le rectangle noir montre l'impact d'un changement de tension sur le courant mesuré. (b) représente une microbille initialement située au-dessus de la ligne blanche et terminant en dessous. Le rectangle noir montre l'impact d'un changement de tension sur le courant mesuré. (c) montre le comportement de l'algorithme lorsque deux particules sont simultanément dans la zone de mesure.

L'actionnement doit positionner la particule dans la partie supérieure du canal et donc, $\frac{V_1}{V_2} \ll 1$ avec $V_1=1\text{ V}$ et $V_2=7\text{ V}$. La [figure V.14\(b\)](#) représente le passage dans le cas de la particule suivante arrivant dans la partie supérieure du canal. Dans ce cas, l'amplitude du pic positif est plus faible que celle du pic négatif signifiant que la particule est dans la partie supérieure du canal et $\Delta > 0$. L'actionnement doit positionner la particule dans la partie inférieure du canal et donc, $\frac{V_1}{V_2} \gg 1$ avec $V_1=7\text{ V}$ et $V_2=1\text{ V}$. Les rectangles noirs sur les [figure V.14\(a\)](#) et [figure V.14\(b\)](#) montrent un changement de la composante continue de la mesure de courant induit par un changement de valeur de V_1 et V_2 .

La [figure V.14\(c\)](#) représente le comportement de l'algorithme lorsque deux billes se trouvent simultanément dans la zone de mesure. Seule la première microbille est détectée, lors du passage de la seconde microbille, l'algorithme reste dans l'état numéro 4 et ne considère donc pas la seconde bille.

Pendant cette expérience, 40 billes sur 43 ont été correctement déviées. L'algorithme n'a pas fonctionné pour trois d'entre elles. Cela s'est produit lorsque plusieurs billes étaient présentes simultanément dans la zone de mesure, ce qui était anticipé. Le changement de position latéral dans le canal a donc fonctionné dans 100 % des cas de passage de particules uniques.

Une deuxième expérience a été effectuée pour valider l'algorithme basé sur l'intégration et le fonctionnement du dispositif avec des vitesses de microbilles plus élevées. Pour cette expérience, la vitesse d'une particule au centre du canal est d'environ $1000\text{ }\mu\text{m s}^{-1}$. Les deux configurations sont cette fois-ci $V_1=1.5\text{ V}$, $V_2=10.5\text{ V}$ et $V_1=10.5\text{ V}$, $V_2=1.5\text{ V}$. Les autres paramètres expérimentaux sont identiques à l'expérience précédente. Cette expérience a duré 15 minutes et 20 billes ont été observées. Le tri a fonctionné sur 19 billes alors que 20 ont été observées. Le changement de position latéral dans le canal a donc fonctionné dans 95 % des cas.

Analyse des résultats Au cours de ces deux expériences, deux observations ont été faites. Premièrement, la formation de bulles dans le PDMS a été observée après quelques minutes lorsque qu'une des configurations $V_1=1.5\text{ V}$, $V_2=10.5\text{ V}$ ou $V_1=10.5\text{ V}$, $V_2=1.5\text{ V}$ étaient maintenues. Ce phénomène est présenté [figure V.15](#) et ne s'est pas produit au cours de la première expérience lorsque les configurations possibles étaient $V_1=1\text{ V}$, $V_2=7\text{ V}$ ou $V_1=7\text{ V}$, $V_2=1\text{ V}$. Ainsi, cela est sûrement dû à l'influence du champ électrique sur le PDMS.

La deuxième observation est le changement de la composante continue de la mesure de courant induit par un changement de valeur de V_1 et V_2 . Le découplage fréquentiel entre l'actionnement et la mesure devrait éviter cette perturbation. En supposant qu'elle ne soit pas directement induite par l'actionnement, il est possible que cette perturbation soit liée à un échauffement du fluide induit par l'actionnement. En effet, l'application d'une tension aux bornes des électrodes entraîne un échauffement par effet joule. Cet échauffement local se propage par diffusion dans le fluide jusqu'à élever la température du milieu dans la zone de mesure. Comme la

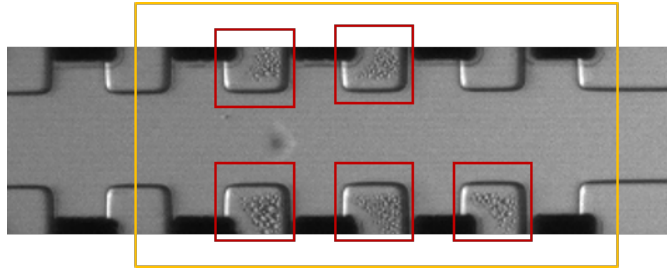


FIGURE V.15 – Formation de bulles dans le PDMS proche des électrodes d'actionnement après plusieurs minutes dans la même configuration d'alimentation. Le rectangle orange représente la zone d'actionnement. Les rectangles rouges montrent les zones où les bulles se sont formées.

conductivité d'un milieu est liée à la température [Abedian 08], cet échauffement entraîne une variation de la conductivité du milieu, donc de l'impédance et du courant. Comme ce phénomène se produit par diffusion, la température du fluide n'est pas la même au niveau des deux électrodes de mesure puisque m_1 est plus proche que m_2 de la zone d'actionnement (figure V.11 page 124). C'est pourquoi ce phénomène est visible malgré l'utilisation d'une mesure différentielle. Le phénomène est expliqué plus en détail dans l'annexe E.

Pour résumer, les deux algorithmes présentés dans cette section sont efficaces et permettent de détecter la position latérale des particules dans le canal, puis de générer les tensions permettant de déplacer la particule. Un phénomène de perturbation de la mesure par l'actionnement a été observé. Cette expérience valide la possibilité de tri en fonction de la position initiale de la particule en utilisant des données d'impédance et un actionnement par diélectrophorèse.

V.2.5.2 Tri en fonction de la taille

Cette partie est consacrée aux expériences concernant le tri de particules en fonction de leur taille dont le principe est présenté figure V.5 page 116.

Les précédents travaux menés par le professeur Federica Caselli ont permis de montrer qu'il est possible, par mesure d'impédance, d'estimer la position et le diamètre d'une particule. Ces estimations ont jusqu'ici uniquement été réalisées hors ligne. Cette estimation est basée sur la mesure des deux pics a_1 et a_2 définis figure V.6(c) obtenus par les algorithmes de détection de pics présentés précédemment. Pour pouvoir estimer le diamètre D défini par l'équation V.12 page 117 rappelée ci-dessous :

$$D = \frac{D_{raw}}{1 + b(\Delta - c)^2} \quad \text{avec} \quad D_{raw} = G[(a_1 + a_2/2)]^{1/3} \quad (\text{V.12})$$

il est nécessaire d'identifier initialement les paramètres b et c également définis dans la même équation. Pour ce faire, une identification expérimentale est réalisée.

Une solution avec trois types de billes en polystyrène avec des diamètres respectifs de 8 μm , 10 μm et 12 μm a été préparée. Ces billes sont immergées dans le milieu présenté en section V.2.4.3. Les variations de courant induites par un grand nombre de billes sont mesurées. Ces données sont analysées hors ligne. Cette analyse permet de tracer la figure V.16(a) représentant le nombre de particules pour chaque couple (Δ, D_{raw}) , avec Δ la position latérale et D_{raw} le diamètre mesuré. Pour chaque pixel de l'image, plus la couleur tend vers le jaune plus le nombre de particules avec le (Δ, D_{raw}) correspondant ont été mesuré.

La figure V.16(a) montre trois paraboles distinctes. Trois populations de billes avec des diamètres différents sont présentes dans la solution. Chaque parabole représente une population de billes avec un diamètre unique. Or, on constate sur cette figure que le diamètre D_{raw} est fonction de delta. En normalisant les données par rapport au diamètre, les trois paraboles deviennent confondues, comme le montre la figure V.16(b). Ainsi, en identifiant l'équation de la parabole figure V.16(b) en fonction de Δ , il est possible de compenser l'effet de la position de la particule sur la mesure du diamètre. La parabole est définie par :

$$f(\Delta) = 1 + b(\Delta - c)^2 \quad (\text{V.19})$$

Les paramètres $b= 0.8383$ et $c=0.0031$ permettent d'obtenir la courbe rouge figure V.16(b) et sont ensuite utilisés pour calculer le diamètre D des particules indépendamment de la position latérale définie dans l'équation V.12 page 117.

La figure V.16(c) représente le nombre de particules mesuré pour chaque couple (Δ, D) . Cette figure représente cette fois-ci trois droites verticales montrant bien le découplage entre le diamètre et la position.

Pour cette expérience de tri de particules en fonction de leur taille, une particule de diamètre D doit quitter la zone d'actionnement à une position latérale $l(D)$ peu importe sa position initiale.

Résultats expérimentaux Les expériences de tri en fonction de la taille ont été effectuées avec deux populations de microbille en polystyrène. Des microbilles de diamètre 8 μm et 10 μm . L'algorithme utilisé pour ces expériences est celui basé sur l'intégration. La vitesse d'une bille au centre du canal est d'environ 1400 $\mu\text{m s}^{-1}$. Les valeurs de D sont calculées en utilisant l'équation V.12 page 117 avec $b= 0.8383$ et $c=0.0031$. Les couples de tension applicables sont $V_1=7\text{ V}$, $V_2=1\text{ V}$ et $V_1=1\text{ V}$, $V_2=7$

Sur les deux expériences réalisées, peu de billes avec un diamètre de 8 μm ont été observées à cause d'un problème d'agrégat dans le canal. Au total, sur deux expériences de 1min30, 144 microbilles de 10 μm et 8 microbilles de 8 μm ont été observées.

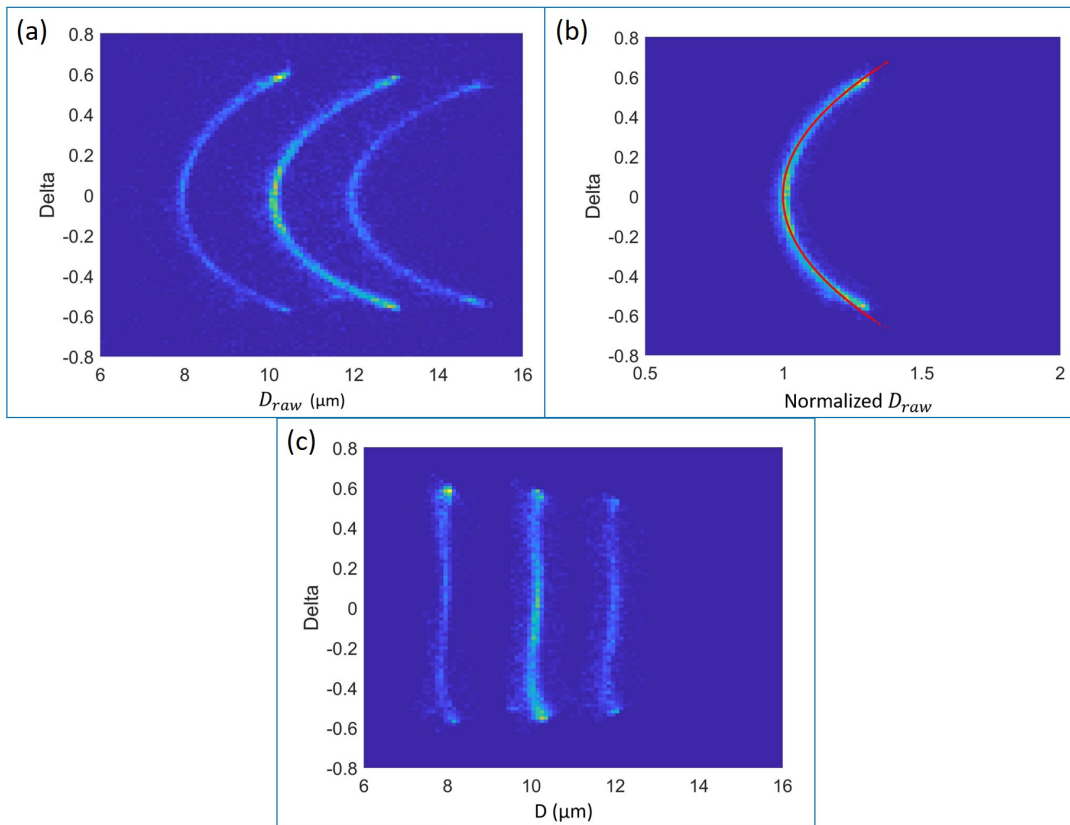


FIGURE V.16 – Figures représentant le nombre de particules détectées par impédance en fonction des couples (Δ, D_{raw}) , $(\Delta, \text{Normalized } D_{raw})$ et (Δ, D) . La couleur de chaque pixel représente le nombre de particules. Plus la couleur tend vers le jaune, plus le nombre de particules est élevé. Les données sont calculées hors ligne en utilisant un algorithme développé par le professeur Federica Caselli.

La figure V.17(a) montre une microbille de $8\ \mu\text{m}$ de diamètre correctement détectée et dirigée dans la partie inférieure du canal. La figure V.17(b) montre une microbille de $10\ \mu\text{m}$ de diamètre correctement détectée et dirigée dans la partie supérieure du canal.

Le tri en fonction de la taille a fonctionné pour 90 % des billes de $10\ \mu\text{m}$ et sur 50 % des billes de $8\ \mu\text{m}$.

Des expériences supplémentaires sont nécessaires pour améliorer les performances du dispositif et optimiser les paramètres de l'algorithme. Cependant, ces expériences montrent la possibilité d'effectuer un tri en fonction de la taille par impédance.

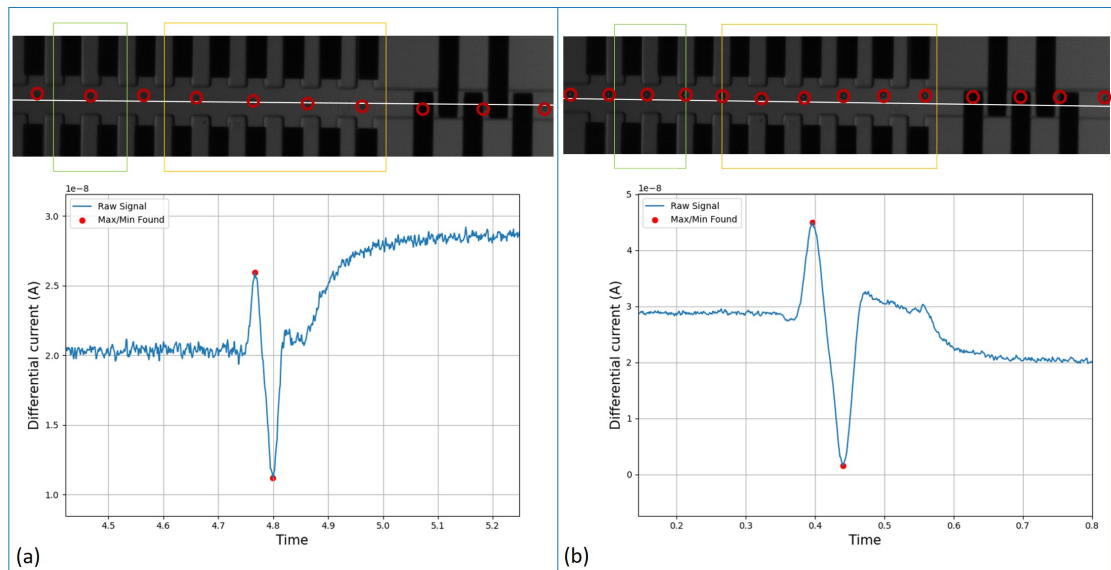


FIGURE V.17 – Superposition d’images issues de l’expérience de tri en fonction du diamètre. Chaque sous-figure est composée d’une image montrant la trajectoire de la particule (la particule est entourée en rouge) et la mesure différentielle d’impédance correspondante ainsi que les pics détectés en rouge. (a) Cas d’une particule de $8\ \mu\text{m}$ de diamètre. (b) Cas d’une particule de $10\ \mu\text{m}$ de diamètre

V.2.6 Bilan

Cette section a présenté un dispositif de tri de particules micrométriques tout électrique. La puce est composée d’une section de détection par impédance puis d’une section d’actionnement par diélectrophorèse. Les caractéristiques des particules ont été extraites par des mesures différentielles de courant et permettent de contrôler, en temps réel, la force de diélectrophorèse appliquée sur les particules. La mesure d’impédance a été utilisée pour déterminer la taille et la position latérale des particules dans le canal. Ces deux critères ont été utilisés pour effectuer un tri. Des expériences ont permis de montrer l’efficacité du tri pour une vitesse de particule allant jusqu’à $1400\ \mu\text{m s}^{-1}$ avec des tensions maximales de $\pm 7\ \text{V}$. Elles ont également permis d’identifier que, malgré le découplage fréquentiel de la mesure et de l’actionnement, le changement de température induit par un changement de tension d’actionnement perturbe la mesure. Cette perturbation exige un réglage fin des algorithmes, mais n’empêche pas le tri. Les expériences ont permis de montrer que ce dispositif pour le tri en fonction de la position latérale avait une efficacité de 100%. Le tri en fonction de la taille nécessite toutefois une optimisation de l’algorithme pour en améliorer l’efficacité ainsi que plus de données pour en évaluer plus précisément les performances.

Les résultats obtenus sont une première et montrent la faisabilité de l'utilisation de la combinaison de la mesure d'impédance et de la diélectrophorèse pour trier des objets micrométriques en temps réel sans caméra et sans préparation ou marquage préalable des particules.

V.3 CONCLUSION

Ce chapitre a présenté deux dispositifs de contrôle avancé basé sur la diélectrophorèse comme méthode d'actionnement. Ils ouvrent la voie vers un dispositif de contrôle de trajectoire 3D tout électrique. La première section de ce chapitre a proposé une conception de puces microfluidiques basées sur des électrodes parallèles. Cette puce est composée d'un plan d'électrodes supérieur et inférieur. Les électrodes parallèles du plan supérieur sont perpendiculaires à celle du plan inférieur permettant de contrôler la force de diélectrophorèse générée dans les trois dimensions. De par la géométrie des électrodes, le modèle inverse présenté chapitre IV peut être utilisé avec de légères modifications. Il est donc également possible d'utiliser le contrôleur en boucle fermée développé au chapitre IV en considérant un plan d'électrode supérieur. Des simulations ont permis de montrer la possibilité de contrôler en trois dimensions la position d'objets micrométriques ainsi que la possibilité de contrôler deux particules simultanément.

La seconde section de ce chapitre a présenté un dispositif de tri d'objets micrométriques tout électrique. Le but était de proposer un dispositif ne nécessitant pas l'utilisation d'un système optique. Cela permet de ne plus être contraint par l'utilisation d'une caméra, donc de réduire la taille du dispositif complet et de pouvoir avoir plusieurs canaux de tri sur une même puce. Ce dispositif se base sur la spectroscopie d'impédance pour obtenir des informations sur la particule (taille, position ...). Après extraction de l'information, celle-ci est utilisée pour contrôler la force diélectrophorèse appliquée sur la particule. L'extraction des informations à partir des mesures d'impédance est basée sur des travaux de Caselli *et al.* où ce traitement de données est uniquement effectué hors ligne. La puce est composée d'une zone de perception par impédance puis d'une zone d'actionnement par diélectrophorèse. Ce chapitre a proposé deux algorithmes de détection de pics pouvant fonctionner en temps réel permettant d'extraire la position latérale de particule dans le canal ainsi que sa taille. Un algorithme basé sur la dérivée de la mesure de courant et un second basée sur l'intégration de la mesure de courant sont testés. Les deux algorithmes ont été implémentés en temps réel. Ils sont des approches pertinentes pour cette tâche et fonctionnent. Un dispositif expérimental a été développé pour permettre de valider le fonctionnement du dispositif. Des expériences ont fait ressortir un couplage entre l'actionnement et la mesure. Malgré l'utilisation d'un lock-in amplifieur permettant de démoduler le signal sur une fréquence précise, la variation de température engendrée par une variation de tension d'actionnement perturbe la mesure. Ces perturbations demandent un réglage fin des algorithmes de détection de pics afin d'être rejetées. Des expériences ont été

effectuées et montrent l'efficacité de ce dispositif pour détecter la position latérale d'une particule et déplacer cette particule dans l'autre moitié du canal. Cela est réalisé avec des particules allant à une vitesse maximale de $600 \mu\text{m s}^{-1}$ avec des tensions maximales de $\pm 7 \text{V}$. Le changement de position a fonctionné dans 100 % des cas sur des particules uniques. D'autres expériences montrent la capacité de détecter simultanément la position latérale et la taille de la particule, puis d'effectuer un tri en fonction de la taille. Il est toutefois nécessaire de réaliser plus d'expériences pour évaluer les performances de ce tri et optimiser les paramètres de l'algorithme pour en améliorer les performances. Toutefois, l'expérience montre la faisabilité pour des particules avec une vitesse allant jusqu'à $1400 \mu\text{m s}^{-1}$ avec des tensions maximales de $\pm 7 \text{V}$.

Conclusions et perspectives

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le développement de nouveaux moyens thérapeutiques nécessite de pouvoir identifier et déplacer des cellules biologiques de manière précise et individuelle. Les travaux effectués au cours de cette thèse portent sur la problématique du déplacement d'objets micrométriques. Ce manuscrit a proposé des méthodes de modélisation et de commande en boucle fermée pour le positionnement d'objets micrométriques dans des puces microfluidiques en utilisant des champs électriques.

La première partie de ce manuscrit composée des deux premiers chapitres a proposé un état de l'art des méthodes de manipulation utilisées aujourd'hui en présentant leurs avantages et limitations. Elle se concentre notamment sur le fonctionnement des systèmes actionnés par champ électrique et présente le phénomène de diélectrophorèse. Les systèmes de déplacement de cellules peuvent être répartis en deux catégories : les systèmes en boucle ouverte et les systèmes en boucle fermée. Ensuite, les différentes manières de calculer le champ électrique sont présentées. Une attention particulière est portée à la méthode de modélisation du champ électrique par séries de Fourier utilisée pour les travaux présentés dans ce manuscrit. Sur la base de cette analyse de l'état de l'art, nous avons choisi d'étudier l'actionnement par champ électrique et de proposer des méthodes permettant d'assurer un suivi de trajectoire de micro-objets en boucle fermée.

Le chapitre III a présenté la méthode de commande développée au cours de cette thèse. Celle-ci a pour but de permettre le contrôle de trajectoire en deux dimensions d'objet micrométriques. Dans un premier temps, un modèle direct considérant une géométrie d'électrodes connue est présenté. Il permet de calculer les forces appliquées à un objet et son déplacement à partir du potentiel appliqué sur chaque électrode. Puis, un modèle inverse permettant de calculer le potentiel à appliquer sur les électrodes pour induire un déplacement défini de l'objet est proposé. Ce modèle inverse est basé sur l'utilisation de l'algorithme de recuit simulé avec une fonction de coût limitant la norme du champ électrique. Cette contrainte permet de limiter l'impact du champ électrique sur les cellules biologiques afin de garantir leur intégrité.

Une plateforme de simulation basée sur le modèle inverse a été développée afin d'étudier l'impact de différents paramètres sur le suivi de trajectoires en boucle ouverte. Ces études ont permis d'identifier l'impact de la densité de l'objet manipulé sur le contrôle ainsi que la sensibilité du contrôle à des erreurs d'identification des paramètres.

Les résultats obtenus en boucle ouverte ont montré la nécessité d'une commande en boucle fermée pour assurer un suivi de trajectoire. Or, dans le plan d'étude (O, x, y) où \vec{y} est l'axe vertical, la position verticale (y) n'est pas mesurable. L'un des principaux enjeux d'une commande en boucle fermée repose sur la capacité à reconstruire l'altitude y à partir des mesures suivantes \vec{x} . Nous avons montré que deux méthodes adaptées respectivement aux objets denses et aux objets peu denses pouvaient être mises en œuvre. La reconstruction de l'altitude d'objet dense peut être obtenue en utilisant le modèle direct. Dans le cas d'objet peu dense, nous avons proposé un observateur original permettant de reconstruire l'altitude. Dans les deux cas, une méthode de commande est proposée et validée en simulation et est robuste aux erreurs d'identification des paramètres de l'objet manipulé.

Afin de valider ces méthodes de commande, une plateforme expérimentale ainsi que des expériences ont été réalisées et ont été présentées au chapitre 4. La conception matérielle et logiciel de la plateforme expérimentale a été décrite. La commande a été validée sur deux objets micrométriques ; des microbilles en verre et des cellules biologiques humaines (lymphocytes T). Une étude de l'impact de la composition du milieu sur la viabilité des cellules a été menée afin de définir un milieu établissant un compromis entre les contraintes biologiques et les contraintes physiques liées à la diélectrophorèse. Les expériences de suivi de trajectoire sur des lymphocytes T ont montré la capacité à suivre des trajectoires avec une erreur moyenne inférieure à 20 % de leur diamètre avec une vitesse maximale de $50 \mu\text{m s}^{-1}$. Les expériences de suivi de trajectoires sur des microbilles en verre ont obtenu des performances similaires. La vitesse maximale atteignable est de $150 \mu\text{m s}^{-1}$ sans estimation de l'altitude par l'observateur. Ces résultats confirment l'impact de la densité des objets sur le contrôle (pour des objets de même taille). Il s'agit, à notre connaissance, du premier dispositif de contrôle de cellules biologiques en boucle fermée par diélectrophorèse. C'est également la première fois que le contrôle en boucle fermée de microbilles de $10 \mu\text{m}$ de diamètre est effectué.

Dans la continuité de ces travaux, deux dispositifs de contrôle par diélectrophorèse ont été étudiés et sont présentés au chapitre V. Le premier dispositif est une extension du système de contrôle de trajectoire en deux dimensions validé expérimentalement au chapitre IV. Ce dispositif est composé de deux plans d'électrodes permettant d'effectuer un contrôle de trajectoires en trois dimensions. Un algorithme de commande permettant le suivi de trajectoire simultanée et indépendante de deux particules identiques est proposé. Celui-ci est basé sur le modèle proposé au chapitre III. Une plateforme de simulation a été développée et a permis de valider l'algorithme de commande.

La commande en boucle fermée basée sur un retour d'information visuelle est limitée par les performances des caméras utilisées. Pour pallier ces limitations, le deuxième dispositif proposé est basé sur un retour d'information par mesure d'impédance ainsi qu'un actionnement par diélectrophorèse. Ces travaux ont été menés en collaboration avec le professeur Federica Caselli de l'université Tor Vergata de Rome. Ils concernent la conception d'un dispositif de tri automatisé de particules dans une puce microfluidique "tout électrique". Cette puce microfluidique est composée d'électrodes utilisées pour effectuer de la mesure par impédance et ainsi connaître la position de l'objet dans la puce microfluidique et en déduire ses caractéristiques. Une fois l'objet identifié, son positionnement dans le microcanal est modifié par diélectrophorèse par l'intermédiaire d'autres électrodes. Tout ce processus est effectué en temps réel. Cette section présente la conception de la puce microfluidique et du dispositif expérimental. Elle présente également deux algorithmes de traitement du signal permettant d'extraire de la mesure d'impédance la position et la taille de l'objet à déplacer. Des expériences de tri en fonction de la taille de l'objet et de sa position ont été réalisées expérimentalement avec succès. Ce dispositif est une preuve de concept permettant de valider l'intérêt et la possibilité d'un dispositif de tri "tout électrique". C'est à notre connaissance, le premier dispositif de tri utilisant de la mesure d'impédance en temps réel pour identifier des objets et contrôler la position de l'objet par diélectrophorèse.

Pour résumé, ce manuscrit propose des méthodes de contrôle de trajectoires d'objets micrométriques (biologiques et artificiels) en boucle fermée. Deux dispositifs basés sur un retour d'information visuelle ont été proposés. Le premier permettant un contrôle en deux dimensions a été validé expérimentalement et le second permettant un contrôle en trois dimensions a été validé en simulation pour le contrôle de deux objets en simultané. Enfin, un dispositif basé sur un retour d'information par mesure d'impédance pour positionner dans un canal microfluidique des objets micrométriques a été proposé et validé expérimentalement.

PERSPECTIVES

Ces travaux ouvrent la voie à de nombreuses perspectives de recherche, notamment dans le domaine de l'analyse et de la manipulation d'objets biologiques qui sont des besoins grandissants.

Méthode de contrôle en 3D d'objets micrométriques par diélectrophorèse et retour visuel

Dans la continuité des validation expérimentales en 2D et des simulation en 3D présentées dans ce manuscrit, un démonstration expérimentale en 3D apparait naturellement comme la première perspectives. Tout d'abord, la problématique liée à la fabrication de la puce microfluidique composée de deux plans d'électrodes devra être étudiée. Puis, un dispositif expérimental spécifique pourra être conçu

et fabriqué. Les expériences devront permettre de valider la capacité de déplacer simultanément et de manière indépendante des objets biologiques. Ensuite, cette méthode de déplacement pourra être utilisée pour mettre en interaction des objets biologiques et analyser les effets de ces dernières.

La méthode de commande pourra ensuite être étendue pour être appliquée à des objets de forme quelconque (non sphérique). Ceci nécessite de modéliser le phénomène d'électrorotation qui permettrait de contrôler les objets micrométriques suivant les trois translations et les trois rotations.

Impact des champs électriques sur les cellules

L'actionnement par diélectrophorèse avec limitation de la norme du champ électrique n'affecte pas la viabilité des cellules déplacées. Cependant, les effets du champ électrique sur les propriétés physiologiques des cellules (reproduction, récepteur, ADN ...) doivent encore être étudiés. Une collaboration avec des biologistes est à envisager sur ce sujet.

Dispositif de contrôle d'objets micrométriques "tout électrique"

Les systèmes d'analyse et de manipulation d'objets biologiques doivent répondre à une double contrainte : la nécessité d'effectuer ces tâches à l'échelle d'une cellule, et à des débits très élevés. Les dispositifs existants aujourd'hui sont très majoritairement basés sur des informations visuelles, ce qui limite le débit et restreint la caractérisation à des paramètres physiques. De plus, ils permettent uniquement de réaliser des actions de tri. Les cellules sont déplacées par le fluide dans une direction et par le moyen d'actionnement choisi dans les deux directions perpendiculaires. Pour permettre des analyses plus précises des cellules biologiques et une manipulation plus dextre à des débits élevés, de nouveaux dispositifs sont requis.

Un dispositif "tout électrique", combinant la diélectrophorèse pour l'actionnement et la spectroscopie d'impédance pour la mesure, répond à plusieurs problématiques. L'utilisation de la spectroscopie d'impédance permet de caractériser les propriétés électriques des différents composants d'une cellule biologique. La [figure VI.1](#) présente les différentes parties d'une cellule biologique qu'il est possible de caractériser par impédance en fonction de la fréquence du signal d'excitation. La capacité de différenciation des cellules par impédance serait également à étudier. Serait-il possible de détecter les réponses immunitaires spécifiques de différents lymphocytes T par spectroscopie d'impédance ? En utilisant une certaine géométrie d'électrodes et différents schémas d'excitation, il est possible d'obtenir la position d'un objet micrométrique dans une puce microfluidique. En analysant les données d'impédance en temps réel, celles-ci peuvent être utilisées comme retour d'information pour un contrôle en boucle fermée avec une fréquence d'échantillonnage élevée. Le facteur limitant le débit de cellules déplacé ou analysé devient alors l'actionnement. De plus, les mesures étant effectuées localement (proche des électrodes), il est possible de les paralléliser afin d'augmenter le débit ([figure VI.2](#)).

Ces dispositifs ne nécessitant pas de retour visuel pour fonctionner, les éléments les plus encombrants du dispositif, caméra et microscope, ne sont plus nécessaires. Cela permet une miniaturisation du dispositif complet pouvant mener à la création d'un dispositif portable et une forte réduction des coûts.

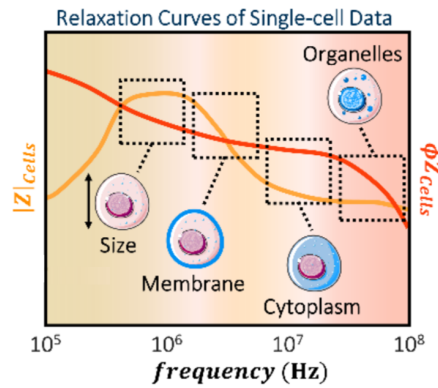


FIGURE VI.1 – Caractéristique de la cellule mesurée par impédance en fonction de la fréquence du signal d'excitation [Honrado 21].

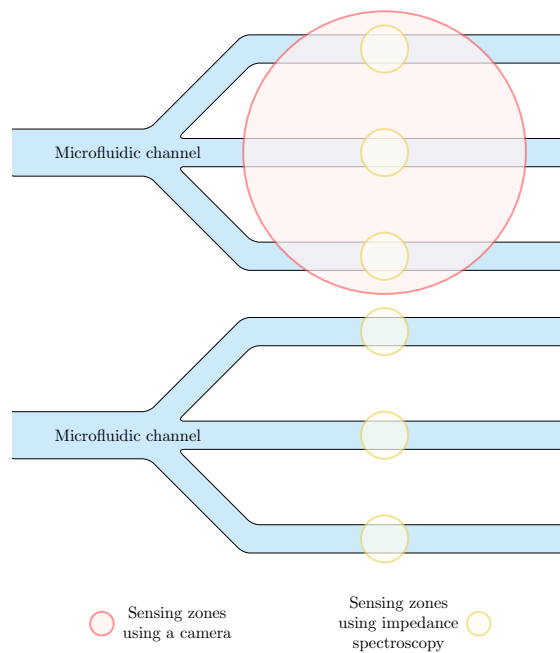


FIGURE VI.2 – Représentation d'un dispositif avec 6 canaux microfluidiques. Le champ de vision d'une caméra, représenté par le rond rouge, limite la mesure à 3 canaux. Comme il n'est pas possible d'installer plusieurs caméras, la mesure sur les trois canaux restants n'est pas possible. La mesure par impédance, représentée par les ronds jaunes, peut être effectuée sur tous les canaux.

Le couplage entre l'actionnement par diélectrophorèse et la mesure par impédance est également une problématique qui devra être étudiée. Un découplage spatial (les électrodes de mesure et d'actionnement sont éloignés) et fréquentiellement (fréquence d'excitation différente) ne semble effectivement pas être suffisant. Une étude sur la géométrie des électrodes et leur configuration est à envisager pour réduire la perturbation de l'actionnement sur la mesure. L'optimisation topologique pourrait être une méthode intéressante pour trouver des géométries d'électrodes minimisant ce phénomène. Le découplage temporel peut également être une piste d'étude intéressante, quel serait le comportement du système si les électrodes sont utilisées pour des cycles d'actionnement et de mesure consécutifs ?

Applications à long terme

Les besoins d'analyses biologiques ne se limitent pas aux cellules. Ils concernent également des virus, bactéries et ADN pouvant être de taille nanométrique. Les études présentées dans ce manuscrit concerne des objets micrométriques, la force de diélectrophorèse étant directement liée au cube du rayon, une étude approfondie sur le contrôle par diélectrophorèse d'objets nanométriques serait nécessaire pour évaluer les applications possibles relatives à ces objets biologiques.

Le transfert génétique ou l'introduction de certaines molécules dans des cellules biologiques sont des tâches courantes en biologie. Elles sont classiquement réalisées sur une grande population de cellules par électroporation avec des systèmes nécessitant des tensions de plusieurs kilos volts. Les méthodes de commande proposées dans ce manuscrit permettent le calcul en temps réel de la norme du champ électrique en plusieurs points de l'espace ainsi que la réalisation d'électroporation avec des tensions inférieures à une dizaine de volts. Elles pourraient permettre la réalisation de dispositifs d'électroporation contrôlée de cellules individuelles avec de faibles tensions.

Bien que les travaux à mener restent nombreux, les travaux présentés dans ce manuscrit suscitent un grand optimisme quant à la faisabilité et au potentiel d'un dispositif tout électrique automatisé, destiné à l'identification, l'analyse et la manipulation d'objets biologiques.

Annexe A

Code Python de calcul du champ
électrique par série de Fourier dans le cas
général

Annexe A. Code Python de calcul du champ électrique par série de Fourier dans le cas général

```
1 import imageio
2 import numpy as np
3 import matplotlib
4 import matplotlib.pyplot as plt
5 from numpy import array, concatenate
6
7 def Extend_by_symetrie(_im):
8     M1=_im[::-1, ...]
9
10    M2=_im[... , ::-1]
11
12    M3=M2[::-1, ...]
13
14    Mfin1 = concatenate([M1,np.ones((1,np.shape(M1) [1])),_im],axis=0)
15    Mfin2 = concatenate([M3,np.ones((1,np.shape(M1) [1])),M2],axis=0)
16
17    Mfin = concatenate([Mfin1,np.ones((np.shape(Mfin1) [0],1)),Mfin2],axis=1)
18    return Mfin
19
20
21 %% Definition paramètre généraux
22
23 nb_electrode = 4
24 height = 1
25 z = 0
26
27
28
29 %% Definition Matrice de reference pour la creation des coefficients de la série de Fourier
30 # FS = fourier serie's
31
32 electrodeImgRef = imageio.imread("G:\work\Python_scripts\FourierGeneral\
    electrode_random.png")[:, :, 1]
33 electrodeImgRef = Extend_by_symetrie(electrodeImgRef)
34 lengthSerie = len(electrodeImgRef)
35 L_y_FS = electrodeImgRef.shape[0]
36 l_x_FS = electrodeImgRef.shape[1]
37
38 electrodeImgRef = np.zeros((l_x_FS,L_y_FS,5))
39 electrodes = np.zeros((l_x_FS,L_y_FS,5))
40
41 electrodeImgRef[:, :, 0] = Extend_by_symetrie(imageio.imread("G:\work\
    Python_scripts\FourierGeneral\electrode_random.png")[:, :, 0])
42 electrodeImgRef[:, :, 1] = Extend_by_symetrie(imageio.imread("G:\work\
    Python_scripts\FourierGeneral\electrode1.png")[:, :, 0])
43 electrodeImgRef[:, :, 2] = Extend_by_symetrie(imageio.imread("G:\work\
    Python_scripts\FourierGeneral\electrode2.png")[:, :, 0])
44 electrodeImgRef[:, :, 3] = Extend_by_symetrie(imageio.imread("G:\work\
    Python_scripts\FourierGeneral\electrode3.png")[:, :, 0])
45 electrodeImgRef[:, :, 4] = Extend_by_symetrie(imageio.imread("G:\work\
    Python_scripts\FourierGeneral\electrode4.png")[:, :, 0])
46
47 electrodes[electrodeImgRef==0]=1
```

```

48
49 realDimXY = 51
50
51 omega_K_y = np.zeros((lengthSerie,1))
52 omega_J_x = np.zeros((lengthSerie,1))
53 omega_j_k = np.zeros((len(omega_K_y),len(omega_J_x)))
54 # vectorOfElem = np.arange(-lengthSerie/2,lengthSerie/2,1)
55 vectorOfElem = np.arange(0,lengthSerie,1)
56
57 omega_K_y[:,0] = vectorOfElem*np.pi/realDimXY
58 omega_J_x[:,0] = vectorOfElem*np.pi/realDimXY
59
60 omega_J_x_carre = np.repeat(omega_J_x,lengthSerie,1)
61 omega_K_y_carre = np.repeat(omega_K_y,lengthSerie,1)
62 omega_j_k = np.sqrt(omega_J_x_carre.T**2+omega_K_y_carre**2)
63
64 g = np.zeros((lengthSerie*lengthSerie,lengthSerie*lengthSerie,nb_electrode))
65 gMAT = np.zeros((lengthSerie*lengthSerie,lengthSerie*lengthSerie,nb_electrode))
66 Z_prime_j_k = np.zeros((lengthSerie*lengthSerie,1))
67 eleVecLine =np.zeros((lengthSerie*lengthSerie,1))
68
69 for k in range(len(vectorOfElem)):
70     for j in range(len(vectorOfElem)):
71         if(j*height/realDimXY>1 or k*height/realDimXY>1):
72             Z_prime_j_k[lengthSerie*k+j,0] = -omega_j_k[j,k]
73         else:
74             Z_prime_j_k[lengthSerie*k+j,0]= omega_j_k[j,k]*(np.exp(-2*omega_j_k[
75                 j,k]*height)-np.exp(2*omega_j_k[j,k]*height))/(np.exp(2*omega_j_k
76                 [j,k]*height)+np.exp(-2*omega_j_k[j,k]*height)+2)
77 Z_prime_j_k_rep = np.repeat(Z_prime_j_k,lengthSerie**2,axis=1)
78
79 Fp=np.zeros((lengthSerie*lengthSerie,4))
80 for x in range(len(vectorOfElem)):
81     for y in range(len(vectorOfElem)):
82         eleVecLine[lengthSerie*y+x,0]=electrodes[x,y,0]
83         for p in range(0,4):
84             Fp[lengthSerie*y+x,p]=electrodes[x,y,p+1]
85 eleVecLine_rep = np.repeat(eleVecLine,lengthSerie**2,axis=1).T
86
87
88 #%%
89
90 omega_J_x_rep=np.tile(omega_J_x, (lengthSerie,1))
91 omega_J_x_rep=np.repeat(omega_J_x_rep,lengthSerie**2,1)
92 omega_K_y_rep=np.repeat(omega_K_y, lengthSerie, axis=0)
93 omega_K_y_rep=np.repeat(omega_K_y_rep,lengthSerie**2,1)
94
95 x=np.zeros((lengthSerie,1))
96 x[:,0]=np.arange(0,lengthSerie)
97 x_rep=np.tile(x,(lengthSerie,1))
98 x_rep=np.repeat(x_rep,lengthSerie**2,1).T
99
100 y=np.zeros((lengthSerie,1))
101 y[:,0]=np.arange(0,lengthSerie)

```

```

100 y_rep=np.repeat(y,lengthSerie,axis=0)
101 y_rep=np.repeat(y_rep,lengthSerie**2,1).T
102
103 Z_prim_mat_elec = (1-eleVecLine_rep)*Z_prime_j_k_rep+eleVecLine_rep
104
105 for p in range(0,4):
106     g[:,:,p]=np.cos(omega_J_x_rep*x_rep)*np.cos(omega_K_y_rep*y_rep)*
        Z_prim_mat_elec
107
108
109
110 ###
111
112 A_j_k_n = np.zeros((lengthSerie*lengthSerie,4))
113 g_inv=np.zeros((lengthSerie*lengthSerie,lengthSerie*lengthSerie,4))
114 for p in range(0,4):
115     g_inv[:,:,p] = np.linalg.inv(g[:,:,p])
116     A_j_k_n[:,p] = np.dot(Fp[:,p],g_inv[:,:,p])
117
118 ###
119 sizeOfArea = 25
120 step = 0.5
121 nbElem = int(sizeOfArea/step)
122 res = np.zeros((nbElem,nbElem))
123 U = np.zeros((4))
124 U=[1,0,0,-1]
125
126
127 ###
128
129 xpos = 0
130 ypos = 0
131 for x in np.arange(0,sizeOfArea,step):
132     for y in np.arange(0,sizeOfArea,step):
133         for p in range(0,4):
134             res[xpos,ypos]=res[xpos,ypos]+(np.cos(omega_J_x_rep[:,0]*x)*np.cos(
                omega_K_y_rep[:,0]*y)*A_j_k_n[:,p]*U[p]).sum()
135             ypos=ypos+1
136             xpos=xpos+1
137             ypos=0
138
139 ###
140
141 plt.imshow(res)
142 plt.show()

```

Annexe B

Développement du processus de gravure de l'ITO par plasma d'Argon

B.1	Contexte	148
B.2	Géométrie à graver	148
B.3	Gravure humide ITO	148
B.4	Gravure sèche ITO non recuit	150
B.5	Gravure sèche d'ITO recuit	153

B.1 CONTEXTE

Dans le cadre du projet MiMedi, nous étudions et développons un dispositif permettant le contrôle de trajectoire d'objets microscopique dans des puces fluidiques par diélectrophorèse. Pour faciliter l'observation de ces micro-objets, l'utilisation d'électrodes transparentes semble intéressante. Le dépôt d'ITO n'étant actuellement pas possible à MiMento, le coaching d'ITO sur des wafers de 4 pouces a été sous-traité à l'entreprise SOLEMS (<https://www.solems.com>). La couche d'ITO est d'une épaisseur de 370 nm avec une résistance de $12 \Omega^2$ et une transmission de 80%. Il est donc maintenant nécessaire de graver sur l'ITO le design voulu.

Epaisseur ITO recuit :	370 nm
Resistance ITO recuit :	$12 \Omega^2$
Transmission ITO recuit :	80%
IR supposé ITO non recuit :	1.83
Couche d'arrêt :	BF33 500 μm

B.2 GÉOMÉTRIE À GRAVER

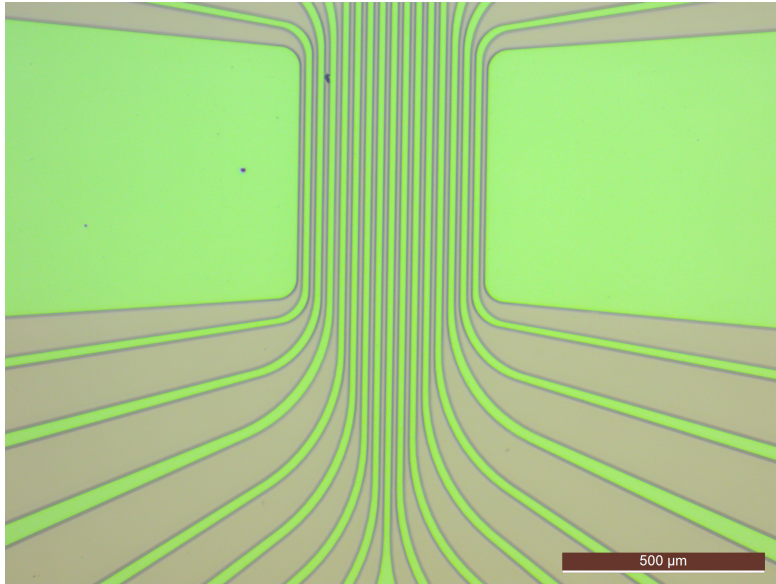
Nous voulons réaliser une micropuce fluide composée de plusieurs électrodes parallèles (16 à 32) de largeur L_e et espacées de gap_e avec $L_e = gap_e = 10 \mu\text{m}$ ou $L_e = gap_e = 5 \mu\text{m}$.

B.3 GRAVURE HUMIDE ITO

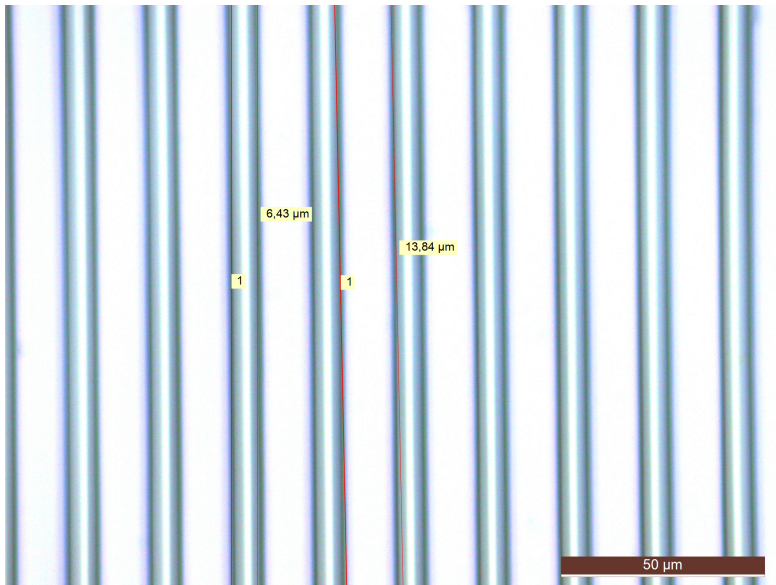
Date des expériences :	Avril 2021
Personne :	Alpha Diallo
Matériel :	ITO recuit et non recuit
Méthode :	Gravure humide
Recette :	5Volume (H ₂ O), 4Volumes (HCl), 1Volume (HNO ₃) 30 min pour graver 200nm d'ITO

Dans un premier temps, Alpha Diallo a réalisé les premiers essais. Il avait déjà réalisé une gravure humide d'ITO en 2019. L'essai avait été concluant pour des électrodes de 50 μm . Pour des électrodes de 10 μm , une surgravure non négligeable de 2 μm a été observé sur de l'ITO recuit. Sur de l'ITO non recuit, la gravure humide n'était pas possible. Possiblement à cause d'une non-homogénéité de l'ITO. Voir Fig. B.1 pour le résultat sur de l'ITO recuit et Fig. B.2 pour de l'ITO non recuit.

Pour pallier à ces problèmes, nous nous sommes intéressés à la gravure de l'ITO par gravure sèche.



(a) Résultat de gravure humide. On peut observer que la troisième électrode en partant de la gauche est coupé



(b) Mesure des dimensions des électrodes. La largeur d'une électrode est l'écartement entre deux électrodes est censé être de 10 μm. On observe donc une surgravure

FIGURE B.1 – Résultats de gravure humide pour de l'ITO recuit

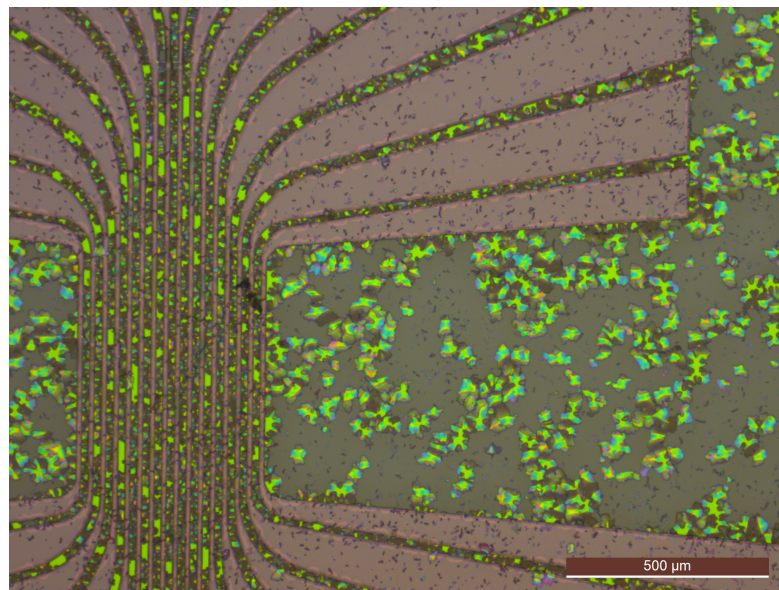


FIGURE B.2 – Résultat d'une gravure humide pour ITO non recuit

B.4 GRAVURE SÈCHE ITO NON RECUIT

Date des expériences :	Octobre 2021
Personne :	Alexis Lefevre, Djaffar Belharet
Matériel :	ITO non recuit
Méthode :	Gravure sèche
Machine :	Corial 200
Mesure profilo-mètre :	500µm, 12s, 5mg

L'ITO se grave habituellement en utilisant de la chimie chlorée, cependant, nous ne possédons pas ce type de gaz à MiMento et allons donc devoir trouver une alternative.

Essai n°1

Le premier test par gravure sèche a été réalisé avec la Corial 200 sur un wafer complet d'ITO non recuit. Une recette "A_ITO_etching_NGxx" a été créée avec les paramètres suivant :

C2F6	40 SCCM
Ar	5 SCCM
durée	600s
RF Fwd	120W

Il s'agit d'un test de gravure par chimie fluoré. Du Kapton a été utilisé pour protéger une partie du wafer permettant ainsi la mesure de l'épaisseur d'ITO gravé.

Conclusion : Après gravure, une mesure au profilo-mètre a permis de mesurer que 20 nm d'ITO ont été gravés. Après une recherche bibliographique menée par Djaffar Belharet, nous avons appris que l'ITO était également utilisé comme masque et ne pouvait pas être gravé par cette méthode. Nous nous sommes donc orientés vers une gravure physique à l'Argon.

Essai n°2

Pour la gravure à l'Argon, une recette nommée "A_ITO_sputtering_NGxx" a été créée. Les paramètres sont les suivants :

Ar	50 SCCM
durée	270s
RF Fwd	200W

Pour cet essai ainsi que les suivants, des puces paternées avec une résine S1813 de $1.24\mu\text{m}$ d'épaisseur sont utilisées. Un process en trois étapes permettant de mesurer la sélectivité de la résine et la vitesse de gravure a été effectué. Nous avons dans un premier temps mesuré la hauteur de la résine avant gravure. Une nouvelle mesure a été effectuée après gravure. Et enfin, une dernière mesure après lift-off a permis d'identifier l'épaisseur d'ITO gravé. Le process ainsi que le résultat des mesures sont présentés Fig. B.3

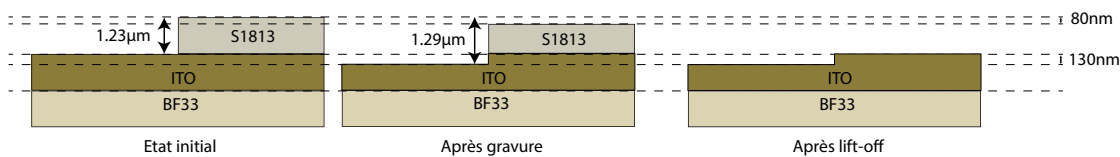


FIGURE B.3 – Schéma du process permettant d'identifier la sélectivité de la résine ainsi que la vitesse de gravure

Conclusion : La sélectivité de la résine est estimée à $130/80 = 1.625$. La vitesse de gravure est de 28.8 nm/min. Le résultat est concluant. Un second test avec une gravure complète de l'ITO a ensuite été mené pour confirmer ces données.

Essai n°3

Le but de ce test est de vérifier les valeurs déduites précédemment. Le seul changement dans la configuration est le temps de gravure qui sera de 670s. Le test a été réalisé sur la puce n°10.

Conclusion : Durant cette expérience, tout l'ITO a été gravé. La résine n'a pas été gravée de la même manière au centre et sur les bords. Il n'y a pas de surgravure, seuls quelques artefacts sur les bords sont à identifier, voir Fig. B.4 . Nous supposons qu'ils sont dus à l'état initial de la résine.

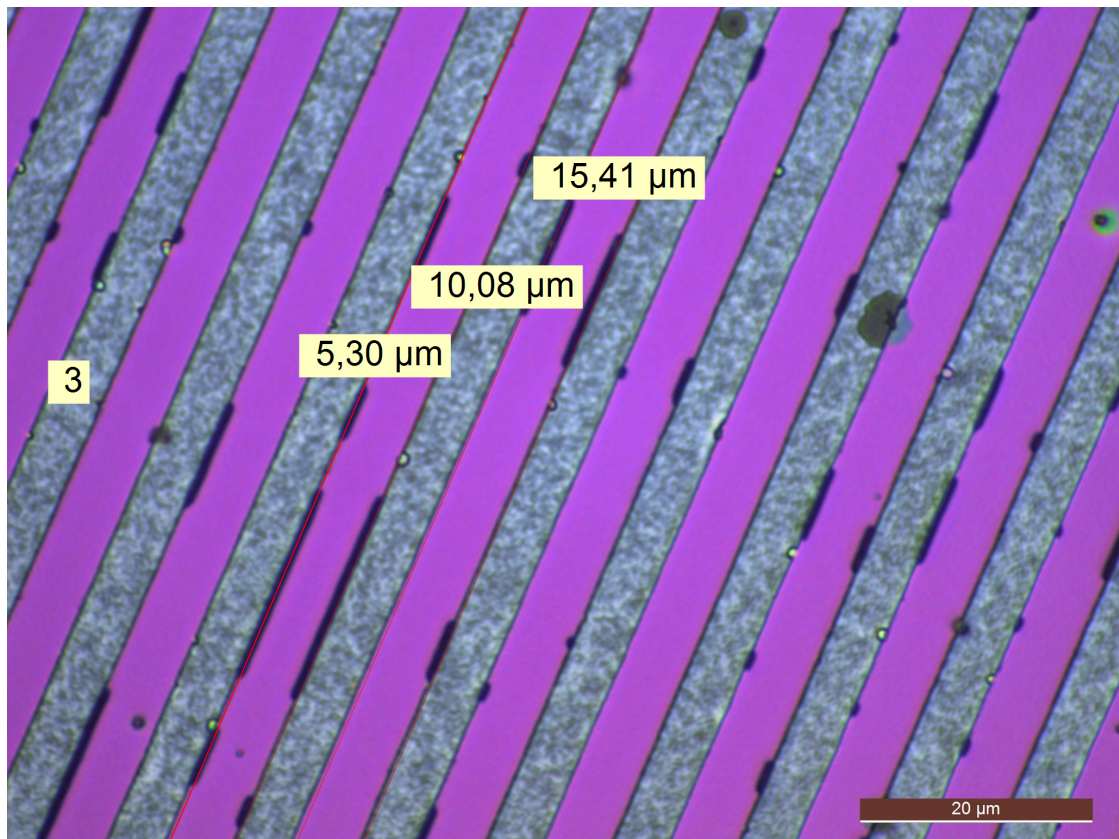


FIGURE B.4 – Image du résultat de la gravure. Chaque électrode doit avoir une largeur de 5 µm et être espacé de 5 µm

Essai n°4

Un dernier essai avec les mêmes paramètres et la mesure EPD de la Corial 200 pointée sur l'ITO à permis d'ajuster les valeurs obtenues.

Ar	50 SCCM
durée	420s
RF Fwd	200W
IR	1.83

La vitesse de gravure estimée est de 32.8nm/min. Les mesures donnent les résultats suivant :

profile	250 nm
	247nm
	248nm
Rugosité Ra	4nm
	8nm
	3nm
	9nm

Calcul de la vitesse de gravure théorique : $32.8/60 * 420 = 229.6nm$.

Calcul de la vitesse de gravure expérimentale : $250/(420/60) = 35.7nm$.

Conclusion : Une vitesse de gravure d'environ 37 nm/min et une sélectivité de 2 sont les valeurs retenues.

Conclusion

4 Essais de gravure sèche par Ar d'ITO non recuit ont été réalisés. Ils ont été concluants et ont permis d'identifier :

- **Vitesse de gravure :** 37nm/min
- **Sélectivité :** 2
- **IR ITO non recuit :** 1.83

Les expériences suivantes seront menées sur de l'ITO recuit avec les paramètres identifiés comme références.

B.5 GRAVURE SÈCHE D'ITO RECUIT

Date des expériences :	Décembre 2021
Personne :	Alexis Lefevre, Djaffar Belharet
Matériel :	ITO recuit
Méthode :	Gravure sèche
Machine :	Corial 200
Mesure profilo-mètre :	500µm, 12s, 5mg

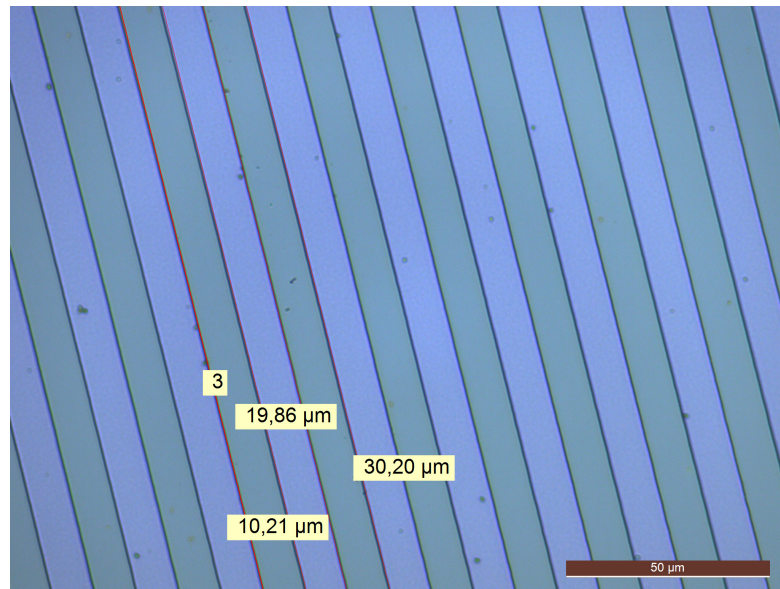
Préparation du wafer

Nous avons utilisé un wafer d'ITO recuit. Une résine positive "S1813" a été déposée en utilisant l'ACS200. Nous avons utilisé le masque "VLG3" pour la paterner. Les motifs sur ce masque sont des électrodes parallèles de 5, 10 et 15µm. Le wafer a ensuite été découpé à la pointe diamant. La découpe du wafer en plusieurs échantillons à endommager certaines puces. Les puces, dans leur état initial, ne sont pas propres et certaines électrodes sont coupées. Les tests de gravure sont quand même effectués, l'observation de phénomènes étranges et locaux sera attribuée à des défauts présents initialement sur l'échantillon.

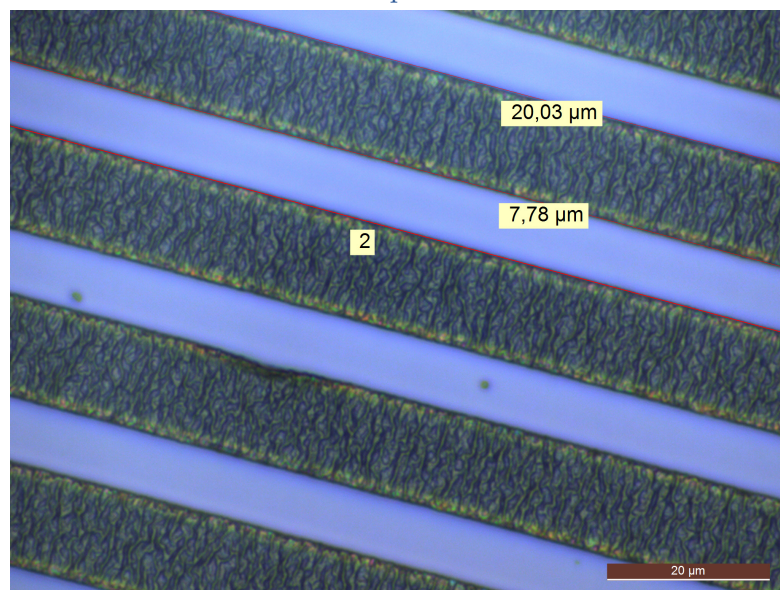
Essai n°1

Le but est de tester la recette "A-ITO-sputtering-NGxx" sur de l'ITO recuit et de vérifier que le processus fonctionne aussi bien sur de l'ITO recuit que non recuit. Les résultats sont présentés dans Fig. B.5

<u>Paramètres de gravure :</u>	Ar	50 SCCM
	durée	420s
	RF Puissance	200W
	température	20°



(a) Etat initial de la puce. Les electrodes parallèles sont de largeur 10μm espacées par 10μm.



(b) Etat de la puce après gravure. Les dimensions des électrodes ne sont plus corectent. Nous obtenons des électrodes de 13μm espacées de 7μm. La rugosité de la résine s'est détérioré, Ra = 2800nm.

FIGURE B.5 – Résultats de gravure sèche à 20° pour de l'ITO recuit

Conclusion : Ce phénomène n'était pas présent sur les essais d'ITO non recuit alors que la résine était identique. La résine sur les puces d'ITO non recuit avait cependant été déposée 6 mois auparavant. Nous pouvons supposer que les propriétés de la résine changent avec le temps. Nous supposons que la résine "crame" pendant la gravure à cause de l'échauffement provoqué par la gravure "physique" par Ar.

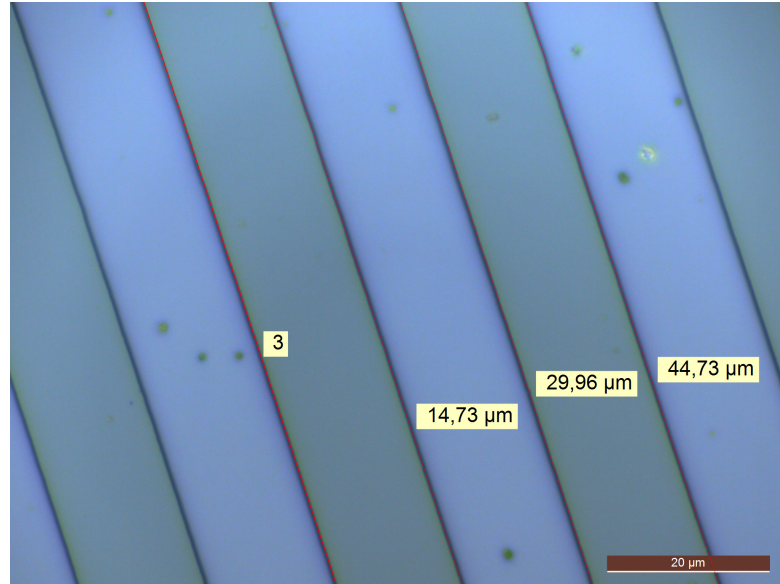
Essai n°2

Lors de ce test, la température de gravure a été abaissée afin de refroidir la résine et d'éviter le phénomène précédemment observé. Les résultats sont présentés dans Fig. B.6.

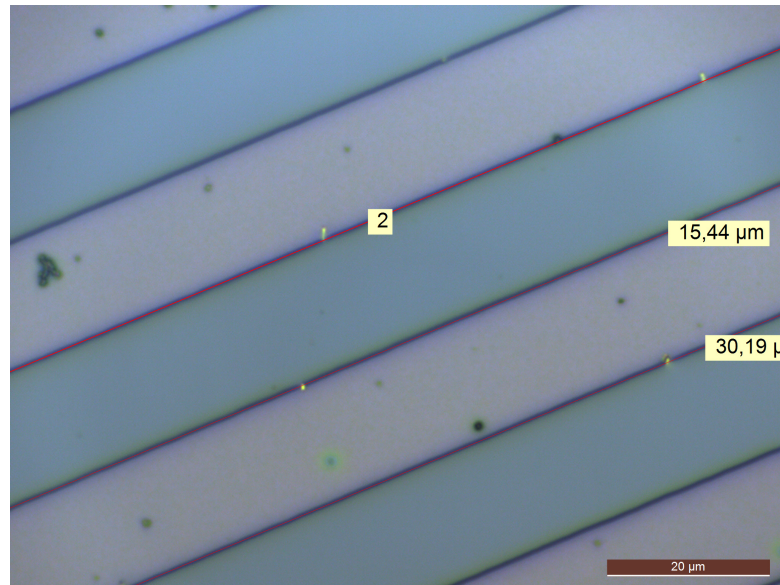
	Ar	50 SCCM
<u>Paramètres de gravure :</u>	durée	600s
	RF Power	90W
	température	5°

Certains défauts sont observés sur le bord des électrodes après gravure. De futurs essais détermineront si ce phénomène est récurrent et dû à la gravure ou si cela est dû à l'état initial de l'échantillon.

Conclusion : Le résultat de la gravure est encourageant. Les dimensions sont conservées après le lift-off. La rugosité obtenue est correcte $R_a = 15\text{nm}$. 140nm ont été gravés lors de cet essai. Le prochain essai consistera à faire un test de gravure complète en augmentant le temps de gravure. La vitesse de gravure était de 14nm/min.



(a) Etat initial de la puce. Les electrodes parallèles sont de largeur 15 μ m espacées par 15 μ m.



(b) Résultat de la gravure à 5°. La résine est en bon état, la rugosité mesurée est de 17 nm. Les dimensions sont respectées.

FIGURE B.6 – Résultats de gravure sèche à 5° pour de l'ITO recuit

Annexe C

Code C++ de calcul du champ électrique
par série de Fourier dans le cas de deux
plans d'électrodes orthogonaux

```

1  //%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
2  //%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
3  ResultAnalyticalGeometry analytical_Geometry(physical_system &physicalSys)
4  {
5      int lengthSerieFourier = physicalSys.lengthSerieFourier;
6      int nbElectrodes = physicalSys.nbElectrodes;
7      ResultAnalyticalGeometry output(physicalSys);
8
9      int k=0,n=0;
10     double gamma[2*lengthSerieFourier+1];
11
12     for(k=-lengthSerieFourier;k<=lengthSerieFourier;++k)
13     {
14         output.omega[lengthSerieFourier+k] = k*PI/(physicalSys.LCh);
15         gamma[lengthSerieFourier+k] = k*PI/(2.*nbElectrodes-1);
16         output.exp2homega[lengthSerieFourier+k] = (exp(2.*physicalSys.hCh*output
17             .omega[lengthSerieFourier+k]));
18
19         for (n=nbElectrodes-1;--n;)
20             output.anp[n+(lengthSerieFourier+k)*nbElectrodes]=(((2.*nbElectrodes
21                 -1)/(k*k*PI*PI))*cos(2.*n*gamma[lengthSerieFourier+k])-cos((2.*n
22                 -1)*gamma[lengthSerieFourier+k])-cos((2.*n+2)*gamma[
23                 lengthSerieFourier+k])+cos((2.*n+1)*gamma[lengthSerieFourier+k])));
24
25         output.anp[nbElectrodes*(lengthSerieFourier+k+1)-1]=(pow(-1,k)*(2.*
26             nbElectrodes-1)/(k*k*PI*PI))*cos(gamma[lengthSerieFourier+k])-cos
27             (2.*gamma[lengthSerieFourier+k]);
28         output.anp[nbElectrodes*(lengthSerieFourier+k)]=((2.*nbElectrodes-1)/(k*
29             k*PI*PI))*cos((gamma[lengthSerieFourier+k]))-cos((2.*gamma[
30             lengthSerieFourier+k]));
31     }
32
33     for(n=1;n<(nbElectrodes-1);++n)
34         output.anp[n+nbElectrodes*lengthSerieFourier]=(2./(2.*nbElectrodes-1));
35
36     output.anp[nbElectrodes*(lengthSerieFourier+1)-1]=1.5/(2*nbElectrodes-1);
37     output.anp[nbElectrodes*lengthSerieFourier]=1.5/(2*nbElectrodes-1);
38
39     return output;
40 }
41 //%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
42 //%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
43 void calcul_Force2planOrtho(ResultAnalyticalGeometry &resGeomDown,
44     ResultAnalyticalGeometry &resGeomUp, Particle &particle,physical_system &
45     physicalSys, std::vector<double> &command)
46 {
47     resGeomDown.ond[physicalSys.lengthSerieFourier]=1;
48     resGeomUp.ond[physicalSys.lengthSerieFourier]=1;
49
50     int n=0 , p=0;
51
52     double particleYPosRefUp = physicalSys.hCh-particle.posZ;

```

```

44     double ez1=0 ,ez2=0;
45     double temp2=0 ,temp3=0;
46     double eyr = 0 , eyc = 0;
47
48     double ey=0 , ez = 0 , eyy = 0, eyz = 0;
49
50     double Ey=0, Ez=0, Eyy=0, Eyz=0,Ex=0,Exx=0, Exz=0;
51     double Fy=0 , Fz=0, Fx=0;
52     double dE2y=0 , dE2z=0, dE2x=0;
53
54     for(n=physicalSys.nbPlan*physicalSys.nbElectrodes;n--;)
55     {
56         ey=0;
57         ez=0;
58         eyy=0;
59         eyz=0;
60
61         if(command[n] == 0)
62             continue;
63
64         if(n<physicalSys.nbElectrodes)
65         {
66             for(p=2*physicalSys.lengthSerieFourier+1;p--;)
67             {
68                 temp2 = exp(resGeomDown.omega[p]*particle.posZ);
69                 temp3 = exp(resGeomDown.omega[p]*(2*physicalSys.hCh-particle.posZ
70                     ));
71                 ez1 = (temp3-temp2)/(resGeomDown.exp2homega[p]-(resGeomDown.ond[p
72                     ]+1));
73                 ez2 = (temp3+temp2)/(resGeomDown.exp2homega[p]-(resGeomDown.ond[p
74                     ]+1));
75                 eyr = -resGeomDown.omega[p]*cos(resGeomDown.omega[p]*particle.
76                     posY)*resGeomDown.anp[physicalSys.nbElectrodes*p+n];
77                 eyc = resGeomDown.omega[p]*sin(resGeomDown.omega[p]*particle.posY
78                     )*resGeomDown.anp[physicalSys.nbElectrodes*p+n];
79
80                 ey += eyc*ez1;
81                 ez += -double(resGeomDown.ond[p]/(6*physicalSys.hCh))+eyr*ez2;
82                 eyy += resGeomDown.omega[p]*eyr*ez1;
83                 eyz += -resGeomDown.omega[p]*eyc*ez2;
84             }
85             Ey += ey*double(command[n]);
86             Ez += ez*double(command[n]);
87             Eyy += eyy*double(command[n]);
88             Eyz += eyz*double(command[n]);
89         }
90     }
91     else
92     {
93         for(p=2*physicalSys.lengthSerieFourier+1;p--;)
94         {
95             temp2 = exp(resGeomUp.omega[p]*particleYPosRefUp);
96             temp3 = exp(resGeomUp.omega[p]*(2*physicalSys.hCh-
97                 particleYPosRefUp));

```

```

91         ez1 = (temp3-temp2)/(resGeomUp.exp2homega [p]-(resGeomUp.ond [p]+1)
92             );
93         ez2 = -(temp3+temp2)/(resGeomUp.exp2homega [p]-(resGeomUp.ond [p
94             ]+1));
95         eyr = -resGeomUp.omega [p]*cos (resGeomUp.omega [p]*particle.posX)*
96             resGeomUp.anp [(physicalSys.nbElectrodes)*p+n-8];
97         eyc = resGeomUp.omega [p]*sin (resGeomUp.omega [p]*particle.posX)*
98             resGeomUp.anp [(physicalSys.nbElectrodes)*p+n-8];
99
100         ey += eyc*ez1;
101         ez += double (resGeomUp.ond [p]/(6*physicalSys.hCh))+eyr*ez2;
102         eyy += resGeomUp.omega [p]*eyr*ez1;
103         eyz += -resGeomUp.omega [p]*eyc*ez2;
104     }
105
106     Ex += ey*double (command [n]);
107     Ez += ez*double (command [n]);
108     Exx += eyy*double (command [n]);
109     Exz += eyz*double (command [n]);
110 }
111
112 dE2y = double (2*(Ey*Eyy+Ez*Eyz));
113 dE2z = double (2*(Ey*Eyz-Ez*Eyy-Ez*Exx));
114 dE2x = double (2*(Ey*Exx+Ez*Exz));
115 Fy = -physicalSys.CDEP*dE2y;
116 Fx = physicalSys.CDEP*dE2x;
117 Fz = physicalSys.CDEP*dE2z;
118
119 particle.FY = double (Fy);
120 particle.FZ = double (Fz);
121 particle.FX = double (Fx);
122 }
123 //%%%%%%%%%%
124 //%%%%%%%%%%

```

Annexe D

Schéma électrique d'un multiplicateur de tensions

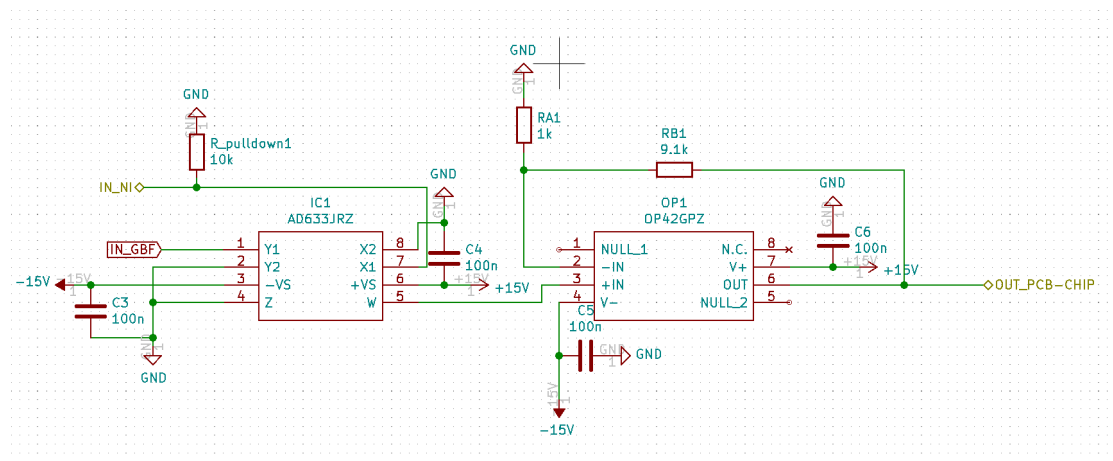


FIGURE D.1 – Schéma électronique de la carte permettant de multiplier un signal continu avec un signal sinusoïdal.

Annexe E

Explication détaillée du phénomène de
perturbation de la mesure d'impédance
induit par l'actionnement par
diélectrophorèse

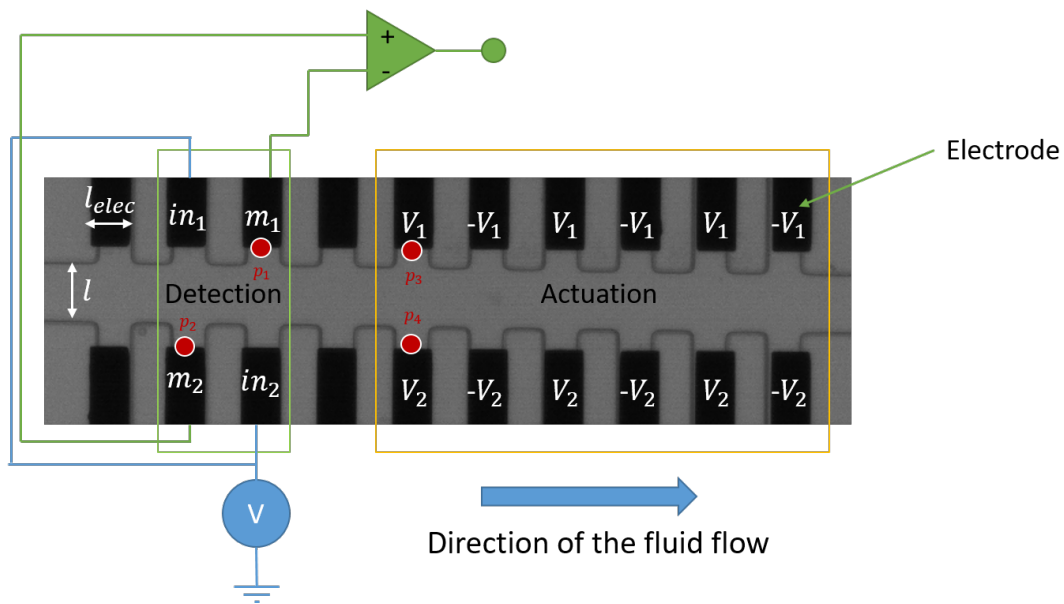


FIGURE V.11 – Image de la puce fabriquée et utilisée pour les expériences.
(rappel de la figure originale page 124)

La figure V.14(a) représente le passage de $V_1=7\text{ V}$, $V_2=1\text{ V}$ à $V_1=1\text{ V}$, $V_2=7\text{ V}$. Cela se traduit par une diminution du courant différentiel mesuré. Dans la configuration $V_1=7\text{ V}$, $V_2=1\text{ V}$, il y a une différence de potentiel de 14 V entre les électrodes du haut. Cette différence de potentiel est responsable de l'échauffement au point p_1 et est liée à la distance entre les points p_3 et p_1 (voir figure V.11). Dans la configuration $V_1=1\text{ V}$, $V_2=7\text{ V}$ il y a une différence de potentiel de 14 V entre les électrodes du bas, l'échauffement au point p_1 est donc lié à la distance entre les points p_4 et p_1 . De la même manière, l'échauffement au point p_2 est respectivement lié aux distances entre p_3 et p_2 puis p_4 et p_2 (voir figure V.11). Cependant, comme m_1 est plus proche de la zone d'actionnement que m_2 , il est supposé que la variation de température au point p_1 est supérieure à celle au point p_2 dans toutes les configurations.

Comme la distance entre p_3 et p_1 est inférieure à la distance entre p_4 et p_1 , lors du passage de $V_1=7\text{ V}$, $V_2=1\text{ V}$ à $V_1=1\text{ V}$, $V_2=7\text{ V}$, la température au point p_1 va diminuer, entraînant une diminution de la conductivité, donc une augmentation de l'impédance. Ainsi, le courant mesuré à l'électrode m_1 va augmenter. Comme la mesure est différentielle avec $I_{diff} = I_{m2} - I_{m1}$, si I_{m1} augmente, I_{diff} diminue. Le phénomène inverse se produit lors du passage de $V_1=1\text{ V}$, $V_2=7\text{ V}$ à $V_1=7\text{ V}$, $V_2=1\text{ V}$ et se traduit par une augmentation du courant mesurer comme observé figure V.14(b).

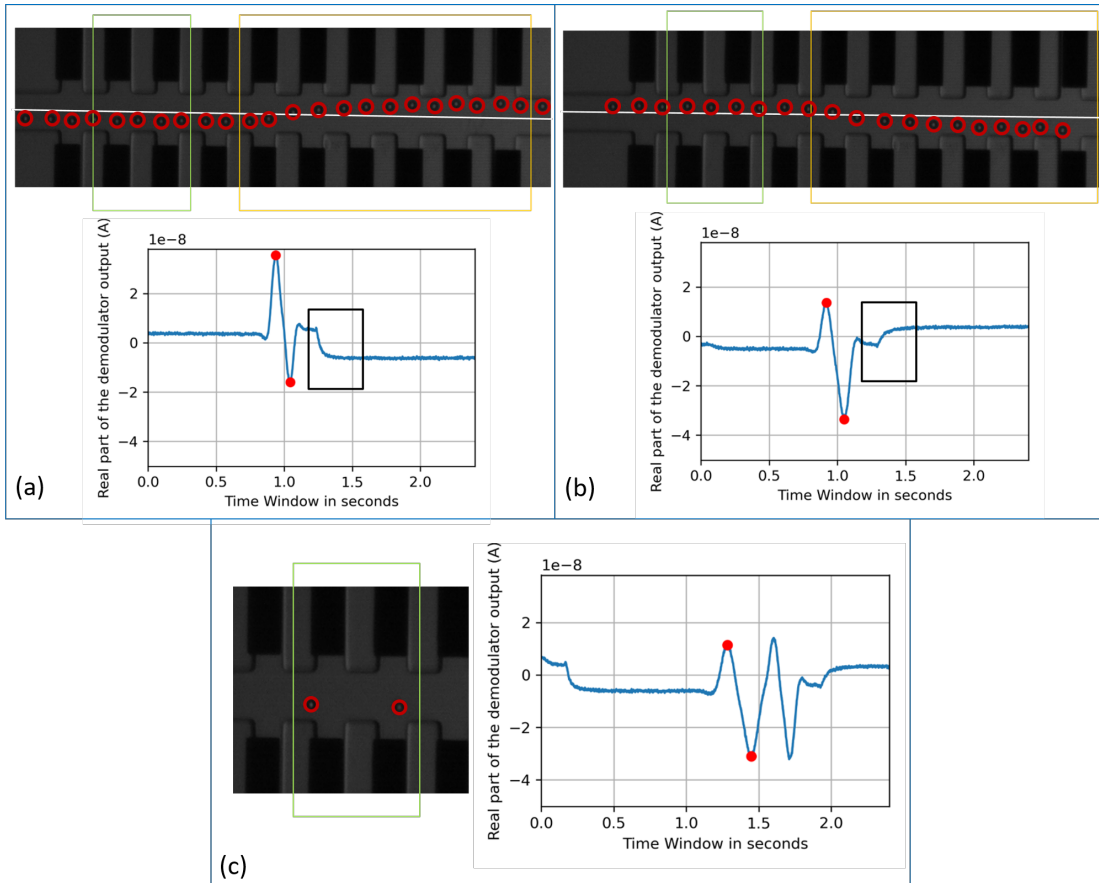


FIGURE V.14 – Résultat expérimental obtenu pour le changement de position latéral dans un canal microfluidique de microbilles. (rappel de la figure originale page 129)

Bibliographie

- [Abdulla 22] A. Abdulla, T. Zhang, S. Li, W. Guo, A. R. Warden, Y. Xin, N. Maboyi, J. Lou, H. Xie & X. Ding. *Integrated Microfluidic Single-Cell Immunoblotting Chip Enables High-Throughput Isolation, Enrichment and Direct Protein Analysis of Circulating Tumor Cells*. *Microsystems & Nanoengineering*, vol. 8, no. 1, pages 1–12, February 2022.
- [Abedian 08] B. Abedian & K. Baker. *Temperature Effects on the Electrical Conductivity of Dielectric Liquids*. *Dielectrics and Electrical Insulation, IEEE Transactions on*, vol. 15, pages 888–892, July 2008.
- [Ahmad 21] B. Ahmad, H. Chambon, P. Tissier & A. Bolopion. *Laser Actuated Microgripper Using Optimized Chevron-Shaped Actuator*. *Micromachines*, vol. 12, no. 12, page 1487, November 2021.
- [Ahmad 23] B. Ahmad, A. Barbot, G. Ulliac & A. Bolopion. *Hybrid Optothermal-Magnetic Mobile Microgripper for In-Liquid Micromanipulation*. *IEEE Robotics and Automation Letters*, vol. 8, no. 3, pages 1675–1682, March 2023.
- [Ambari 83] A. Ambari, B. Gauthier Manuel & E. Guyon. *Effect of a Plane Wall on a Sphere Moving Parallel to It*. *Journal de Physique Lettres*, vol. 44, no. 4, pages 143–146, 1983.
- [Ambari 84] A. Ambari, B. Gauthier-Manuel & E. Guyon. *Wall Effects on a Sphere Translating at Constant Velocity*. *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 149, no. -1, page 235, December 1984.
- [Ashkin 86] A. Ashkin, J. M. Dziedzic, J. E. Bjorkholm & S. Chu. *Observation of a Single-Beam Gradient Force Optical Trap for Dielectric Particles*. *Optics Letters*, vol. 11, no. 5, page 288, May 1986.
- [Ashkin 92] A. Ashkin. *Forces of a Single-Beam Gradient Laser Trap on a Dielectric Sphere in the Ray Optics Regime*. *Biophysical Journal*, vol. 61, no. 2, pages 569–582, February 1992.

- [Aziz 20] A. Aziz, S. Pane, V. Iacovacci, N. Koukourakis, J. Czarske, A. Mencias, M. Medina-Sánchez & O. G. Schmidt. *Medical Imaging of Microrobots : Toward In Vivo Applications*. ACS Nano, vol. 14, no. 9, pages 10865–10893, September 2020.
- [Bazaz 11] S. A. Bazaz, F. Khan & R. I. Shakoor. *Design, Simulation and Testing of Electrostatic SOI MUMPs Based Microgripper Integrated with Capacitive Contact Sensor*. Sensors and Actuators A : Physical, vol. 167, no. 1, pages 44–53, May 2011.
- [Bendkowski 21] C. Bendkowski, L. Mennillo, T. Xu, M. Elsayed, F. Stojic, H. Edwards, S. Zhang, C. Morshead, V. Pawar, A. R. Wheeler, D. Stoyanov & M. Shaw. *Autonomous Object Harvesting Using Synchronized Optoelectronic Microrobots*. In 2021 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS), pages 7498–7504, Prague, Czech Republic, September 2021. IEEE.
- [Blázquez-Castro 19] A. Blázquez-Castro. *Optical Tweezers : Phototoxicity and Thermal Stress in Cells and Biomolecules*. Micromachines, vol. 10, no. 8, page 507, July 2019.
- [Bunea 21] A.-I. Bunea, N. Iniesta, A. Droumpali, A. Wetzel, E. Engay & R. Taboryski. *Micro 3D Printing by Two-Photon Polymerization : Configurations and Parameters for the Nanoscribe System*. Micro, vol. 1, pages 164–180, September 2021.
- [Caselli 17] F. Caselli, R. Reale, N. Nodargi & P. Bisegna. *Numerical Investigation of a Novel Wiring Scheme Enabling Simple and Accurate Impedance Cytometry*. Micromachines, vol. 8, no. 9, page 283, September 2017.
- [Casquillas 21] G. V. Casquillas. *Pressure-Driven Flow Control*. Elveflow, January 2021.
- [Cha 22] H. Cha, H. Fallahi, Y. Dai, D. Yuan, H. An, N.-T. Nguyen & J. Zhang. *Multiphysics Microfluidics for Cell Manipulation and Separation : A Review*. Lab on a Chip, vol. 22, no. 3, pages 423–444, 2022.
- [Chan 15] H. N. Chan, Y. Chen, Y. Shu, Y. Chen, Q. Tian & H. Wu. *Direct, One-Step Molding of 3D-printed Structures for Convenient Fabrication of Truly 3D PDMS Microfluidic Chips*. Microfluidics and Nanofluidics, vol. 19, no. 1, pages 9–18, July 2015.

-
- [Cottet 19] J. Cottet, O. Fabregue, C. Berger, F. Buret, P. Renaud & M. Frénéa-Robin. *MyDEP : A New Computational Tool for Dielectric Modeling of Particles and Cells*. Zenodo, January 2019.
- [Daguerre 21] H. Daguerre. *Estimation de Position Basée Sur l'impédance Électrique Pour La Microrobotique Mobile*. These de doctorat, Bourgogne Franche-Comté, December 2021.
- [De Pasquale 22] G. De Pasquale. *Design and Modeling of MEMS Microgrippers for Laser-Based Additive Manufacturing*. *Micro*, vol. 2, no. 2, pages 225–239, April 2022.
- [del Barrio 19] J. del Barrio & C. Sánchez-Somolinos. *Light to Shape the Future : From Photolithography to 4D Printing*. *Advanced Optical Materials*, vol. 7, no. 16, page 1900598, 2019.
- [Demierre 08] N. Demierre, T. Braschler, R. Muller & P. Renaud. *Focusing and Continuous Separation of Cells in a Microfluidic Device Using Lateral Dielectrophoresis*. *Sensors and Actuators B : Chemical*, vol. 132, no. 2, pages 388–396, June 2008.
- [Derakhshan 23] R. Derakhshan, A. Ghasemi, R. Moradi & A. Ramiar. *Design and Numerical Investigation of a Circular Microchannel for Particle/Cell Separation Using Dielectrophoresis*. *Advanced Powder Technology*, vol. 34, no. 7, page 104046, July 2023.
- [Devaray 22] P. Devaray, S. F. W. M. Hatta & Y. H. Wong. *An Overview of Conventional and New Advancements in High Kappa Thin Film Deposition Techniques in Metal Oxide Semiconductor Devices*. *Journal of Materials Science : Materials in Electronics*, vol. 33, no. 10, pages 7313–7348, April 2022.
- [Di Martino 16] R. Di Martino, M. Camarda, M. Cascio, M. Gallo, A. Magliano, S. Baldo, A. Romano, L. Minafra, G. I. Forte, G. Russo, M. C. Gilardi, F. Di Raimondo, S. Scalese & A. La Magna. *Analysis of the Role of Elution Buffers on the Separation Capabilities of Dielectrophoretic Devices*. *Sensing and Bio-Sensing Research*, vol. 7, pages 162–167, March 2016.
- [Di Trapani 18] M. Di Trapani, N. Manaresi & G. Medoro. *DEPArrayTM System : An Automatic Image-based Sorter for Isolation of Pure Circulating Tumor Cells*. *Cytometry Part A*, vol. 93, no. 12, pages 1260–1266, December 2018.
-

- [Doh 05] I. Doh & Y.-H. Cho. *A Continuous Cell Separation Chip Using Hydrodynamic Dielectrophoresis (DEP) Process*. Sensors and Actuators A : Physical, vol. 121, no. 1, pages 59–65, May 2005.
- [Emmerich 22] M. E. P. Emmerich, A.-S. Sinnigen, P. Neubauer & M. Birkholz. *Dielectrophoretic Separation of Blood Cells*. Biomedical Microdevices, vol. 24, no. 3, page 30, August 2022.
- [Gao 19] D. Gao, F. Jin, M. Zhou & Y. Jiang. *Recent Advances in Single Cell Manipulation and Biochemical Analysis on Microfluidics*. Analyst, vol. 144, no. 3, pages 766–781, January 2019.
- [Gao 20] X. Gao, J. Yang, J. Wu, X. Xin, Z. Li, X. Yuan, X. Shen & S. Dong. *Piezoelectric Actuators and Motors : Materials, Designs, and Applications*. Advanced Materials Technologies, vol. 5, no. 1, page 1900716, 2020.
- [Gauthier 17] Gauthier, Aude Bolopion & Michaël Gauthier. *Analytical Formulation of the Electric Field Induced by Electrode Arrays : Towards Automated Dielectrophoretic Cell Sorting*. Micromachines, vol. 8, no. 8, page 253, August 2017.
- [Gauthier 18a] V. Gauthier. *Conception et Modélisation Pour Le Contrôle de Trajectoire Dans Les Puces Microfluidiques : Application Au Tri Cellulaire Par Diélectrophorèse*. These de doctorat, Bourgogne Franche-Comté, December 2018.
- [Gauthier 18b] V. Gauthier, A. Bolopion & M. Gauthier. *Comparison of Dynamic Models for Non-Contact Micromanipulation Based on Dielectrophoretic Actuation*. In 2018 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS), pages 4869–4874, Madrid, October 2018. IEEE.
- [Gerena 19a] E. Gerena, F. Legendre, A. Molawade, Y. Vitry, S. Régnier & S. Haliyo. *Tele-Robotic Platform for Dexterous Optical Single-Cell Manipulation*. Micromachines, vol. 10, no. 10, page 677, October 2019.
- [Gerena 19b] E. Gerena, F. Legendre, Y. Vitry, S. Regnier & S. Haliyo. *Robotic Optical-micromanipulation Platform for Teleoperated Single-Cell Manipulation*. In 2019 International Conference on Manipulation, Automation and Robotics at Small Scales (MARSS), pages 1–6, Helsinki, Finland, July 2019. IEEE.

- [Giannitsis 11] A. T. Giannitsis. *Microfabrication of Biomedical Lab-on-Chip Devices. A Review*. Estonian Journal of Engineering, vol. 17, no. 2, page 109, 2011.
- [Godino 19] N. Godino, F. Pfisterer, T. Gerling, C. Guernth-Marschner, C. Duschl & M. Kirschbaum. *Combining Dielectrophoresis and Computer Vision for Precise and Fully Automated Single-Cell Handling and Analysis*. Lab on a Chip, vol. 19, no. 24, pages 4016–4020, 2019.
- [González-Bermúdez 19] B. González-Bermúdez, G. V. Guinea & G. R. Plaza. *Advances in Micropipette Aspiration : Applications in Cell Biomechanics, Models, and Extended Studies*. Biophysical Journal, vol. 116, no. 4, pages 587–594, February 2019.
- [Green 14] T. A. Green. *Gold Etching for Microfabrication*. Gold Bulletin, vol. 47, no. 3, pages 205–216, September 2014.
- [Gupta 16] S. Gupta, K. Ramesh, S. Ahmed & V. Kakkar. *Lab-on-Chip Technology : A Review on Design Trends and Future Scope in Biomedical Applications*. International Journal of Bio-Science and Bio-Technology, vol. 8, no. 5, pages 311–322, October 2016.
- [Gurtner 16] M. Gurtner & J. Zemánek. *Twin-Beam Real-Time Position Estimation of Micro-Objects in 3D*. Measurement Science and Technology, vol. 27, no. 12, page 127003, December 2016.
- [Gurtner 17] M. Gurtner, K. Hengster-Movric & Z. Hurák. *Green's Function-Based Control-Oriented Modeling of Electric Field for Dielectrophoresis*. Journal of Applied Physics, vol. 122, no. 5, page 054903, August 2017.
- [Gurtner 22] M. Gurtner. *Distributed Optimization for Multi-Object Manipulation by Shaping Spatial Force Fields*. 2022.
- [Habaza 17] M. Habaza, M. Kirschbaum, C. Guernth-Marschner, G. Dardikman, I. Barnea, R. Korenstein, C. Duschl & N. T. Shaked. *Rapid 3D Refractive-Index Imaging of Live Cells in Suspension without Labeling Using Dielectrophoretic Cell Rotation*. Advanced Science, vol. 4, no. 2, page 1600205, February 2017.
- [Hajari 20] M. Hajari, A. Ebadi, M. J. Farshchi Heydari, M. Fathipour & M. Soltani. *Dielectrophoresis-Based Microfluidic Platform to Sort Micro-Particles in Continuous Flow*. Microsystem Technologies, vol. 26, no. 3, pages 751–763, March 2020.

- [Holmes 06] D. Holmes, H. Morgan & N. G. Green. *High Throughput Particle Analysis : Combining Dielectrophoretic Particle Focussing with Confocal Optical Detection*. Biosensors and Bioelectronics, vol. 21, no. 8, pages 1621–1630, February 2006.
- [Honrado 21] C. Honrado, P. Bisegna, N. S. Swami & F. Caselli. *Single-Cell Microfluidic Impedance Cytometry : From Raw Signals to Cell Phenotypes Using Data Analytics*. Lab on a Chip, vol. 21, no. 1, pages 22–54, 2021.
- [Hu 22] S. Hu, J.-y. Ye, Y. Zhao & C.-l. Zhu. *Advanced Optical Tweezers on Cell Manipulation and Analysis*. The European Physical Journal Plus, vol. 137, no. 9, page 1024, September 2022.
- [Hughes 03] M. P. Hughes. *Nanoelectromechanics in engineering and biology*. Nano- and Microscience, Engineering, Technology, and Medicine Series. CRC Press, Boca Raton, 2003.
- [Iamoni 14] S. Iamoni & A. Somà. *Design of an Electro-Thermally Actuated Cell Microgripper*. Microsystem Technologies, vol. 20, no. 4-5, pages 869–877, April 2014.
- [Irimajiri 79] A. Irimajiri, T. Hanai & A. Inouye. *A Dielectric Theory of “Multi-Stratified Shell” Model with Its Application to a Lymphoma Cell*. Journal of Theoretical Biology, vol. 78, no. 2, pages 251–269, May 1979.
- [Jia 19] H. Jia, E. Mailand, J. Zhou, Z. Huang, G. Dietler, J. M. Kolinski, X. Wang & M. S. Sakar. *Universal Soft Robotic Microgripper*. Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany), vol. 15, no. 4, page 1803870, January 2019.
- [Ju 21] Y. Ju, R. Hu, Y. Xie, J. Yao, X. Li, Y. Lv, X. Han, Q. Cao & L. Li. *Reconfigurable Magnetic Soft Robots with Multimodal Locomotion*. Nano Energy, vol. 87, page 106169, September 2021.
- [Kharboutly 11] M. Kharboutly. *Modélisation, Réalisation et Commande d’un Système de Micro-Manipulation sans Contact Par Diélectrophorèse*. These de doctorat, Besançon, February 2011.
- [Kharboutly 13] M. Kharboutly & M. Gauthier. *High Speed Closed Loop Control of a Dielectrophoresis-Based System*. In 2013 IEEE International Conference on Robotics and Automation, pages 1446–1451, Karlsruhe, Germany, May 2013. IEEE.

- [Kim 05] D.-H. Kim, M. G. Lee, B. Kim & Y. Sun. *A Supere-lastic Alloy Microgripper with Embedded Electromagnetic Actuators and Piezoelectric Force Sensors : A Numerical and Experimental Study*. Smart Materials and Structures, vol. 14, no. 6, pages 1265–1272, December 2005.
- [Kim 11] H. J. Kim, H.-S. Moon, B. S. Kwak & H.-I. Jung. *Microfluidic Device to Separate Micro-Beads with Various Fluorescence Intensities*. Sensors and Actuators B : Chemical, vol. 160, no. 1, pages 1536–1543, December 2011.
- [Kirtane 21] K. Kirtane, H. Elmariah, C. H. Chung & D. Abate-Daga. *Adoptive Cellular Therapy in Solid Tumor Malignancies : Review of the Literature and Challenges Ahead*. Journal for Immunotherapy of Cancer, vol. 9, no. 7, page e002723, July 2021.
- [Kiryo 22] T. Kiryo, Y. Takahashi & S. Miyata. *Purification of Pluripotent Embryonic Stem Cells Using Dielectrophoresis and a Flow Control System*. Engineering in Life Sciences, vol. 22, no. 5, pages 417–426, May 2022.
- [Kung 21] Y.-C. Kung, K. R. Niazi & P.-Y. Chiou. *Tunnel Dielectrophoresis for Ultra-High Precision Size-Based Cell Separation*. Lab on a Chip, vol. 21, no. 6, pages 1049–1060, March 2021.
- [Lai 22] X. Lai, M. Yang, H. Wu & D. Li. *Modular Microfluidics : Current Status and Future Prospects*. Micromachines, vol. 13, no. 8, page 1363, August 2022.
- [Lenshof 11] A. Lenshof & T. Laurell. *Emerging Clinical Applications of Microchip-Based Acoustophoresis*. JALA : Journal of the Association for Laboratory Automation, vol. 16, no. 6, pages 443–449, December 2011.
- [Li 21] P. Li & Y. Ai. *Label-Free Multivariate Biophysical Phenotyping-Activated Acoustic Sorting at the Single-Cell Level*. Analytical Chemistry, vol. 93, no. 8, pages 4108–4117, March 2021.
- [Lipp 22] C. Lipp, L. Koebel, A. Bertsch, M. Gauthier, A. Bolepion & P. Renaud. *Dielectrophoretic Traps for Efficient Bead and Cell Trapping and Formation of Aggregates of Controlled Size and Composition*. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, vol. 10, page 910578, July 2022.
- [Lipp 23] C. Lipp, L. Koebel, R. Loyon, A. Bolepion, L. Spehner, M. Gauthier, C. Borg, A. Bertsch & P. Renaud. *Microfluidic Device Combining Hydrodynamic and Dielec-*

- trophoretic Trapping for the Controlled Contact between Single Micro-Sized Objects and Application to Adhesion Assays*. Lab on a Chip, 2023.
- [Liu 19] Y. Liu, M. Cui, J. Huang, M. Sun, X. Zhao & Q. Zhao. *Robotic Micropipette Aspiration for Multiple Cells*. Micromachines, vol. 10, no. 5, page 348, May 2019.
- [Long 17] Z. Long, J. Zhang, Y. Liu, C. Han, Y. Li & Z. Li. *Dynamics Modeling and Residual Vibration Control of a Piezoelectric Gripper During Wire Bonding*. IEEE Transactions on Components, Packaging and Manufacturing Technology, vol. 7, no. 12, pages 2045–2056, December 2017.
- [Lu 23] N. Lu, H. Min Tay, C. Petchakup, L. He, L. Gong, K. Khine Maw, S. Yuan Leong, W. Wei Lok, H. Boon Ong, R. Guo, K. H. Holden Li & H. Wei Hou. *Label-Free Microfluidic Cell Sorting and Detection for Rapid Blood Analysis*. Lab on a Chip, vol. 23, no. 5, pages 1226–1257, 2023.
- [Luo 19] T. Luo, L. Fan, R. Zhu & D. Sun. *Microfluidic Single-Cell Manipulation and Analysis : Methods and Applications*. Micromachines, vol. 10, no. 2, page 104, February 2019.
- [Lyu 21] Z. Lyu & Q. Xu. *Recent Design and Development of Piezoelectric-Actuated Compliant Microgrippers : A Review*. Sensors and Actuators A : Physical, vol. 331, page 113002, November 2021.
- [Magdanz 17] V. Magdanz, M. Medina-Sánchez, L. Schwarz, H. Xu, J. Elgeti & O. G. Schmidt. *Spermatozoa as Functional Components of Robotic Microswimmers*. Advanced Materials, vol. 29, no. 24, page 1606301, June 2017.
- [Mark 10] D. Mark, S. Haeberle, G. Roth, F. Von Stetten & R. Zengerle. *Microfluidic Lab-on-a-Chip Platforms : Requirements, Characteristics and Applications*. In S. Kakaç, B. Kosoy, D. Li & A. Pramuanjaroenkij, editeurs, Microfluidics Based Microsystems, pages 305–376. Springer Netherlands, Dordrecht, 2010.
- [Mazalan 21] M. Mazalan, A. Noor, Y. Wahab, S. Yahud & W. Zaman. *Current Development in Interdigital Transducer (IDT) Surface Acoustic Wave Devices for Live Cell In Vitro Studies : A Review*. Micromachines, vol. 13, no. 1, page 30, December 2021.
- [Michálek 15] T. Michálek. *Real-Time Optimization-Based Control for Dielectrophoresis*. 2015.

- [Michálek 19] T. Michálek, A. Bolopion, Z. Hurák & M. Gauthier. *Control-Oriented Model of Dielectrophoresis and Electro-rotation for Arbitrarily Shaped Objects*. *Physical Review E*, vol. 99, no. 5, page 053307, May 2019.
- [Michálek 20] T. Michálek. *Micromanipulation Using Dielectrophoresis : Modeling and Real-Time Optimization-Base Control*. PhD thesis, 2020.
- [Mittal 07] N. Mittal, A. Rosenthal & J. Voldman. *nDEP Microwells for Single-Cell Patterning in Physiological Media*. *Lab on a Chip*, vol. 7, no. 9, page 1146, 2007.
- [Nasir 20] N. Nasir & M. Al Ahmad. *Cells Electrical Characterization : Dielectric Properties, Mixture, and Modeling Theories*. *Journal of Engineering*, vol. 2020, pages 1–17, January 2020.
- [Nguyen 20] T. D. Nguyen, Y. Q. Fu, V.-T. Tran, A. Gautam, S. Pudasaini & H. Du. *Acoustofluidic Closed-Loop Control of Microparticles and Cells Using Standing Surface Acoustic Waves*. *Sensors and Actuators B : Chemical*, vol. 318, page 128143, September 2020.
- [Nie 21] X. Nie, Y. Luo, P. Shen, C. Han, D. Yu & X. Xing. *High-Throughput Dielectrophoretic Cell Sorting Assisted by Cell Sliding on Scalable Electrode Tracks Made of Conducting-PDMS*. *Sensors and Actuators B : Chemical*, vol. 327, page 128873, January 2021.
- [Oshiro 22] K. Oshiro, Y. Wakizaka, M. Takano, T. Itoi, H. Ohge, K. Koba, K. Yarimizu, S. Fujiyoshi & F. Maruyama. *Fabrication of a New All-in-One Microfluidic Dielectrophoresis Integrated Chip and Living Cell Separation*. *iScience*, vol. 25, no. 2, page 103776, February 2022.
- [Pattanayak 21] P. Pattanayak, S. K. Singh, M. Gulati, S. Vishwas, B. Kapoor, D. K. Chellappan, K. Anand, G. Gupta, N. K. Jha, P. K. Gupta, P. Prasher, K. Dua, H. Dureja, D. Kumar & V. Kumar. *Microfluidic Chips : Recent Advances, Critical Strategies in Design, Applications and Future Perspectives*. *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 25, no. 12, page 99, October 2021.
- [Pohl 51] H. A. Pohl. *The Motion and Precipitation of Suspensoids in Divergent Electric Fields*. *Journal of Applied Physics*, vol. 22, no. 7, pages 869–871, July 1951.
- [Radfar 22] P. Radfar, H. Aboulkheyr Es, R. Salomon, A. Kulasinghe, N. Ramalingam, E. Sarafraz-Yazdi, J. P. Thiery & M. E. Warkiani. *Single-Cell Analysis of Circulating Tu-*

- mour Cells : Enabling Technologies and Clinical Applications*. Trends in Biotechnology, vol. 40, no. 9, pages 1041–1060, September 2022.
- [Raicu 96] V. Raicu, G. Raicu & G. Turcu. *Dielectric Properties of Yeast Cells as Simulated by the Two-Shell Model*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, vol. 1274, no. 3, pages 143–148, June 1996.
- [Reale 18] R. Reale, A. De Ninno, L. Businaro, P. Bisegna & F. Caselli. *Electrical Measurement of Cross-Sectional Position of Particles Flowing through a Microchannel*. Microfluidics and Nanofluidics, vol. 22, no. 4, page 41, April 2018.
- [Reale 19] R. Reale, A. De Ninno, L. Businaro, P. Bisegna & F. Caselli. *A Simple Electrical Approach to Monitor Dielectrophoretic Focusing of Particles Flowing in a Microchannel*. ELECTROPHORESIS, vol. 40, no. 10, pages 1400–1407, May 2019.
- [Roch 03] I. Roch, P. Bidaud, D. Collard & L. Buchaillot. *Fabrication and Characterization of an SU-8 Gripper Actuated by a Shape Memory Alloy Thin Film*. Journal of Micromechanics and Microengineering, vol. 13, no. 2, pages 330–336, March 2003.
- [Rubino 15] P. Rubino, P. Viganò, A. Luddi & P. Piomboni. *The ICSI Procedure from Past to Future : A Systematic Review of the More Controversial Aspects*. Human Reproduction Update, page dmv050, November 2015.
- [Rufo 22] J. Rufo, F. Cai, J. Friend, M. Wiklund & T. J. Huang. *Acoustofluidics for Biomedical Applications*. Nature Reviews Methods Primers, vol. 2, no. 1, page 30, April 2022.
- [Ruggeri 18] S. Ruggeri, G. Fontana, A. Ghidoni, A. Morelli, G. Legnani, A. M. Lezzi & I. Fassi. *A Preliminary Fluid Dynamic Model of a Vacuum Micro-Gripper With Integrated Release System*. In Volume 4 : 23rd Design for Manufacturing and the Life Cycle Conference; 12th International Conference on Micro- and Nanosystems, page V004T08A031, Quebec City, Quebec, Canada, August 2018. American Society of Mechanical Engineers.
- [Saha 20] P. Saha, T. Duanis-Assaf & M. Reches. *Fundamentals and Applications of FluidFM Technology in Single-Cell Studies*. Advanced Materials Interfaces, vol. 7, no. 23, page 2001115, December 2020.

- [Sahu 09] N. Sahu, B. Parija & S. Panigrahi. *Fundamental Understanding and Modeling of Spin Coating Process : A Review*. Indian Journal of Physics, vol. 83, no. 4, pages 493–502, April 2009.
- [Samadikhoshkho 19] Z. Samadikhoshkho, K. Zareinia & F. Janabi-Sharifi. *A Brief Review on Robotic Grippers Classifications*. In 2019 IEEE Canadian Conference of Electrical and Computer Engineering (CCECE), pages 1–4, Edmonton, AB, Canada, May 2019. IEEE.
- [Sarno 21] B. Sarno, D. Heineck, M. J. Heller & S. D. Ibsen. *Dielectrophoresis : Developments and Applications from 2010 to 2020*. ELECTROPHORESIS, vol. 42, no. 5, pages 539–564, March 2021.
- [Shan 20] G. Shan, Z. Zhang, C. Dai, X. Wang, L.-T. Chu & Y. Sun. *Model-Based Robotic Cell Aspiration : Tackling Nonlinear Dynamics and Varying Cell Sizes*. IEEE Robotics and Automation Letters, vol. 5, no. 1, pages 173–178, January 2020.
- [Shen 19] Y. Shen, Y. Yalikhun & Y. Tanaka. *Recent Advances in Microfluidic Cell Sorting Systems*. Sensors and Actuators B : Chemical, vol. 282, pages 268–281, March 2019.
- [Sitti 00] M. Sitti & H. Hashimoto. *Controlled Pushing of Nanoparticles : Modeling and Experiments*. IEEE/ASME Transactions on Mechatronics, vol. 5, no. 2, pages 199–211, June 2000.
- [Sitti 20] M. Sitti & D. S. Wiersma. *Pros and Cons : Magnetic versus Optical Microrobots*. Advanced Materials, vol. 32, no. 20, page 1906766, May 2020.
- [Songok 14] J. Songok, M. Tuominen, H. Teisala, J. Haapanen, J. Mäkelä, J. Kuusipalo & M. Toivakka. *Paper-Based Microfluidics : Fabrication Technique and Dynamics of Capillary-Driven Surface Flow*. ACS Applied Materials & Interfaces, vol. 6, no. 22, pages 20060–20066, November 2014.
- [Steager 13] E. B. Steager, M. Selman Sakar, C. Magee, M. Kennedy, A. Cowley & V. Kumar. *Automated Biomanipulation of Single Cells Using Magnetic Microrobots*. The International Journal of Robotics Research, vol. 32, no. 3, pages 346–359, March 2013.
- [Stimpson 19] G. A. Stimpson, M. S. Skilbeck, R. L. Patel, B. L. Green & G. W. Morley. *An Open-Source High-Frequency Lock-in Amplifier*. Review of Scientific Instruments, vol. 90, no. 9, page 094701, September 2019.

- [Thomas 19] R. S. W. Thomas, P. D. Mitchell, R. O. C. Oreffo, H. Morgan & N. G. Green. *Image-based Sorting and Negative Dielectrophoresis for High Purity Cell and Particle Separation*. ELECTROPHORESIS, vol. 40, no. 20, pages 2718–2727, October 2019.
- [Tian 23] Y. Tian, R. Hu, G. Du & N. Xu. *Microfluidic Chips : Emerging Technologies for Adoptive Cell Immunotherapy*. Micromachines, vol. 14, no. 4, page 877, April 2023.
- [Tran 21] N. D. K. Tran, N. T. Le, X. M. Dao, H. S. Le & V. D. Phan. *Design and Simulation of the Microgripper Capable of Vibratory Release*. In 1ST VAN LANG INTERNATIONAL CONFERENCE ON HERITAGE AND TECHNOLOGY CONFERENCE PROCEEDING, 2021 : VanLang-HeriTech, 2021, page 020012, Ho Chi Minh City, Vietnam, 2021.
- [Van Der Leun 20] A. M. Van Der Leun, D. S. Thommen & T. N. Schumacher. *CD8+ T Cell States in Human Cancer : Insights from Single-Cell Analysis*. Nature Reviews Cancer, vol. 20, no. 4, pages 218–232, April 2020.
- [Varmazyari 22] V. Varmazyari, H. Habibiyan, H. Ghafoorifard, M. Ebrahimi & S. Ghafouri-Fard. *A Dielectrophoresis-Based Microfluidic System Having Double-Sided Optimized 3D Electrodes for Label-Free Cancer Cell Separation with Preserving Cell Viability*. Scientific Reports, vol. 12, no. 1, page 12100, July 2022.
- [Wang 96] X. Wang, X.-B. Wang, F. F. Becker & P. R. C. Gascoyne. *A Theoretical Method of Electrical Field Analysis for Dielectrophoretic Electrode Arrays Using Green's Theorem*. Journal of Physics D : Applied Physics, vol. 29, no. 6, pages 1649–1660, June 1996.
- [Wang 11] H. Wang & L. Pilon. *Accurate Simulations of Electric Double Layer Capacitance of Ultramicroelectrodes*. The Journal of Physical Chemistry C, vol. 115, no. 33, pages 16711–16719, August 2011.
- [Wang 15] Z. Wang, X. Shen & X. Chen. *Design, Modeling, and Characterization of a MEMS Electrothermal Microgripper*. Microsystem Technologies, vol. 21, no. 11, pages 2307–2314, November 2015.
- [Wang 22] J. Wang, L. Yang, H. Wang & L. Wang. *Application of Microfluidic Chips in the Detection of Airborne Microorganisms*. Micromachines, vol. 13, no. 10, page 1576, September 2022.

- [Wu 22] K. Wu, X. He, J. Wang, T. Pan, R. He, F. Kong, Z. Cao, F. Ju, Z. Huang & L. Nie. *Recent Progress of Microfluidic Chips in Immunoassay*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 10, 2022.
- [Wyatt Shields IV 15] C. Wyatt Shields IV, C. D. Reyes & G. P. López. *Microfluidic Cell Sorting : A Review of the Advances in the Separation of Cells from Debulking to Rare Cell Isolation*. *Lab on a Chip*, vol. 15, no. 5, pages 1230–1249, 2015.
- [Xie 09] H. Xie, D. S. Haliyo & S. Régnier. *A Versatile Atomic Force Microscope for Three-Dimensional Nanomanipulation and Nanoassembly*. *Nanotechnology*, vol. 20, no. 21, page 215301, May 2009.
- [Xie 18a] H. Xie, H. Zhang, J. Song, X. Meng, Y. Wen & L. Sun. *High-Precision Automated Micromanipulation and Adhesive Microbonding With Cantilevered Micropipette Probes in the Dynamic Probing Mode*. *IEEE/ASME Transactions on Mechatronics*, vol. 23, no. 3, pages 1425–1435, June 2018.
- [Xie 18b] M. Xie, A. Shakoor & C. Wu. *Manipulation of Biological Cells Using a Robot-Aided Optical Tweezers System*. *Micromachines*, vol. 9, no. 5, page 245, May 2018.
- [Xu 19] T. Xu, J. Zhang, M. Salehizadeh, O. Onaizah & E. Diller. *Millimeter-Scale Flexible Robots with Programmable Three-Dimensional Magnetization and Motions*. *Science Robotics*, vol. 4, no. 29, page eaav4494, April 2019.
- [Xu 20] M. Xu, H. Zhao, J. Chen, W. Liu, E. Li, Q. Wang & L. Zhang. *An Integrated Microfluidic Chip and Its Clinical Application for Circulating Tumor Cell Isolation and Single-Cell Analysis*. *Cytometry Part A*, vol. 97, no. 1, pages 46–53, January 2020.
- [Xu 22] T. Xu, C. Huang, Z. Lai & X. Wu. *Independent Control Strategy of Multiple Magnetic Flexible Millirobots for Position Control and Path Following*. *IEEE Transactions on Robotics*, vol. 38, no. 5, pages 2875–2887, October 2022.
- [Xu 23] T. Xu, Y. Li, X. Han, L. Kan, J. Ren, L. Sun, Z. Diao, Y. Ji, P. Zhu, J. Xu & B. Ma. *Versatile, Facile and Low-Cost Single-Cell Isolation, Culture and Sequencing by Optical Tweezer-Assisted Pool-Screening*. *Lab on a Chip*, vol. 23, no. 1, pages 125–135, 2023.

- [Xue 22] Y. Xue, J. Che, X. Ji, Y. Li, J. Xie & X. Chen. *Recent Advances in Biomaterial-Boosted Adoptive Cell Therapy*. Chemical Society Reviews, vol. 51, no. 5, pages 1766–1794, March 2022.
- [Yang 99] J. Yang, Y. Huang, X. Wang, X. B. Wang, F. F. Becker & P. R. Gascoyne. *Dielectric Properties of Human Leukocyte Subpopulations Determined by Electrorotation as a Cell Separation Criterion*. Biophysical Journal, vol. 76, no. 6, pages 3307–3314, June 1999.
- [Yang 20] Z. Yang & L. Zhang. *Magnetic Actuation Systems for Miniature Robots : A Review*. Advanced Intelligent Systems, vol. 2, no. 9, page 2000082, 2020.
- [Yu 13] L. Yu, S. R. Ng, Y. Xu, H. Dong, Y. J. Wang & C. M. Li. *Advances of Lab-on-a-Chip in Isolation, Detection and Post-Processing of Circulating Tumour Cells*. Lab on a Chip, vol. 13, no. 16, page 3163, 2013.
- [Zemánek 15] J. Zemánek, T. Michálek & Z. Hurák. *Feedback Control for Noise-Aided Parallel Micromanipulation of Several Particles Using Dielectrophoresis : General*. ELECTROPHORESIS, vol. 36, no. 13, pages 1451–1458, July 2015.
- [Zemánek 18] J. Zemánek, T. Michálek & Z. Hurák. *Phase-Shift Feedback Control for Dielectrophoretic Micromanipulation*. Lab on a Chip, vol. 18, no. 12, pages 1793–1801, 2018.
- [Zhang 19] S. Zhang, E. Y. Scott, J. Singh, Y. Chen, Y. Zhang, M. Elsayed, M. D. Chamberlain, N. Shakiba, K. Adams, S. Yu, C. M. Morshead, P. W. Zandstra & A. R. Wheeler. *The Optoelectronic Microrobot : A Versatile Toolbox for Micromanipulation*. Proceedings of the National Academy of Sciences, vol. 116, no. 30, pages 14823–14828, July 2019.
- [Zhao 22] X. Zhao, M. Sun, Q. Zhao, Y. Liu, Y. Zhang, B. Li & X. Zhao. *Aspirating Cell Into Orifice of Micropipette for Precise Cell Transportation Using Micropipette*. IEEE Transactions on Automation Science and Engineering, pages 1–11, 2022.

Titre : Conception et commande en boucle fermée de dispositifs de contrôle de trajectoires de cellules biologiques basés sur un actionnement par diélectrophorèse

Mots clefs: microrobotique, suivi de trajectoire, conception, commande, puce microfluidique, impédance, diélectrophorèse

Résumé : L'étude de cellules biologiques uniques est un besoin croissant en biologie. Cela nécessite des méthodes de déplacement et d'analyse de cellules individuelles.

Ce manuscrit propose d'exploiter la diélectrophorèse comme moyen d'actionnement, afin de contrôler la trajectoire de cellules et plus largement d'objets micrométriques dans des puces microfluidiques. Il propose des méthodes de modélisation et de commande permettant de contrôler la trajectoire en boucle fermée de micro-objets malgré la forte non-linéarité et la grande dynamique du comportement. Elle est basée sur une commande non-linéaire exploitant des informations visuelles planaires, et un observateur original permettant d'estimer la po-

sition de l'objet déplacé dans le plan orthogonal à l'image. Les validations expérimentales ont démontré la capacité à suivre des trajectoires arbitraires en deux dimensions à des micro-objets (rayon $5\ \mu\text{m}$) de densités différentes : des microbilles en verre et des lymphocytes T, avec une erreur maximale inférieure à la moitié de leur rayon. Les méthodes proposées ont ainsi permis d'obtenir le premier suivi de trajectoires en boucle fermée de cellules uniques.

Une approche originale basée sur la mesure d'impédance est également proposée pour s'affranchir du retour par caméra et réaliser un contrôle en boucle fermée utilisant les champs électriques à la fois pour l'actionnement et la mesure.

Title : Design and closed-loop control of devices for biological cell trajectory control based on dielectrophoretic actuation

Keywords : microrobotics, trajectory following, design, control, microfluidic chip, impedance, dielectrophoresis

Abstract :

The study of individual biological cells is a growing need in biology. This requires methods for the manipulation and analysis of individual cells.

This manuscript proposes to use dielectrophoresis as a means of actuation to control the trajectory of cells and, more generally, micrometric objects within microfluidic chips. It presents modeling and control methods for closed-loop trajectory control of micro-object despite the strong non-linearity and the high dynamic of the behavior.

It is based on a nonlinear control approach using planar visual information and an original observer to compute the position of

the moved object in the plane perpendicular to the image. Experimental validations have demonstrated the ability to make micro-objects ($5\ \mu\text{m}$ radius) with different densities, including glass microbeads and T lymphocytes, follow arbitrary two-dimensional trajectories with a maximum error less than half of their radius. The proposed methods have thus enabled the first closed-loop tracking of individual cells.

An original approach based on impedance measurement is also proposed to remove the need for visual feedback and achieve closed-loop control using electric fields for both actuation and measurement.