

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

BENOIT BRAZEY

Estimation de position par des techniques d'impédancemétrie :
applications aux puces microfluidiques.

Thèse soutenue le 6 juin 2019

Composition du Jury :

FERREIRA ANTOINE	Professeur des Universités, INSA Centre Val de Loire	Rapporteur
PRELLE CHRISTINE	Professeur des Universités, Université de Technologie de Compiègne	Rapporteur
BIDEAUX ERIC	Professeur des Universités, INSA Lyon (Président du jury)	Examineur
CHOLLET FRANCK	Professeur des Universités, Université Bourgogne Franche-Comté	Examineur
BOLOPION AUDE	Chargé de recherche CNRS, Institut FEMTO-ST	Encadrant
GAUTHIER MICHAEL	Directeur de recherche CNRS, Institut FEMTO-ST	Directeur de thèse

SPIM

école doctorale sciences pour l'ingénieur et microtechniques

Sommaire

Introduction générale	1
1 Le tri cellulaire	5
1.1 Les techniques usuelles de tri cellulaire	5
1.2 Les laboratoires sur puce	6
1.2.1 Présentation générale	6
1.2.2 Fabrication	7
1.2.2.1 Fabrication et fermeture des canaux fluidiques	8
1.2.2.2 Fabrication d'actionneurs et de capteurs à l'aide de dépôts de couches métalliques.	9
1.2.2.3 Connexion des puces au monde extérieur	10
1.3 Actionnement et perception dans les LOCs	11
1.3.1 Actionnement	11
1.3.1.1 La microfluidique	11
1.3.1.2 Les pinces optiques	13
1.3.1.3 Actionnement magnétique	13
1.3.1.4 La force d'acoustophorèse	16
1.3.1.5 La force de diélectrophorèse	17
1.3.1.6 Comparatif des différentes méthodes d'actionnement	19
1.3.2 Détection	20
1.4 Conclusion	20
2 Impédancemétrie : état de l'art sur l'observation de position	23
2.1 Généralités sur la mesure d'impédance	23
2.2 La spectroscopie d'impédance électrique	24
2.2.1 Représentation classique d'une cellule en spectroscopie d'impédance	25
2.2.2 Cadre applicatif	27
2.2.3 Mesure de position et de vitesse dans les LOCs par impédancemétrie	28

2.2.4	Sensibilité de la mesure d'impédance à la position d'une cellule	29
2.2.5	Conclusion	30
2.3	La tomographie d'impédance électrique	30
2.3.1	Principe et formulation du problème direct	30
2.3.2	Résolution	32
2.3.3	Conclusion	33
2.4	L'observation d'état	34
2.4.1	Principe	34
2.4.2	Cadre applicatif	35
2.4.3	Les filtres de Kalman	36
2.4.4	Principe d'utilisation et réglages du EKF	38
2.5	Conclusion	40
3	Conception et fabrication pour la mesure d'impédance	43
3.1	Etude fonctionnelle de la plateforme de détection de position par impédancemétrie	43
3.2	Environnement de test	44
3.3	Conception de l'actionnement	45
3.3.1	L'actionnement longue distance	46
3.3.2	L'actionnement précis et répétable par diélectrophorèse	47
3.3.2.1	Design d'électrodes pour le cas 1D	47
3.3.2.2	Design d'électrodes pour le cas 2D	49
3.3.3	Actionnement en milieu ouvert pour le banc d'essai	52
3.4	Conception de la partie détection de position	53
3.4.1	Electrodes intégrées à la puce fluide pour la mesure d'impédance	54
3.4.2	Mesure de référence pour l'étalonnage	58
3.5	Fabrication des puces fluidiques et connexions	58
3.5.1	Fabrication des puces fluidiques	58
3.5.1.1	Matériaux	58
3.5.1.2	Procédés de fabrication des puces fluidiques	59
3.5.2	Alimentation, contrôle et connexion des puces	64
3.5.2.1	Alimentation pour l'actionnement	64
3.5.2.2	Instrumentation pour la mesure par impédancemétrie	66
3.5.2.3	La vision	67
3.5.2.4	Le <i>World-to-Chip</i> : connexions électriques et fluidiques	69
3.6	Acquisition temps-réel des signaux	70

3.6.1	Routage des signaux	70
3.6.2	Acquisition	72
3.7	Présentation de la plateforme finale	73
3.8	Conclusion	74
4	Modèle de la variation d'impédance	75
4.1	Définition de l'impédance du système	75
4.1.1	Hypothèses	75
4.1.2	Influence relative des paramètres sur l'impédance	77
4.1.3	Formulation générale de l'impédance du système	78
4.1.4	Formulation du modèle direct	79
4.2	Identification du modèle direct de position pour un cas 1D	80
4.2.1	Extraction des signaux	81
4.2.2	Analyse du bruit de mesure	83
4.2.3	Analyse de la dérive	83
4.2.4	Modèle direct	84
4.3	Identification du modèle direct de position pour un cas 2D	85
4.3.1	Analyse du bruit de mesure	87
4.3.2	Analyse de la dérive	88
4.3.3	Etalonnage du capteur	88
4.3.3.1	Le problème de l'isolation des voies	88
4.3.3.2	Protocole	89
4.3.3.3	Modèle direct de simulation	91
4.4	Conclusion	95
5	Estimation de position par impédancemétrie	97
5.1	Utilité d'un observateur de Kalman pour l'estimation de position	97
5.2	Equations et modèles	98
5.2.1	Définition du problème d'estimation d'état	98
5.2.2	Modèle d'état	100
5.2.2.1	Forme complète	100
5.2.2.2	Forme réduite	101
5.2.3	Modèle d'observation	102
5.2.3.1	Forme complète	102
5.2.3.2	Forme réduite	103
5.3	Estimation de position en temps-réel : cas 1D	103

5.3.1	Mise en place du suivi des billes	103
5.3.2	Mise en œuvre expérimentale de l'estimation de position d'une bille	106
5.4	Simulations d'estimation de position en temps-réel : cas 2D	108
5.4.1	Présentation du cas d'étude	108
5.4.2	Simulation de référence : cas idéal du milieu à conductivité constante et période d'échantillonnage des mesures nulle	111
5.4.3	Influence des erreurs de modèle	115
5.4.4	Etude de l'impact de la dérive thermique	116
5.4.5	Prise en compte des contraintes technologiques de séquentialité	118
5.5	Conclusion	123
Conclusion générale et perspectives		123
A Procédés de fabrication complets des puces		149
A.1	Fabrication des électrodes : lift-off	149
A.2	Fabrication des canaux : photolithographie simple	152
B Plans de la carte de routage HF2MUX		153
C Influence de l'actionnement		161
C.1	Ordres de grandeur	161
C.2	Application au dispositif 2D	163

Introduction générale

Cette thèse présente une méthode de détection de position d'un objet sphérique dans un canal microfluidique basée sur des mesures de variation d'impédance. Elle s'inscrit dans un cadre applicatif général qui est celui du tri de cellules biologiques dans des puces microfluidiques.

Les cellules biologiques peuvent être considérées comme les éléments constitutifs élémentaires des êtres vivants. Leur étude est donc essentielle à l'analyse, la compréhension et le traitement de nombreuses maladies (VIH, tuberculose, paludisme, hépatite, cancers, etc.). Les cellules constituent des tissus ou circulent à l'intérieur du corps, on parle alors de cellules circulantes (lymphocytes, hématies, etc.). De nombreux dispositifs et méthodes ont été développées pour assurer la caractérisation, la quantification ou le tri de cellules circulantes. Les analyses cellulaires, en particulier sanguines, sont particulièrement démocratisées et interviennent dans de nombreux processus thérapeutiques. Les cellules, et en particulier les lymphocytes responsables de la réponse immunitaire, peuvent également être considérées comme des agents thérapeutiques, on parle alors d'immunothérapie basée sur des « cellules médicaments ». Les principes de l'immunothérapie ont été identifiés au cours du XX^{ème} siècle en particulier par Coley et Old, considérés comme les pères historiques de cette thérapie^{1,2}. La mise en application de ces principes dans le cadre de thérapies maîtrisées a connu un essor au début du XXI^{ème} siècle³ et a conduit à de très bons résultats. L'immunothérapie soulève ainsi beaucoup d'espoirs et s'affiche désormais comme la thérapie du futur. Les coûts typiques de ces traitements sont toutefois très élevés et dépassent généralement 100 000 euros par patient³. Les méthodes de fabrication de ces médicaments doivent ainsi être repensées afin de les rendre accessibles au plus grand nombre. Un des enjeux tient au fait que les méthodes de tri développées historiquement ne s'avèrent parfois pas suffisamment performantes pour l'immunothérapie. Certains traitements d'immunothérapie nécessitent, en effet, l'identification de lymphocytes spécifiques dans un échantillon dont la concentration (typiquement 1/10000) est inférieure au seuil de détection actuel. FEMTO-ST développe actuellement de nouvelles méthodes de tri ultra-sélectif basées sur le contrôle en boucle-fermée dans des puces microfluidiques permettant de trier un échantillon, cellule par cellule, à une cadence élevée.

La thèse présentée ici s'intègre dans ce programme de recherche et vise au développement de la partie sensorielle, en partenariat avec l'équipe du Professeur P. Renaud de l'EPFL. La méthode proposée pour la mesure de position dans les puces est basée sur le principe physique de la mesure d'impédance. Le principe général de cette méthode consiste à exploiter la variation de l'impédance entre deux électrodes induite par la présence d'une cellule afin d'en déterminer la position. Il s'agit là d'une alternative originale à la rétroaction par vision classiquement utilisée. En effet, comme illustré sur la vue conceptuelle Figure 1, les capteurs classiques basés sur la vision ont un champ de vision limité. Avec un fort grossissement, le champ de vision est réduit comparativement à la taille de l'objectif optique. En raison de l'énorme ratio entre le champ de vision et la taille de l'objectif, seules quelques parties de la surface de la puce sont visibles simultanément avec des caméras. Les mesures d'impédance sont quant à elles effectuées à l'aide d'électrodes qui peuvent être facilement intégrées à des dispositifs microfluidiques en vue d'une détection pa-

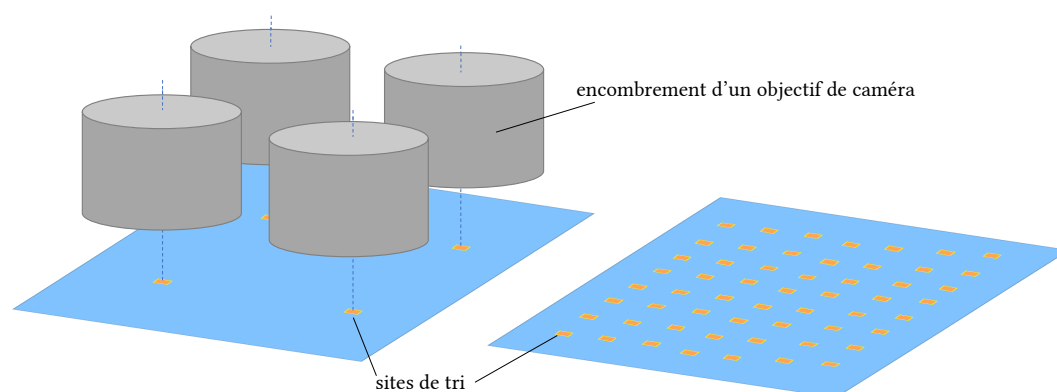


FIGURE 1 Vue conceptuelle de trieurs de cellules pour l'analyse de cellules individuelles. A gauche, un trieur conventionnel exploitant la vision pour la perception. A droite, un trieur hautement multiplexé exploitant la perception par impédancemétrie.

rallérisée, à haute cadence, et ce dans des dizaines de bioréacteurs sur une surface plus restreinte. Plusieurs points doivent être abordés afin de valider cette approche. Notamment, les électrodes doivent être conçues de manière à assurer la sensibilité du capteur par rapport à la position d'une cellule. Également, contrairement à la plupart des applications basées sur la mesure d'impédance, le traitement du signal doit être effectué en ligne et en conséquence ne doit donc pas entraîner de retards, malgré le fort bruit de mesure et la dérive inhérente à ce type de dispositif. Enfin, une plateforme doit être développée afin d'assurer la mise en œuvre expérimentale.

La description de la manière dont ces différents challenges sont adressée est donnée à travers les cinq chapitres de développement du présent manuscrit.

Le Chapitre 1 comprend un état de l'art général sur les trieurs conventionnels. Plus spécifiquement, les techniques usuelles de tri et caractérisation cellulaire macroscopique y sont présentées. Dans un second temps, un descriptif des laboratoires sur puce est donné. Ceci a pour fin d'une part de positionner les présents travaux vis-à-vis de l'état de l'art, mais également d'introduire les techniques et technologies usuelles de ce domaine très spécifique que représentent les laboratoires sur puce.

Le Chapitre 2 est également un chapitre d'état de l'art. Différents domaines connexes à la problématique de l'estimation de position dans des puces fluidiques par impédancemétrie y sont décrits, en vue de se munir d'outils méthodologiques et techniques à partir de travaux antérieurs. Ainsi, des résultats importants en spectroscopie d'impédance électrique, en tomographie d'impédance électrique, et enfin en estimation d'état sont présentés. La combinaison de divers éléments de ces domaines apporte notamment de la connaissance technique pour la fabrication et l'utilisation des puces, et pour l'estimation de position à l'aide de mesures d'impédance dans un environnement bruité par une utilisation judicieuse des outils mathématiques et physiques à disposition.

Le Chapitre 3 porte sur la réalisation physique et l'implémentation informatique de la plateforme instrumentale dédiée à l'utilisation des puces microfluidiques développées. Des designs de puces

sont proposés et associés à un procédé de fabrication. Celles-ci s'intègrent dans le reste de la plateforme et sont associées à un ensemble complet d'outils pour l'actionnement et la mesure permettant l'étalonnage de capteurs et la validation expérimentale de la méthode.

Dans le Chapitre 4, un modèle de la réponse des capteurs, c'est à dire la variation de l'impédance en fonction de la position, est défini. La formulation analytique de ce modèle tient compte de la position de l'objet mais également d'autres sources de variation inhérentes à ce type de dispositif. Ce chapitre comprend également une partie expérimentale destinée à l'étalonnage de capteurs à l'aide de la plateforme développée.

Le Chapitre 5 clos ces travaux à travers la mise en oeuvre de l'estimation de position. En premier lieu, une méthode permettant d'estimer la position dans les puces en temps-réel est proposée. Cette méthode tient compte de diverses contraintes techniques, technologiques et physiques liées au dispositif utilisé tel que le bruit de mesure par exemple. La méthode est ensuite éprouvée expérimentalement. Enfin, des simulations donnent un aperçu de procédés d'estimation pour des capteurs plus avancés.

Une conclusion générale vient enfin donner un récapitulatif des travaux effectués et ouvre sur un panel de perspectives diverses.

Chapitre 1

Le tri cellulaire

Cette thèse s'inscrit dans le contexte général de la détection de position dans les puces de tri cellulaire pour améliorer les techniques d'immunothérapie. A travers ce tout premier chapitre de développement, l'objectif est de fournir un état de l'art du tri cellulaire. Les principales méthodes et technologies de tri y sont évoquées, ainsi que leurs avantages et limitations. Un accent particulier est mis sur une technologie émergente, les dispositifs miniaturisés. Cet état de l'art met en avant la nécessité de détecter les cellules au sein d'une puce fluide, et les limitations des solutions existantes. Une étude des différents phénomènes physiques utilisés pour l'actionnement et/ou la détection dans les puces fluidiques met en avant l'intérêt des champs électriques. Cette approche sera développée dans le chapitre suivant.

1.1/ Les techniques usuelles de tri cellulaire

Actuellement, il existe plusieurs méthodes de tri des cellules. Les plus couramment utilisées sont le tri cellulaire activé par fluorescence, le tri magnétique, la centrifugation et le tri activé par flottabilité.

La centrifugation est l'une des techniques les plus utilisées. Il s'agit d'un procédé de séparation des composés d'un mélange en fonction de leur différence de densité et de leur taille en les soumettant à une force centrifuge. Les applications de centrifugation sont nombreuses et peuvent comprendre la sédimentation de cellules et de virus⁴, la séparation d'organelles sub-cellulaires et l'isolation de macromolécules comme l'ADN, l'ARN, les protéines et les lipides⁵. Cette méthode est relativement peu coûteuse et rapide. Toutefois sa sélectivité est faible, et elle ne permet pas d'isoler des populations rares. En conséquence, elle est principalement utilisée pour le tri de vastes populations, comme par exemple lors d'un don de plaquettes.

Le tri cellulaire activé par fluorescence, ou Fluorescent Activated Cell Sorting (FACS), utilise la cytométrie en flux pour fournir une mesure rapide et quantitative des propriétés cellulaires (voir Figure 1.1). Il s'agit de l'une des techniques les plus courantes pour caractériser qualitativement et quantitativement une population cellulaire et / ou pour la trier. La cytométrie en flux est une technique permettant de faire défiler des particules, molécules ou cellules à grande vitesse dans le faisceau d'un laser, en les comptant et en les caractérisant. C'est la lumière réémise (par diffusion ou fluorescence) qui permet de classer la population suivant plusieurs critères et de les trier. Cependant, elle souffre de plusieurs inconvénients parmi lesquels son coût, ses dimensions importantes et le manque de sensibilité pour trier les événements rares en dessous de 0,1% de fréquence. A titre d'exemple sur la technique de cytométrie de flux, le trieur cellulaire Genotoul⁶ permet d'isoler et de récupérer une ou plusieurs population(s) cellulaire(s) selon des critères de taille, de granu-

losité (contenu cellulaire) et/ou de fluorescence (récepteur, transformation génétique, phase cellulaire...). Le tri cellulaire peut aller de l'enrichissement d'une population jusqu'à la sélection d'un type cellulaire donné. Les cellules prélevées peuvent ainsi être analysées de façon biochimique ou remises en culture.

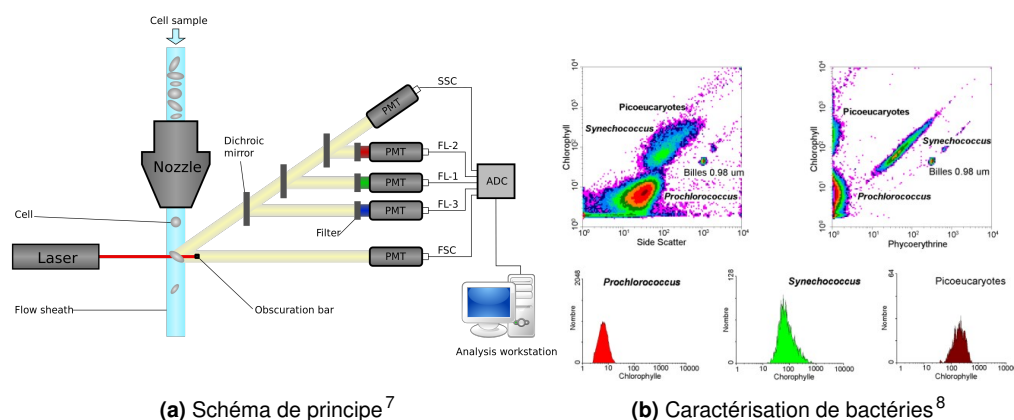


FIGURE 1.1 Présentation d'un trieur FACS. **(a)** Schéma de principe : la lumière réémise (par diffusion ou fluorescence) permet de classer la population suivant plusieurs critères et de les trier. **(b)** Exemple d'une caractérisation de bactéries en océanographie à l'aide d'un trieur FACS.

Le tri magnétique de cellules permet d'enrichir un mélange hétérogène de cellules sur la base de propriétés extracellulaires, typiquement des protéines de surface cellulaire (antigènes). En effet, les particules magnétiques (paramagnétiques le plus souvent) sont attachées à des anticorps sensibles à la population de cellules cibles. Lors du mélange des particules magnétiques, ces dernières se fixent sur les cellules, ce qui leur confère des propriétés magnétiques. Il existe plusieurs types de tris magnétiques de cellules. Le tri cellulaire à activation magnétique (MACS) est une technique de séparation où les cellules sont passées à travers une colonne magnétique⁹. La sélection positive/négative est une technique de séparation cellulaire sans colonne dans laquelle un tube de cellules marquées est placé à l'intérieur d'un champ magnétique¹⁰. Les cellules sélectionnées positivement sont retenues dans le tube tandis que les cellules sélectionnées négativement restent dans la suspension liquide. Comme le tri par cytométrie en flux, le tri magnétique est spécifique car il repose sur l'utilisation d'anticorps pour sélectionner la population cible. Par contre, à la différence du tri par FACS, la sélection d'une population de cellules viables par tri cellulaire magnétique est très rapide. Les cellules triées sont également vivantes et fonctionnelles. Un article récent confronte les trieurs par fluorescence et magnétiques¹¹.

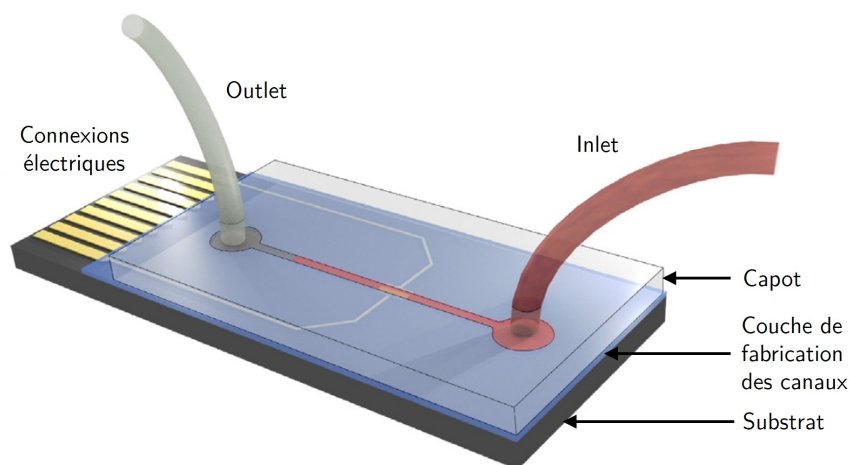
Enfin, plus récemment la start-up Akadeum Life Sciences commercialise en 2014 le tri cellulaire activé par flottabilité (BACS)^{12,13}. Il s'agit d'une technique de séparation dans laquelle des microbulles se lient aux cellules par l'intermédiaire d'anticorps se liant à la surface des cellules. Les cellules ciblées sont ensuite retirées d'un échantillon biologique par flottation.

1.2/ Les laboratoires sur puce

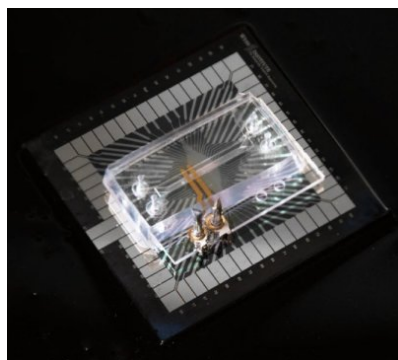
1.2.1/ Présentation générale

Au cours des dernières années, des dispositifs de caractérisation cellulaire miniaturisés, communément qualifiés de *Laboratoires sur puce* (Lab-on-a-chip, LOC), ont commencé à émerger. Ces dispositifs sont issus de la microfabrication. Ils possèdent le plus souvent des connexions

électriques qui permettent d'envoyer des signaux d'excitation et/ou de mesure, ainsi que des connexions fluidiques pour l'acheminement de fluides. L'objectif est de faire de petits appareils portables dans lesquels un échantillon de cellules peut être chargé, et toutes les informations demandées extraites. Les cellules et particules en suspension sont déplacées par un contrôle du débit ou de la pression entre l'entrée et la sortie du canal microfluidique d'un LOC, en passant par un ou plusieurs étages d'analyse et/ou de tri. Une illustration est donnée Figure 1.2 et représente un exemple typique de dispositif microfluidique. Ces dispositifs exploitent des phénomènes physiques et techniques divers pour le tri et la caractérisation, et nécessitent des méthodes particulières de fabrication, qui seront décrites dans les sections qui suivent.



(a) Illustration d'un LOC.
IBM Research GmbH¹⁴



(b) Un LOC possédant un grand nombre d'électrodes.
Harvard Institute of Technology¹⁵



(c) Un LOC possédant différents canaux fluidiques.
Cherry Biotech¹⁶

FIGURE 1.2 Exemples de laboratoires sur puce (Lab-on-a-chip, LOC) : différentes couches superposées permettent de faire transiter du fluide et des échantillons dans un canal afin de les caractériser.

1.2.2/ Fabrication

La fabrication de ces dispositifs microfluidiques est souvent basée sur des technologies de microfabrication en salle blanche. Ils sont ensuite reliés à différents appareils d'actionnement et de mesure par l'intermédiaire de connexions fluidiques et électriques. Malgré la diversité de ces LOCs certaines étapes de fabrication se retrouvent dans la majorité des dispositifs. Le dépôt de couches minces structurées et de métaux permet la réalisation de capteurs et d'actionneurs, et des couches

épaisses de polymères sont utilisées pour réaliser des canaux fluidiques. Une étape de capotage permet d'assurer l'étanchéité du dispositif.

Plusieurs articles sont disponibles pour une description détaillée de ces méthodes^{14,17–20}.

1.2.2.1/ Fabrication et fermeture des canaux fluidiques

Les LOCs exploitent des canaux issus de la microfabrication afin de faire transiter les échantillons à caractériser. Les dimensions de ces canaux dépendent de la taille des échantillons qui y sont introduits, mais sont généralement de quelques dizaines de micromètres de largeur et de hauteur, et quelques centimètres de longueur. Les matériaux utilisés sont le plus souvent biocompatibles, chimiquement modifiables, faciles à fabriquer et peu onéreux. Ils sont également généralement transparents, ce qui permet une observation au microscope. On peut notamment citer le borosilicate, le verre, le silicium, et les polymères de poly-diméthylsiloxane (PDMS), le poly-méthyl-méthacrylate (PMMA), la résine photosensible SU-8 et le polyimide.

Canaux déposés La première méthode pour obtenir un canal consiste à réaliser des murs en résine à l'aide de méthodes de photolithographie. Des méthodes alternatives mentionnent l'utilisation de moules, ou encore de lasers. Le choix du matériau et de la méthode de fabrication des canaux va avant tout dépendre du type de fermeture envisagé et des matériaux qui doivent être déposés sur le substrat. Eux-mêmes dépendent du type d'application prévu pour la puce.

Les résines négatives telles que la SU-8 sont couramment utilisées pour la fabrication des canaux¹⁷. Contrairement à la plupart des résines positives, il est possible d'obtenir facilement des canaux de l'ordre de la centaine de micromètres d'épaisseur. Le procédé est de plus très simple, et il s'agit d'un matériau bio-compatible. Toutefois, certaines alternatives sont parfois préférées à l'utilisation de cette résine, notamment en raison du fait qu'une fois recuite, il est difficile d'obtenir une adhésion suffisante entre celle-ci et le capot permettant une fermeture hermétique de la puce.

Afin de contourner ce problème, de nombreux matériaux polymères peuvent être utilisés tels que le PDMS. Le PDMS est devenu de loin le matériau le plus populaire dans la communauté microfluidique académique car il est peu coûteux, facile à fabriquer par la réplique des moules en utilisant le prototypage rapide ou d'autres techniques, flexible, transparent, biocompatible et sa fabrication ne nécessite pas des conditions de salle blanche.

Canaux gravés Une deuxième méthode d'obtention de canaux consiste à les graver dans un substrat. Le micro-usinage de Si et de verre est attrayante pour certaines applications qui peuvent nécessiter des structures microfluidiques à la fois robustes, chimiquement stables et qui peuvent potentiellement intégrer des électrodes interdigitées et/ou des éléments de détection actifs. Les puces de silicium sont non transparentes, de sorte que l'observation n'est possible qu'à travers le capot. Toutefois, ces substrats sont compatibles avec des circuits électroniques. La technique la plus courante pour ce type de fabrication est la gravure de substrats par des méthodes de gravure profonde comme la DRIE²¹ (Deep Reactive Ion Etching). Cette technologie permet de graver des structures de rapport d'aspect élevé très profondes. De nombreuses puces microfluidiques ayant des structures extrêmement précises et dont la profondeur peut atteindre plusieurs centaines de micromètres peuvent être fabriquées sur une tranche complète (avec des vitesses de gravure allant généralement de 5 à 10 $\mu\text{m}.\text{min}^{-1}$). Des procédés plus récents permettent également d'exploiter un usinage par laser de substrats de verre.

Fermeture La plupart des LOCs sont fermés hermétiquement à l'aide de capots. Différentes méthodes de fermeture en fonction de divers critères tels que leur complexité et la qualité du résultat sont possibles¹⁸. On peut notamment citer les méthodes suivantes :

- Utilisation de PDMS¹⁴

Diverses techniques ont été adaptées pour fabriquer des structures microfluidiques en PDMS, y compris la gravure humide et sèche, la photolithographie d'un PDMS photosensible, l'ablation laser et la « lithographie douce ». Cependant, le PDMS présente quelques inconvénients tels que l'adsorption des molécules hydrophobes, sa stabilité à court-terme après un traitement de surface, il a tendance à gonfler en présence de solvants organiques...

- Utilisation de thermoplastiques

Les thermoplastiques possèdent une grande variété de propriétés attrayantes pour les applications de LOC, notamment leur élasticité, leur résistance mécanique, leur transparence optique, leur stabilité chimique, et/ou leur biocompatibilité. Des structures aux motifs de taille sub-micrométrique peuvent être obtenus, et la fermeture peut être effectuée notamment à l'aide de 4 méthodes : par fusion thermique, à l'aide de solvants^{22,23}, à l'aide d'ultrasons, ou encore par adhésion²⁴⁻²⁶.

- Fusion directe de substrats en verre ou silicium

La fusion Si-Si permet d'obtenir des forces d'adhésion entre les substrats extrêmement élevées. Toutefois, l'utilisation du verre (collage anodique Si-verre²⁷ ou collage par fusion verre-verre²⁸) est souvent préférée en raison du coût moins élevé du verre et de sa transparence optique.

Les méthodes de fabrication des canaux, et des capots associés sont donc très diverses et dépendent des fonctionnalités attendues du laboratoire sur puce.

1.2.2.2/ Fabrication d'actionneurs et de capteurs à l'aide de dépôts de couches métalliques.

Comme cela sera décrit dans les sections suivantes, les laboratoires sur puce incluent généralement des capteurs et/ou des actionneurs, qui peuvent notamment être fabriqués à l'aide de techniques de dépôts métalliques en couche mince. C'est le cas par exemple lors de la réalisation d'électrodes pour la génération de champs électriques ou la mesure d'impédance.

Deux grandes techniques sont utilisables pour réaliser ces dépôts, la gravure humide et le lift-off comme montré Figure 1.3. Elles sont basées sur des étapes de dépôts de couches minces, et de photolithographie. La photolithographie consiste à insoler sélectivement des résines photosensibles à travers un masque, de manière à créer des motifs sur les substrats.

Le procédé de lift-off est présenté Figure 1.3 (sous-figure (a)). Une résine photosensible est appliquée sur le substrat. Celui-ci est ensuite aligné sur un masque ne laissant traverser la lumière que de manière sélective. Une exposition aux UV suivie par un développement permet d'obtenir des motifs correspondants aux électrodes. La résine est ici positive : les régions exposées aux UV sont retirées du substrat. Le processus suivant consiste à déposer une fine couche métallique (par exemple l'or, le platine et le chrome) sur l'ensemble du substrat en utilisant la technique de pulvérisation cathodique ou l'évaporation. Dans le cas où le dépôt se fait par évaporation, le substrat est placé dans une chambre à vide dans laquelle un morceau de matériau métallique est chauffé, évaporé et déposé sur la partie supérieure du substrat. Dans la pulvérisation cathodique, des atomes ou groupements sont éjectés à partir d'un matériau cible, puis dirigés vers le substrat. Après que le métal ait été déposé, le substrat est immergé dans un solvant (par exemple l'acétone), ce qui a pour effet de dissoudre la couche de résine photosensible et donc de retirer

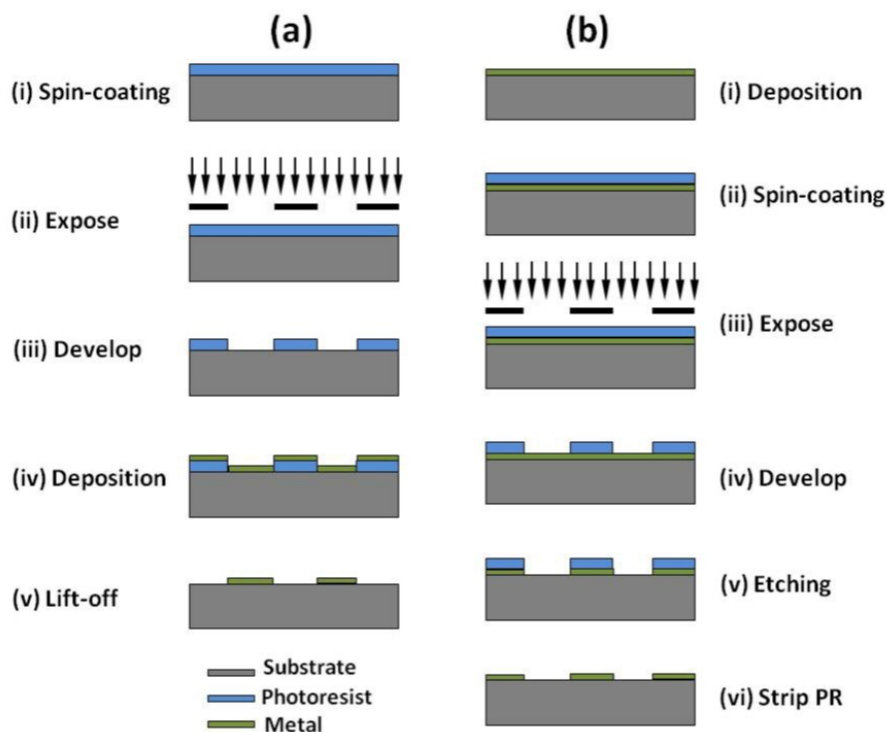


FIGURE 1.3 Deux procédés de fabrication d'électrodes coplanaires : **(a)** le lift-off et **(b)** la gravure¹⁷.

la couche métallique qui est déposée sur sa partie supérieure. Ce procédé de lift-off permet donc d'obtenir des motifs métalliques identiques à ceux du masque.

Le procédé de gravure humide est présenté Figure 1.3 (sous-figure (b)). Ce procédé est relativement similaire à celui du lift-off, à ceci près que la couche métallique est déposée avant la couche de résine photosensible. Celle-ci n'est donc plus sacrificielle mais sert de protection aux motifs métalliques. S'en suit l'étape de gravure afin d'éliminer sélectivement le métal non protégé du substrat, puis la résine résiduelle. Dans ce procédé, le temps de gravure doit être défini avec précision afin de limiter la sous-gravure, c'est-à-dire la gravure du métal en dessous de la résine par attaque isotrope du produit de gravure.

Ces deux méthodes de réalisation d'électrodes sont majoritairement utilisées pour la fabrication d'actionneurs dans les puces fluidiques. Le lift-off sera toutefois préféré lorsque la résolution des motifs est un critère essentiel, car il n'induit pas de sous-gravure.

1.2.2.3/ Connexion des puces au monde extérieur

Une fois les puces fabriquées, il est nécessaire de les connecter fluidiquement et électriquement aux appareils extérieurs. Ces interfaces sont communément appelées « fluidic interconnect », « world-to-chip » ou « macro-to-micro ». Idéalement¹⁴, une connexion fluidique doit avoir un volume mort minimal, éviter la contamination croisée des échantillons, être facile à brancher, être amovible et réutilisable, être fiable à des pressions élevées, avoir un volume suffisamment faible pour permettre des connexions à haute densité, est faite en utilisant des techniques peu coûteuses et simples, être chimiquement inerte et être compatible avec les tuyaux et les raccords commerciaux. Les connexions électriques doivent quant à elles assurer un bon contact électrique avec la puce.

La connexion des puces au monde extérieur nécessite donc un réel travail de conception au préalable afin de faciliter les expérimentations et limiter les pertes inutiles d'échantillons.

1.3/ Actionnement et perception dans les LOCs

1.3.1/ Actionnement

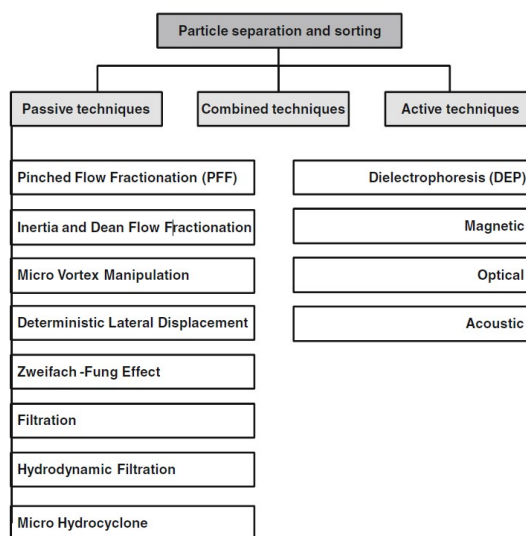


FIGURE 1.4 Principales techniques d'actionnement dans les LOCS¹⁹.

Différentes techniques permettent de déplacer les échantillons et de les trier dans les LOCs. La Figure 1.4 répertorie les principales méthodes utilisées. Dans la suite de cette partie, nous reviendrons brièvement sur les méthodes passives, puis sur chaque méthode active, domaine d'intérêt de cette thèse.

1.3.1.1/ La microfluidique

L'utilisation d'un fluide dans les LOCs sert au transport des échantillons vers une zone de tri, mais celui-ci peut également être utilisé pour le tri en lui-même. En effet, les caractéristiques des phénomènes d'écoulement à l'échelle microscopique et notamment le profil de vitesse au sein d'un canal, sont exploitables pour séparer des microparticules de manière continue. Ces techniques passives présentent l'avantage par rapport aux techniques actives qu'aucun champ externe n'est requis pour le processus de tri. Cependant, l'efficacité du tri des particules et le débit sont généralement moins élevés que pour des techniques actives.

Huit principales méthodes de tri microfluidique sont utilisables, chacune ayant ses spécificités et performances. Le tri étant dans ces cas exclusivement effectué à l'aide du fluide, les paramètres physiques servant de critère discriminant sont donc exclusivement mécaniques et géométriques : taille²⁹, poids³⁰, raideur³¹ et densité³² des particules. On peut notamment citer le fractionnement en flux pincé (Pinched Flow Fractionation, PFF), qui exploite deux fluides différents, associés à des effets inertiels pour le tri par taille et densité³², ou encore la manipulation par micro vortex

(Micro-Vortices Manipulation, MVM), permettant une séparation par poids³⁰. A titre illustratif, le déplacement latéral déterministe (Deterministic Lateral Displacement, DLD), dont un schéma est présenté Figure 1.5 permet un tri par taille d'échantillons sphériques. Le DLD est une technologie qui utilise la disposition spécifique de poteaux dans un canal pour contrôler avec précision la trajectoire et faciliter la séparation des particules plus grandes et plus petites qu'un diamètre critique, avec une résolution pouvant descendre jusqu'à 10 nm³³. Des variantes récentes du DLD appliquent ce principe pour le cas de particules non sphériques³⁴.

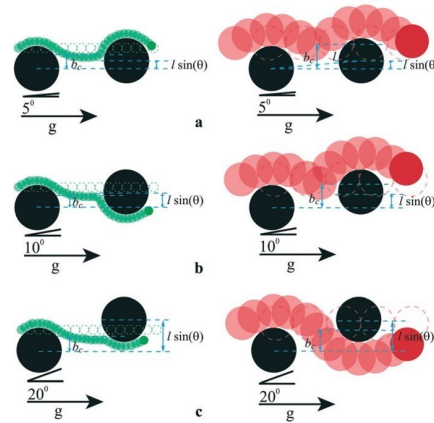


FIGURE 1.5 Illustration du tri de cellules par taille par DLD³⁵.

Le tri d'objets de taille micrométrique dans un flux continu est nécessaire pour une grande variété d'applications, dont les synthèses chimiques, le traitement des minéraux et les analyses biologiques. A titre d'exemple, Hur³⁷ propose un dispositif exploitant les effets dynamiques du fluide dans un laboratoire sur puce afin de séparer des cellules par taille et déformabilité. Ce système exploite le fait que les cellules cancéreuses sont plus larges et possèdent une plus grande déformabilité que les cellules saines pour proposer un outil de diagnostic intéressant pour l'oncologie. Holmes³⁶ exploite le DLD afin de filtrer des parasites contenus dans le sang grâce à leur différence de taille et de forme par rapport aux cellules sanguines. Une photographie d'un prototype est proposée Figure 1.6. Le rayon effectif, c'est à dire le rayon « équivalent » au cas d'une cellule sphérique, des cellules du sang étant plus faible que celui des parasites. Régulièrement, les cellules sanguines (à gauche sur l'image), une fois en collision avec un plot, contournent celui-ci par sa partie gauche en raison de leur faible rayon. En revanche, les parasites (à droite) contournent systématiquement les plots par leur partie droite. Les parasites peuvent ainsi être isolés, aboutissant à une purification de l'échantillon initial.

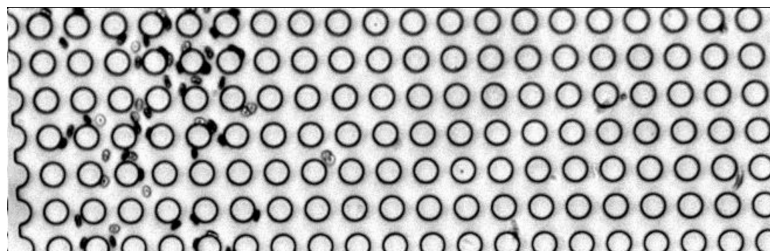


FIGURE 1.6 Séparation de parasites contenus dans du sang humain à l'aide du DLD³⁶. Les cellules sanguines (à gauche) ont un rayon effectif plus faible que les parasites (à droite), ce qui permet la purification du sang.

En conclusion, la microfluidique est donc un domaine bien maîtrisé des laboratoires sur puces, permettant un tri statistique à haut débit et selon plusieurs paramètres d'objets.

1.3.1.2/ Les pinces optiques

Principe

Le principe de la pince optique est de piéger une particule de petite dimension (molécule, cellule...) à l'aide d'un faisceau laser. On peut montrer sous certaines conditions qu'une particule a tendance à se déplacer vers la zone de plus forte intensité lumineuse. Les particules ont donc tendance à se déplacer au centre du faisceau laser. Un déplacement précis d'une particule est alors permis par simple déplacement du faisceau laser de piégeage, comme illustré Figure 1.7. Les forces exercées sont généralement de l'ordre du piconewton.

Applications

La fonctionnalité première des pinces optiques est la manipulation³⁸ d'objets aux dimensions micrométriques. Elles sont notamment utilisées afin de les déplacer et/ou de les isoler. Ces opérations peuvent être effectuées sur des cellules telles que des bactéries, des virus, des spermatozoïdes³⁹, ou à une échelle plus petite, sur des brins d'ADN par exemple^{40,41}. A titre d'exemple, ces pinces ont été utilisées afin d'isoler et de caractériser la déformabilité d'érythrocytes, un critère déterminant le flux sanguin dans la microcirculation⁴². Un faisceau de plus grande intensité lumineuse peut également être utilisé pour créer des « ciseaux optiques », c'est à dire un instrument d'ablation⁴³. D'autres applications mentionnent le piégeage simultané de plusieurs particules. Il est possible d'utiliser un réseau de lasers pour créer une matrice de sites de piégeage⁴⁴. Il est également possible de créer une série de pièges en balayant un seul faisceau laser sur différents emplacements. Bien que chaque site ne soit éclairé qu'à temps partiel dans cette approche de partage du temps, le puits de potentiel moyen est assez fort pour piéger un objet microscopique à condition que le laser parcourt chaque emplacement de piège assez souvent pour surmonter tous les problèmes dus à la diffusion des particules. Cependant, l'approche actuelle la plus répandue pour la création de pièges multiples implique l'utilisation d'éléments optiques diffractifs pour réaliser des pinces optiques holographiques, dont un exemple est donné Figure 1.8. Les pinces optiques holographiques utilisent des hologrammes générés par ordinateur pour créer des configurations tridimensionnelles arbitraires de pièges optiques à faisceau unique. Des descriptifs plus approfondis de cette méthode sont disponibles dans la littérature⁴⁵⁻⁴⁸.

La pince optique est donc un outil efficace de manipulation et de découpe d'objets de taille micrométrique, en particulier en téléopération. Elle nécessite toutefois des moyens importants pour la mise en oeuvre, et n'est pas utilisable pour une manipulation à haute cadence en raison des faibles forces exercées sur les objets.

1.3.1.3/ Actionnement magnétique

Principe Le principe de la manipulation magnétique consiste à utiliser des aimants permanents ou des bobines pour déplacer des particules paramagnétiques, diamagnétiques ou ferromagnétiques. A titre d'exemple, des forces comprises entre 10 et 100 pN peuvent être exercées sur des billes paramagnétiques ayant un diamètre de l'ordre du micromètre en utilisant des aimants permanents qui sont commodément positionnés à l'extérieur de la chambre d'écoulement. L'actionnement magnétique n'est pas spécifique aux LOCs, mais plus généralement à la micromanipulation sans contact.

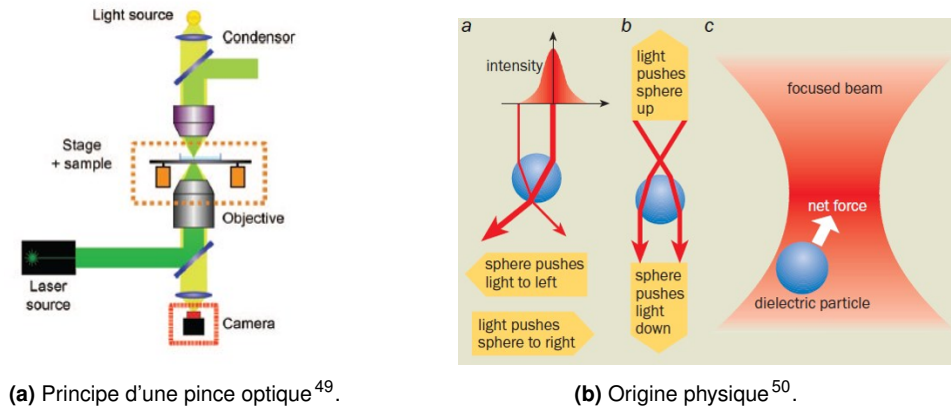


FIGURE 1.7 Présentation d'une pince optique. **(a)** Schéma de principe : un faisceau laser est focalisé au niveau de la particule à déplacer. **(b)** Origine physique : un gradient d'intensité lumineuse crée une force totale non nulle exercée sur la particule.

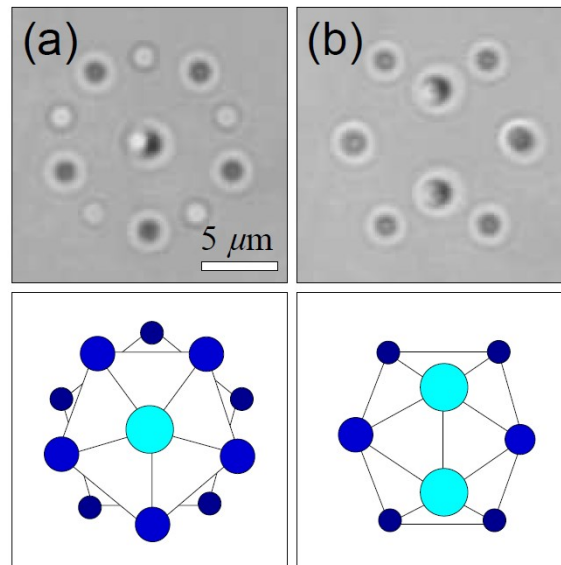


FIGURE 1.8 Deux vues d'un icosaèdre en rotation de sphères colloïdales créées avec des pinces optiques holographiques dynamiques⁵¹.

Applications Les particules magnétiques (voir Figure 1.9) sont particulièrement utilisées pour les tests de diagnostic dans les LOCs. Concernant la manipulation d'un grand nombre d'objets en simultanément, des particules magnétiques ont été utilisées pour mélanger des fluides, capturer sélectivement des analytes spécifiques (les biomarqueurs à détecter), concentrer des analytes, en transférer d'une solution à une autre, effectuer des analyses de stringence et les étapes de lavage, ainsi enfin que pour sonder les propriétés biophysiques des analytes. Différents articles passent en revue les différents domaines d'applications et méthodes^{53,54}. On peut notamment citer le contrôle en boucle fermée à l'aide de quatre bobines⁵⁵, la manipulation à l'aide de microsphères magnétiques⁵², la manipulation haptique à l'aide de microrobots^{56,57} ou encore l'utilisation de micronageurs⁵⁸. L'actionnement se fait généralement à l'aide de bobines de taille centimétrique placées sur l'extérieur d'une plate-forme. Des actionneurs magnétiques de taille micrométrique,

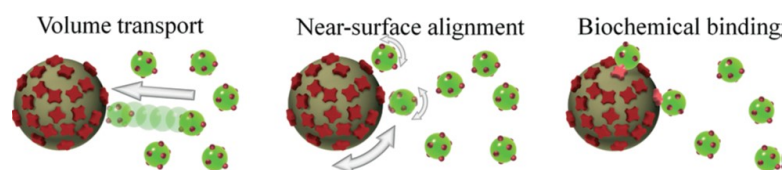


FIGURE 1.9 Capture de cibles par affinité dépendant des propriétés de surface réactives des particules magnétiques⁵².

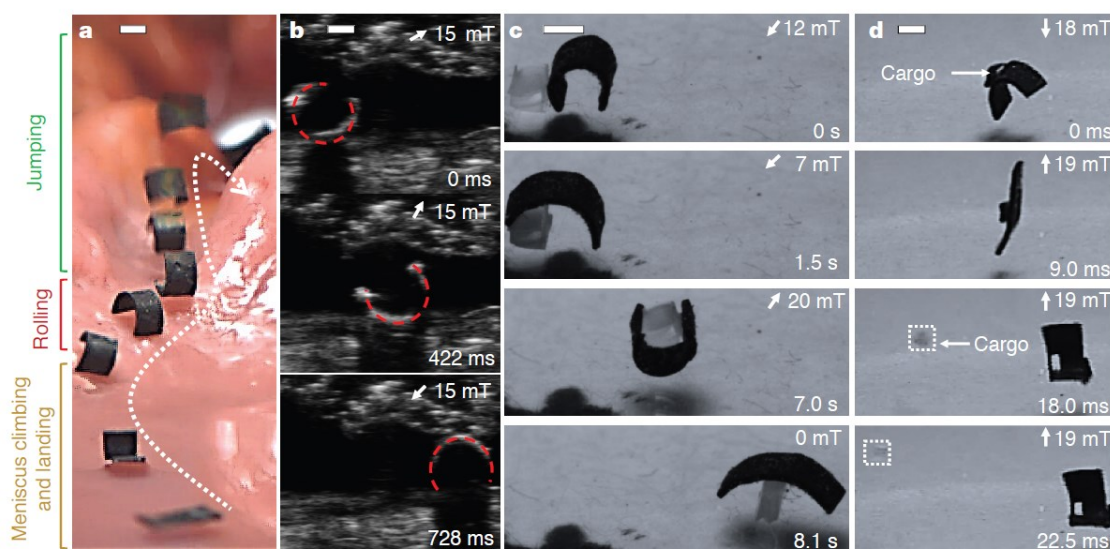


FIGURE 1.10 Petit robot à corps mous avec locomotion multimodale⁵⁶.

moins courant, sont également évoqués dans la littérature^{59,60}. L'utilisation de la force magnétique peut également être associée à d'autres effets physiques pour l'isolation de cellules rares⁶¹.

Parmi les dispositifs et méthodes cités, deux sont ici présentés à titre illustratif. van Reenen et al.⁵² quantifient et comparent les taux de réaction de la capture de cibles à base de particules avec différents types d'actionnement, à savoir (i) le transport thermique passif, (ii) l'agitation des fluides par mélange vortex et (iii) les particules en rotation active, les deux dernières étant effectuées à l'aide d'un actionnement magnétique.

Hu et al. présentent des robots magnéto-élastiques à l'échelle millimétrique qui peuvent nager à l'intérieur et à la surface des liquides, escalader des ménisques de liquides, rouler et marcher sur des surfaces solides, sauter par-dessus des obstacles et ramper dans des tunnels étroits (voir Figure 1.10). Ces robots peuvent transiter de manière réversible entre différents terrains liquides et solides et basculer entre les modes de locomotion. Ils peuvent en outre exécuter des tâches de pick-and-place.

L'actionnement magnétique permet une manipulation à haute cadence d'objets dans des espaces restreints, mais autorise également des mouvement complexes d'objets, certains auteurs allant jusqu'à proposer le déplacement et la déformation d'objets compliant. Cette méthode d'actionnement n'est toutefois à ce jour que rarement miniaturisée, et est restreinte à des objets de type paramagnétique, propriété que ne possèdent pas les matériaux biologiques conventionnels. La manipulation directe d'objets biologiques est donc impossible.

1.3.1.4/ La force d'acoustophorèse

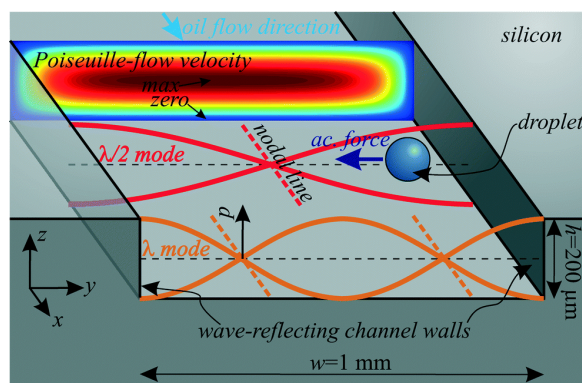


FIGURE 1.11 Schéma de principe illustrant la manipulation acoustophorétique de gouttelettes par onde stationnaire ultrasonique⁶².

Principe L'acoustophorèse est une méthode d'actionnement utilisant la pression de radiation à partir d'ondes sonores intenses. Cela est possible en raison des effets de non linéarité des ondes sonores, comme présenté Figure 1.11. En acoustophorèse, une onde sonore induit une différence de vitesse périodique entre le milieu continu et les particules en suspension, à condition que leur densité respective ne soit pas identique. Les systèmes de séparation et de piégeage acoustiques ont pour avantage de proposer un mode de fonctionnement continu, une utilisation relativement facile et sans risque de dégradation des échantillons biologiques.

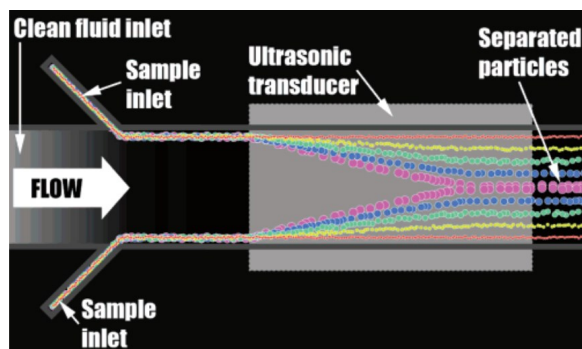


FIGURE 1.12 Illustration d'une suspension de particules passant sur un transducteur où les particules sont déplacées vers le centre du canal de séparation à une vitesse déterminée par leurs propriétés acoustiques⁶³.

Applications Les forces acoustiques ont été largement utilisées pour séparer les particules en suspension de taille micrométrique, de leur milieu ou d'autres particules, ainsi que pour piéger des particules. La séparation peut notamment se faire par densité⁶⁴, taille^{63,65} ou encore compressibilité⁶⁶. La méthode peut également être utilisée à l'échelle moléculaire pour des applications de chromatographie⁶⁷.

Afin d'illustrer le contexte applicatif, des travaux de Peterson⁶³ sont présentés Figure 1.12. Ces travaux présentent une méthode capable de séparer en continu des suspensions de particules

mélangées en plusieurs fractions à la sortie. Les forces acoustiques sont utilisées pour séparer les particules en fonction de leur taille et de leur densité. Il a été démontré que la méthode convient aux particules en suspension biologiques et non biologiques. La manipulation du milieu, en combinaison avec les acides gras libres, a également été utilisée pour permettre le fractionnement des globules rouges, des plaquettes et des leucocytes. Les résultats montrent que l'acoustophorèse à écoulement libre peut être utilisée pour effectuer des tâches complexes de séparation.

L'acoustophorèse est donc une force dont la mise en oeuvre est simple, et permettant un tri efficace d'objets selon différents critères. Les forces appliquées sont toutefois monodirectionnelles et relativement faibles, ce qui limite la dynamique.

1.3.1.5/ La force de diélectrophorèse

Principe La force de diélectrophorèse (DEP) fait référence au mouvement d'une particule polarisable (ou d'une cellule) dans un liquide, soumise à champ électrique non uniforme. La force de DEP est couramment utilisée dans les LOCs. En effet, sa simplicité de mise en oeuvre est attrayante puisque les champs électriques sont générés à l'aide d'électrodes métalliques alimentées par un générateur de tension alternative. Elles sont donc facilement intégrables aux LOCs. D'autre part, les échantillons biologiques sont polarisables, il est donc possible de leur appliquer une force de DEP. Cette force peut être utilisée pour le guidage des échantillons dans un canal, ou encore pour le tri, puisque l'amplitude de la force exercée va dépendre de certains paramètres physiques des échantillons, comme leur taille et leurs propriétés électriques notamment.

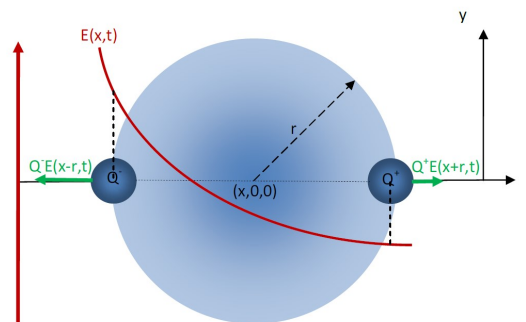


FIGURE 1.13 Principe de l'actionnement par DEP⁶⁸. Lorsqu'une particule polarisable est soumise à un champ électrique, un dipôle se crée. Si de plus ce champ est non uniforme, des forces d'amplitudes différentes sont exercées sur le dipôle, résultant en une force non nulle.

Une particule soumise à un champ électrique se polarise. Bien que globalement électriquement neutre, des dipôles sont créés à la surface de la particule. Si le champ électrique appliqué est non-uniforme, c'est à dire qu'il varie en amplitude dans la région occupée par le dipôle, alors les forces de Coulomb créées sur les deux côtés de la particule sont différentes, ce qui donne une force résultante non nulle, comme illustré Figure 1.13. Ce phénomène est à l'origine de la force de diélectrophorèse.

Applications Les applications de la diélectrophorèse sont : le guidage, la séparation, le piégeage et le contrôle actif.

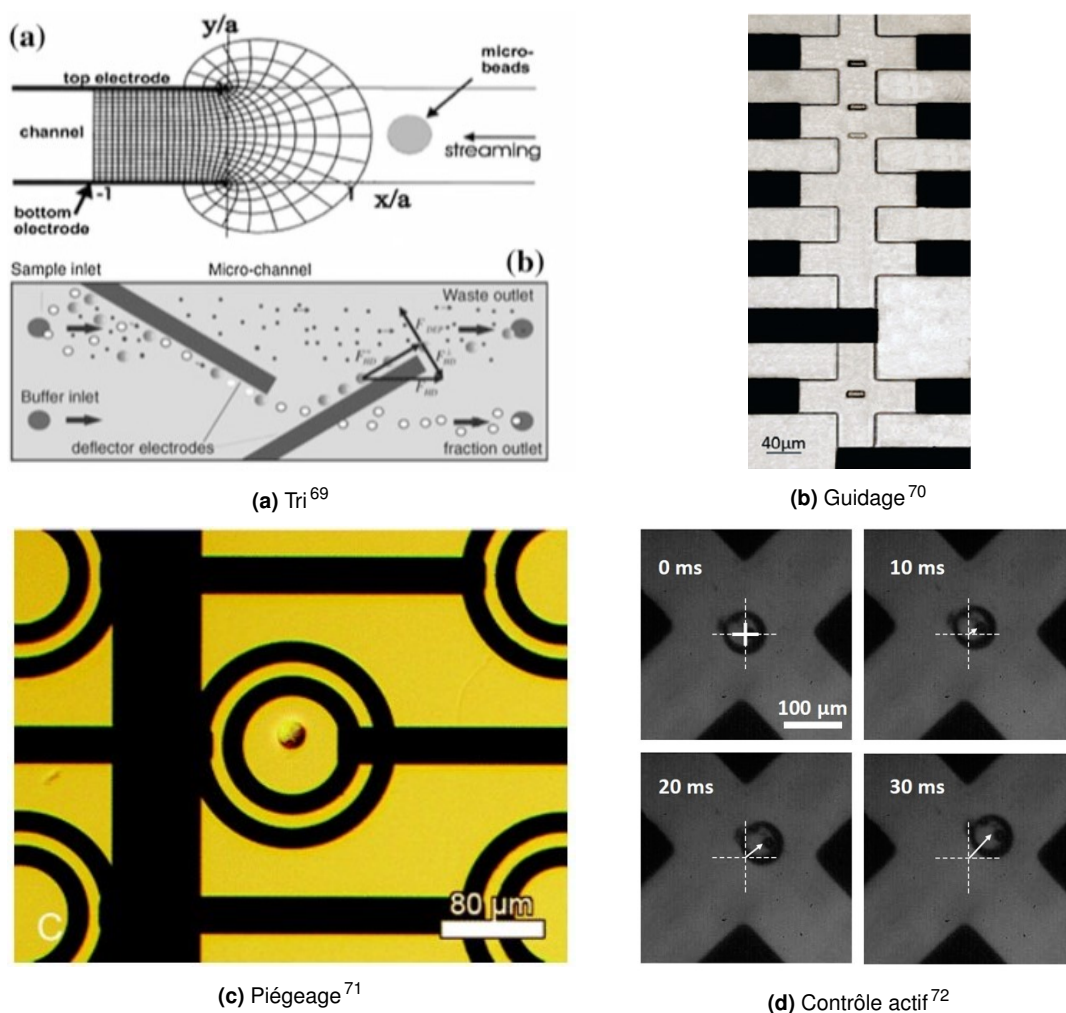


FIGURE 1.14 Visuels de dispositifs LOCs exploitant la force de DEP à différentes fins : **(a)** Tri : La DEP permet un tri par taille de particules. **(b)** Guidage : la DEP est ici utilisée pour centrer des objets dans la section d'un microcanal et maîtriser leur orientation. **(c)** Piégeage : la DEP maintient la particule au centre du cercle. **(d)** Contrôle actif : associée à un retour de position par vision, la trajectoire d'une particule actionnée par DEP est maîtrisée.

Figure 1.14a⁶⁹, la force de DEP est utilisée en vue de trier des échantillons biologiques. La force de DEP exercée étant dépendante de la taille des cellules, les électrodes permettent d'exercer sur les échantillons un déplacement latéral dont l'amplitude varie en fonction de leur taille. Plusieurs sorties placées en aval permettent de récupérer les cellules ainsi triées.

Un exemple de guidage de particules dans un microcanal est le concept d'électrodes dites « liquides », développé par Demierre et al⁷³ donné Figure 1.14b⁷⁰. Les électrodes liquides sont des électrodes planaires fabriquées sur le fond de chambres situées à l'extrémité du côté du canal principal. La couche d'isolant (la résine utilisée pour former le canal) guide les lignes de champ dans le liquide s'écoulant dans le canal principal et détermine la distribution du champ électrique à l'intérieur de la microstructure. Un potentiel en opposition de phase appliqué sur les électrodes en opposition permet d'une part le guidage des cellules : celles-ci sont guidées vers le centre du canal, c'est à dire là où le potentiel est le plus faible. La position verticale des cellules peut également être contrôlée en jouant sur l'amplitude du signal d'excitation. Enfin, dans le cas d'objets non sphériques, l'orientation peut également être maîtrisée.

La Figure 1.14c⁷¹ présente un exemple de piège par diélectrophorèse. La géométrie des électrodes

permet d'obtenir un puits de champ électrique dont le centre est le centre des cercles formés par les électrodes. Ainsi, une force dirigée vers le centre du cercle est appliquée sur la particule. L'amplitude de la force décroît lorsque l'on se rapproche du centre du cercle.

La Figure 1.14d donne un exemple de contrôle actif d'une particule sphérique exploitant un actionnement par DEP⁷². Le fait de jouer sur le potentiel de 4 électrodes distinctes permet d'exercer une force dont il est possible de maîtriser avec une bonne précision l'amplitude et l'orientation dans le plan. La position est corrigée à l'aide d'une loi de commande en boucle fermée.

Enfin, la manipulation contrôlée est également utilisée dans le dispositif industrialisé DEPArray, qui permet de contrôler, manipuler et collecter des cellules. Une cartouche microfluidique à usage unique contient un ensemble d'électrodes individuellement contrôlables, chacune avec des capteurs intégrés. Ce circuit permet la création de cages diélectrophorétiques autour des cellules. Après imagerie, les cellules individuelles d'intérêt sont déplacées vers une chambre pour l'isolement et la récupération. Ce type de technologie permet d'isoler des cellules rares avec une sélectivité importante. La cadence du tri est toutefois limitée.

Sur le plan de la fabrication, les électrodes peuvent être réalisées à l'aide de techniques de salle blanche, telles que la photolithographie, le dépôt de couches minces, la gravure, la galvanoplastie ou la lithographie douce. La méthode de fabrication retenue dépend du type d'électrode souhaitées, et a fortiori du type d'application. Le matériau retenu quant à lui dépend des caractéristiques souhaitées. On peut citer l'or pour sa bonne conductivité électrique, le platine pour sa tenue aux fortes tensions, ou encore l'ITO pour sa transparence.

L'utilisation de la force de DEP est très répandue dans les LOCs. Celle-ci permet le tri d'objets selon plusieurs paramètres physiques, autorise de hautes cadences, et est multidirectionnelle. Des procédés de fabrication à des coûts peu élevés ont été proposés. Certaines limitations sont également inhérentes aux techniques exploitant la DEP. Notamment, la force diminue rapidement lorsque l'on s'éloigne des électrodes, les électrodes peuvent gêner la visualisation de la zone, se décoller sous l'effet de fortes tensions, ou encore provoquer un échauffement du milieu.

1.3.1.6/ Comparatif des différentes méthodes d'actionnement

Récapitulatif des caractéristiques des principales méthodes d'actionnement					
	<i>Fluidique</i>	<i>DEP</i>	<i>Magnétique</i>	<i>Acoustique</i>	<i>Optique</i>
Propriété d'objet	-	Diélectrique	Magnétique	-	Transparent
Taille d'objet	1-100 μm	1-100 μm	1-1000 μm	1-100 μm	1-10 μm
Champ d'action	Important	Faible	Important	Important	Important
Gamme des forces exercées	Importante	Faible	Importante	Importante	Très faible
Degrés de liberté	1D	2.5D	3D	1D	3D

TABLE 1.1 Principales caractéristiques des actionneurs dans les LOCs.

Les différentes méthodes d'actionnement citées ci-dessus présentent chacune leurs spécificités. L'amplitude et l'orientation des forces mises en jeu, la plage d'action et la simplicité de mise en œuvre sont les principaux critères permettant d'orienter le choix d'une méthode d'actionnement en fonction du contexte applicatif. Ces critères, décrits pour les principales méthodes d'actionnement dans les sections précédentes, sont résumés dans le Tableau 1.1.

L'amplitude des forces appliquées étant dépendante de nombreux paramètres tels que les dimensions de l'objet ou son positionnement par rapport à l'actionneur, l'amplitude des forces appliquées est très variable. On se contentera ici de donner des ordres de grandeur.

1.3.2/ Détection

Différentes méthodes d'actionnement dans les LOCs ont été décrites précédemment. Toutefois, dans le cadre du contrôle en boucle fermée notamment, une partie perception doit également être présente.

La vision est actuellement de la seule méthode permettant une mesure continue et temps-réel de la position de particules dans les LOCs. Le mouvement des particules est généralement projeté sur un plan défini par le foyer de l'objectif. Pour de nombreuses applications (par exemple micromélangeurs ou dispositifs de focalisation de particules), la visualisation du mouvement dans la troisième dimension est nécessaire pour comprendre pleinement la trajectoire des particules⁷⁴. A cet effet, des approches multi-caméras (par exemple imagerie stéréoscopique, imagerie tomographique) et monocaméras (par exemple microscopie confocale, imagerie anamorphique / astigmatique, microscopie holographique numérique, déconvolution et défocalisation) ont été proposées. Pour une description et analyse, il est possible de se référer à différentes revues⁷⁵⁻⁷⁷.

A titre d'exemple, Kharboutly⁷² dans ses travaux précédemment cités présente le contrôle en boucle fermée de sphères de rayon de l'ordre de quelques dizaines de micromètres. L'actionnement se fait par DEP à l'aide de 4 électrodes placées en cercle autour de la zone de contrôle, et d'une caméra rapide (1000 images par seconde) munie d'un objectif. La rapidité de la caméra associée à une détection par région d'intérêt (ROI) contribuent à l'efficacité de la détection et donc de la boucle fermée. Jiang et al.⁷⁸ présentent des travaux similaires dans lesquels la diélectrophorèse est utilisée afin de mettre en rotation des sphères, associée ici également à un retour par vision pour le contrôle en boucle fermée.

Les résultats de ces travaux montrent que les capteurs basés sur la vision offrent une solution intéressante pour le contrôle, permettant de détecter la position linéaire et angulaire avec précision, avec une cadence pouvant être supérieure à 1000 Hz. Cependant, avec un fort grossissement le champ de vision est réduit par rapport à la taille de l'objectif optique. En raison du rapport énorme entre la plage de vision et la taille de l'objectif, seules quelques parties de la surface de la puce sont visibles simultanément avec la caméra. En utilisant des caméras, la densité des zones de test sur la puce est donc fortement limitée par la taille de l'objectif optique.

1.4/ Conclusion

Dans ce chapitre d'introduction, le besoin dans le domaine du tri cellulaire a été mis en évidence. Les trieurs conventionnels, ainsi qu'une technologie récente de dispositifs portables dit LOCs, sont à l'origine de nombreux développements dans ce domaine, permettant de trier et caractériser des échantillons biologiques selon un grand nombre de critères comme la forme, la taille, les propriétés électriques... Toutefois, ces trieurs manquent encore de sélectivité, en particulier pour le développement de l'immunothérapie. La mise en place de méthodes de tri cellule par cellule dans des laboratoires sur puces est une voie pour permettre d'améliorer la sélectivité du tri. Elle nécessite toutefois d'effectuer le tri à haute vitesse afin de traiter des échantillons de cellules de taille raisonnable (typiquement quelques millions de cellules). La mise en place de trieur rapide nécessite l'utilisation de méthode de contrôle de trajectoire de ces cellules basées sur une com-

mande en boucle fermée. Nous proposons de mesurer la position de la cellule dans le trieur en exploitant les principes de l'impédancemétrie.

Le chapitre suivant d'état de l'art s'attache donc à évaluer les potentialités des mesures d'impédance, généralement utilisées pour la caractérisation des cellules, comme technique de détection de position.

Chapitre 2

Impédancemétrie : état de l'art sur l'observation de position

Dans le chapitre précédent, l'intérêt d'intégrer un capteur de position de micro-particules directement dans les puces de tri cellulaire a été mis en évidence. L'idée est d'exploiter les champs électriques, largement utilisés pour l'actionnement, notamment par les techniques impliquant la diélectrophorèse, afin de réaliser une mesure de position. A cette fin, la mesure d'impédance semble prometteuse. Dans ce chapitre, différentes thématiques présentant un intérêt pour la mise en oeuvre de la détection par impédancemétrie seront décrites.

2.1/ Généralités sur la mesure d'impédance

Une impédance est une grandeur complexe servant à caractériser l'opposition d'un système à l'application d'une grandeur physique. Pour le cas particulier où cette grandeur est une grandeur électrique, l'impédance représente le ratio entre la différence de potentiel appliquée aux bornes du système et le courant :

$$Z = \frac{U}{I} \quad (2.1)$$

où Z , U et I représentent respectivement l'impédance, la tension et le courant sous leur forme complexe. La partie réelle de Z est appelée résistance et sa partie imaginaire réactance. La résistance caractérise l'opposition du système au passage d'un courant continu. La réactance caractérise quant à elle le déphasage induit par le passage du courant dans le système. Lorsque les caractéristiques du milieu varient, par exemple par l'ajout d'une cellule dans le milieu, l'impédance est modifiée. Cette variation d'impédance est liée non seulement aux différences de propriétés entre l'objet introduit dans le milieu et le milieu lui-même, mais également à sa position par rapport au capteur utilisé.

L'objectif de ces travaux de thèse est d'utiliser ces informations, et notamment cette grandeur qu'est l'impédance afin de fournir une mesure de position d'une cellule dans un canal micro-fluidique. La mesure de position est indirecte, il s'agit d'un problème d'observation d'état. Il faut donc combiner les connaissances de trois domaines : observation d'état, impédancemétrie et modélisation physique du système, afin d'obtenir le capteur souhaité. En vue de cet objectif, trois

grandes thématiques seront abordées, comme illustré Figure 2.1 pour fournir les outils de résolution nécessaires :

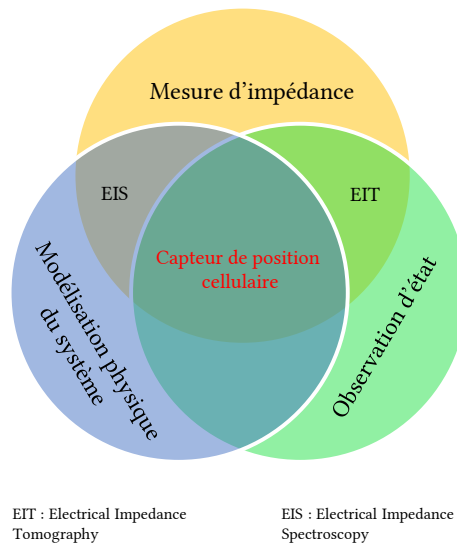


FIGURE 2.1 Diagramme de Venn illustrant le recoupement des 3 grandes thématiques de l'étude.

- La modélisation physique du système couplée à la mesure d'impédance
La spectroscopie d'impédance électrique est une technique permettant de caractériser une cellule en fonction de sa réponse à l'application d'une tension électrique, à différentes fréquences d'excitation.
- L'observation d'état couplée à la mesure d'impédance
La tomographie d'impédance électrique est une technique utilisée à l'échelle macroscopique afin de donner une cartographie de la résistivité d'un milieu. Le problème d'observation d'état associé à des mesures d'impédance y est étudié.
- L'observation d'état
Différents outils de ce domaine seront présentés afin d'apporter de la connaissance sur le type de problème qu'il faudra résoudre, et d'en maîtriser les outils de résolution.

La suite présente un état de l'art de ces différents domaines.

2.2/ La spectroscopie d'impédance électrique

La spectroscopie d'impédance électrique est une technique dont le principe est d'appliquer une tension alternative aux bornes d'électrodes, et de mesurer le courant résultant. Il est ainsi possible de connaître l'impédance du milieu d'étude pour la fréquence d'excitation utilisée. Un balayage fréquentiel ou un multiplexage de différentes fréquences permet de connaître cette impédance à différentes fréquences. Il est alors possible de caractériser le milieu étudié. Lorsqu'un objet dont les propriétés électriques diffèrent de celui du milieu liquide de transport est situé entre les électrodes utilisées pour la mesure, le champ électrique s'en trouve modifié. Pour le cas particulier de la caractérisation cellulaire, certaines hypothèses peuvent être faites, notamment sur la géométrie sphérique des cellules, permettant d'en donner un modèle dont plusieurs paramètres sont à identifier. La mesure de la variation du champ électrique, associée à ce modèle, permet d'identifier ces paramètres et ainsi de caractériser la cellule.

Seront évoqués dans cette section le principe général de la spectroscopie d'impédance électrique, son cadre applicatif ainsi que les cas étudiés dans la littérature de sensibilité au positionnement d'une particule dans ce domaine. L'objectif est ici de mettre en évidence le comportement électrique d'une particule dans un milieu électrolytique microfluidique afin d'en déduire des informations pour l'élaboration d'un capteur de position. Différents articles décrivent dans le détail ces différents points⁷⁹⁻⁸¹. La section suivante en présente l'essentiel.

2.2.1/ Représentation classique d'une cellule en spectroscopie d'impédance

Le modèle le plus couramment utilisé pour représenter le comportement électrique d'une cellule est celui développé par Hywel Morgan⁸². Une cellule y est modélisée comme un système composé d'un cytoplasme sphérique et majoritairement résistif, entouré d'une fine membrane de quelques nanomètres d'épaisseur, majoritairement capacitive. La Figure 2.2 donne une représentation de ce modèle.

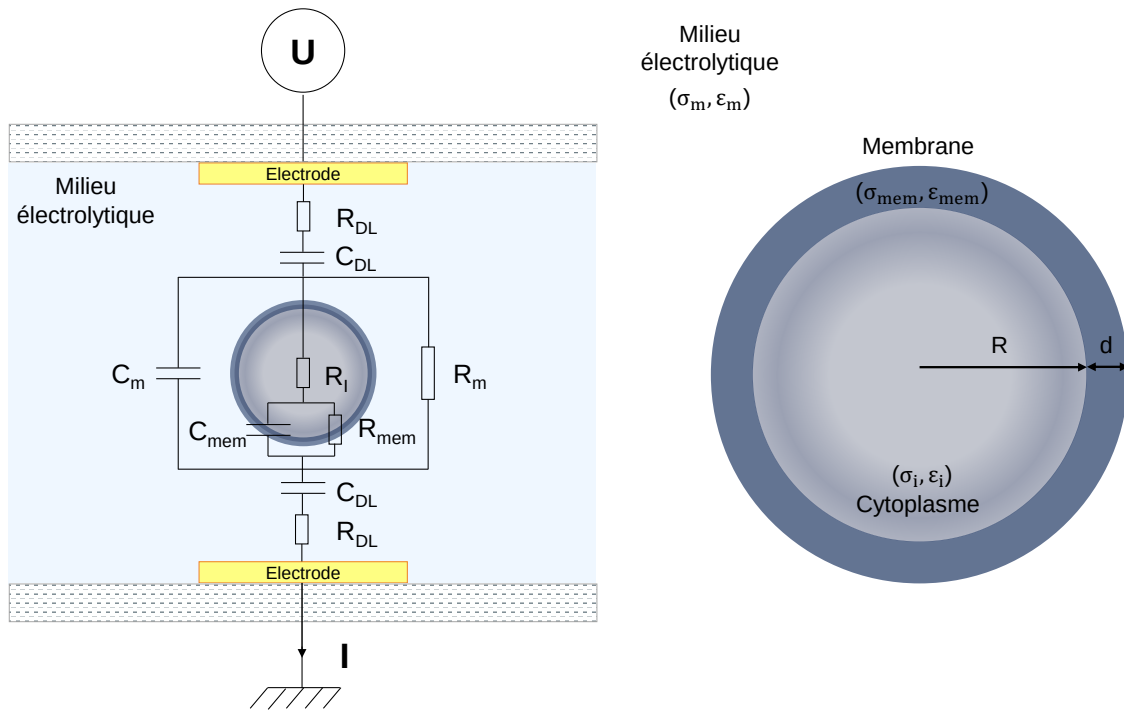


FIGURE 2.2 Représentation d'une cellule pour la modélisation de son comportement électrique. Le cytoplasme, majoritairement résistif, est entouré d'une fine membrane aux propriétés capacitives. Le système composé d'une cellule, du milieu fluide et des électrodes de mesure peut alors être représenté comme un circuit électrique comprenant divers condensateurs et résistors.

Ce modèle se base sur l'approximation de Maxwell⁸³ et le modèle de Fricke⁸⁴. En nommant la permittivité relative et la conductivité électriques respectivement du milieu électrolytique, de la membrane et du cytoplasme (ϵ_m, σ_m) , $(\epsilon_{mem}, \sigma_{mem})$ et (ϵ_i, σ_i) , le rayon du cytoplasme R et l'épaisseur de la membrane d , la formulation analytique de la valeur de chaque composant équivalent est donnée ci-dessous :

$$R_m = \frac{1}{\sigma_m(1 - 3\phi/2)l\kappa} \quad \text{Résistance du milieu liquide,} \quad (2.2)$$

$$C_m = \epsilon_\infty \kappa l \quad \text{Capacité du milieu liquide,} \quad (2.3)$$

$$C_{mem} = \frac{9\phi RC_{mem,0}}{4} \kappa l \quad \text{Capacité de la membrane,} \quad (2.4)$$

$$R_i = \frac{4(\frac{1}{2\sigma_m} + \frac{1}{\sigma_i})}{9\phi \kappa} \quad \text{Résistance du cytoplasme,} \quad (2.5)$$

$$C_{mem,0} = \epsilon_{mem}/d \quad \text{Capacitance par unité de surface de la membrane,} \quad (2.6)$$

$$\epsilon_\infty = \frac{2\epsilon_m + \epsilon_i - 2\phi(\epsilon_m - \epsilon_i)}{2\epsilon_m + \epsilon_i + \phi(\epsilon_m - \epsilon_i)} \quad \text{Permittivité du système à fréquence infinie,} \quad (2.7)$$

où ϕ représente le ratio entre le volume de la particule et celui de la zone de détection, l la longueur des électrodes et κ une constante dépendante des dimensions du système et de la géométrie des électrodes.

L'impédance d'une cellule immergée dépend de la fréquence du signal d'excitation, comme présenté sur le diagramme Figure 2.3. Le diagramme présente d'une part la tension mesurable par un appareil de mesure. Cette tension est représentative du courant traversant le système, et donc de son admittance (inverse de l'impédance)¹. D'autre part, l'axe vertical de droite présente la phase, c'est-à-dire le décalage dans le temps du passage à zéro des signaux, induit dans le cas présent par des effets capacitifs. A basse fréquence, une cellule sera isolante. Sa membrane sera équivalente à une capacité qui va empêcher les lignes de champ électrique de pénétrer la cellule. Il sera possible d'obtenir des information sur sa taille et sa forme. A haute fréquence, la capacité de la membrane est court-circuitée. On peut alors en déduire des propriétés internes telle que la résistance du cytoplasme.

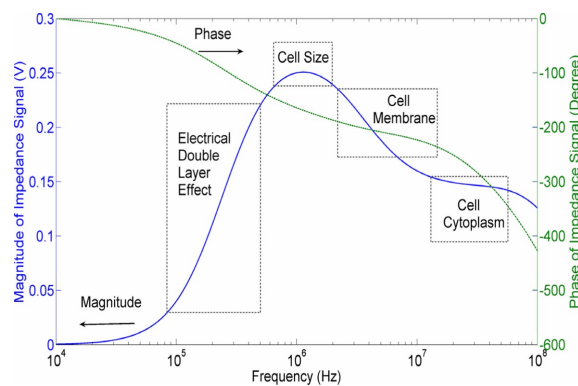


FIGURE 2.3 Spectre de l'impédance d'un échantillon biologique avec les zones de dispersion⁸⁵.

Une fréquence minimale du signal d'excitation doit cependant être utilisée, en raison d'un phénomène nommé « effet double couche ». L'effet double couche apparaît pour de mesures électriques lorsque les électrodes sont immergées en milieu liquide, la surface se chargeant à cause de la dissociation des molécules de surface. L'effet double couche peut être modélisé par

1. Les détails techniques à ce sujet seront donnés dans le chapitre suivant.

une capacité (ainsi qu'une petite résistance) en série sur le modèle électrique équivalent Figure 2.3. Dans le cas général, cette capacité est négligée en appliquant un signal d'une fréquence suffisante.

2.2.2/ Cadre applicatif

La principale application de la spectroscopie d'impédance électrique (EIS) est de fournir des informations sur la nature des cellules ou tissus étudiés.

A basse fréquence, la membrane cellulaire, qui est équivalente à une capacité, empêche les lignes de champ électrique de pénétrer dans la cellule. Lorsque la fréquence du signal augmente, cette même capacité tend à être court-circuitée, induisant une diminution de l'impédance du système.

Cette propriété peut être exploitée de plusieurs manières.

Caractérisation d'échantillons biologiques Les travaux pionniers de l'EIS, menés par le physicien Hugo Fricke, consistaient à mesurer l'impédance de tissus biologiques. Il a notamment montré pour la première fois que les différents constituants d'un milieu biologique, et plus particulièrement les membranes cellulaires, ont un effet mesurable sur l'impédance globale de l'échantillon. Ainsi, il montre qu'il est possible de détecter si des tissus biologiques sont cancéreux en exploitant le fait que les cellules cancéreuses ont des propriétés distinctes de celles des cellules saines⁸⁶.

La première manière d'exploiter l'EIS est donc de considérer deux populations aux propriétés distinctes (connues pour au moins l'une d'entre elles) afin de déterminer la concentration relative de ces deux populations au sein d'un échantillon biologique. Ces dernières décennies, ce type d'analyse fut largement implémenté dans des LOCs (voir exemple donné Figure 2.4).

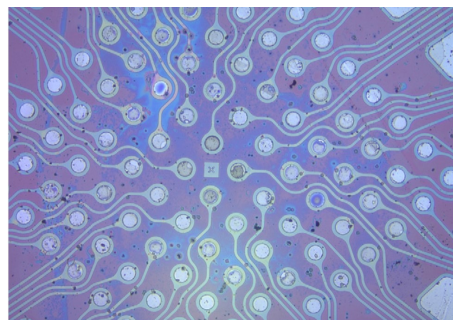


FIGURE 2.4 Photographie de réseaux de micro-électrodes (10 x 10 avec un diamètre de 80 µm)⁸⁷.

Analyse de cellule individuelle Une application plus récente concerne l'analyse de cellule individuelle. Les équations 2.2→2.7 permettent de déterminer les caractéristiques d'une cellule. A basse fréquence, l'impédance de la membrane est prépondérante. La dépendance de la résistance (Equation 2.2) et de la capacité (Equation 2.3) de la membrane dans le rayon de la cellule R permet de déterminer ce dernier. A haute fréquence, la capacité de la membrane tend à être court-circuitée. La résistance du cytoplasme n'est plus négligeable, ainsi la conductivité du cytoplasme (Equation 2.5) peut être évaluée. Les cytomètres d'impédance microfluidique pour l'analyse de particules et de cellules uniques à haut débit ont été utilisés à travers différentes applications, dont le dimensionnement et le comptage des particules, le phénotypage cellulaire et le diagnostic de maladies^{88–92}. Les méthodes de mise en œuvre expérimentale de l'analyse individuelle de cellule sont très diversifiées, et ne seront pas décrites de manière exhaustive dans ce document. On peut notamment

citer les travaux de l'EPFL⁷⁰, illustrés Figure 2.5, dans lesquels l'impédance est mesurée selon deux axes afin de déterminer le coefficient d'anisotropie de cellules.

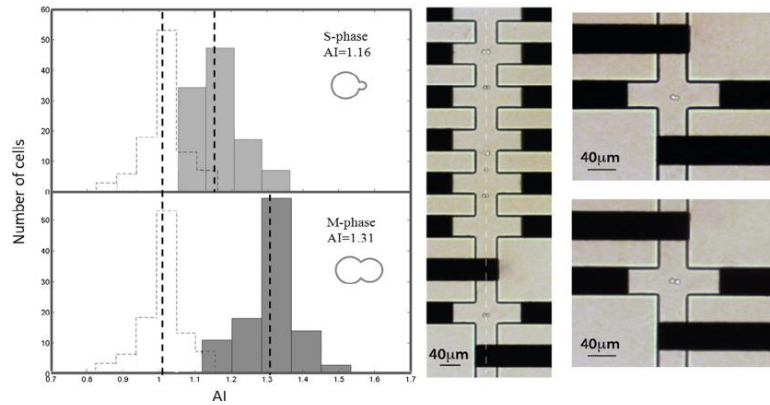


FIGURE 2.5 Histogramme de l'indice d'anisotropie des cellules en phase S et des cellules en phase M⁷⁰.

2.2.3/ Mesure de position et de vitesse dans les LOCs par impédancemétrie

Un état de l'art récent présente différentes méthodes afin de fournir une estimation de la position de particules dans un canal microfluidique^{93–96}. Chacune de ces méthodes exploite la variabilité de la mesure d'impédance en fonction de la position de l'objet dans le microcanal.

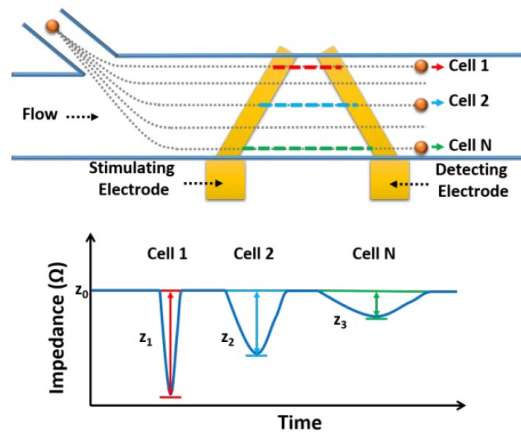


FIGURE 2.6 Principe de la détection de la position des particules / cellules dans le microcanal à l'aide d'électrodes non parallèles.⁹³

Dans les travaux de Wang (voir Figure 2.6), une paire de microélectrodes coplanaires non parallèles a été utilisée pour détecter les positions transversales d'objets s'écoulant dans un microcanal. Les cellules ou les particules qui traversent la paire d'électrodes à différentes positions transversales ont une intensité et une durée de champ électrique différentes et présentent ainsi différents signaux d'impédance (amplitude et largeur). Ce type de méthode offre une approche simple, rapide et économique pour quantifier les positions des objets dans un microcanal sans configuration optique complexe. Elles peuvent de plus être facilement intégrées à des dispositifs de tri/séparation dans lesquels la mesure de position présente un intérêt, tels que les dispositifs de cytométrie en flux par exemple.

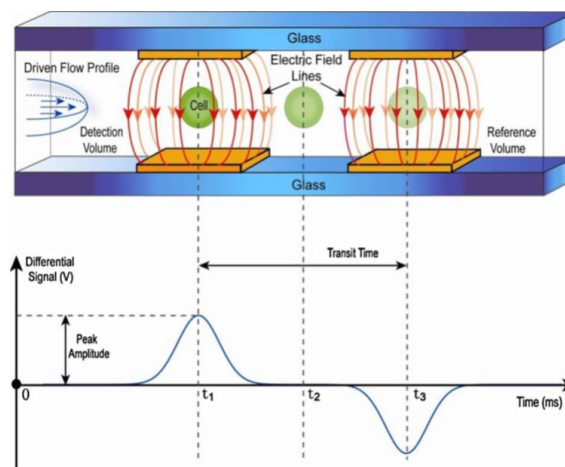


FIGURE 2.7 Schéma montrant la conception d'un système de mesure d'impédance utilisé pour l'analyse d'une cellule.⁹⁷

Des travaux plus anciens montrent la possibilité de mesurer la vitesse d'objets dans un microcanal⁹⁷ (voir Figure 2.7). Dans les travaux de Sun, deux paires d'électrodes parallèles sont utilisées pour effectuer une mesure d'impédance différentielle. Une cellule traverse la zone de mesure en produisant un double pic, dont il est possible de déduire sa vitesse.

2.2.4/ Sensibilité de la mesure d'impédance à la position d'une cellule

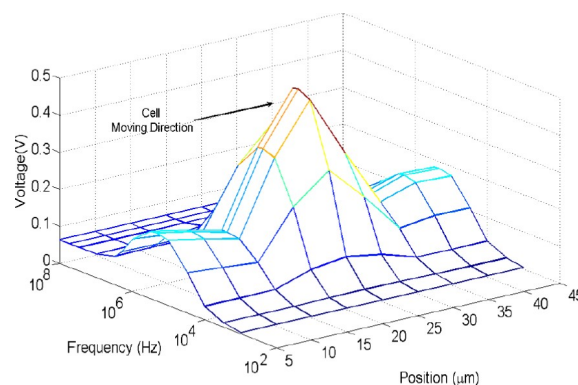


FIGURE 2.8 Tracé 3D de la variation du signal d'impédance différentielle en fonction de la position de la cellule et de la fréquence de la tension d'excitation⁸⁵.

L'impédance mesurée est sensible non seulement aux propriétés des cellules, mais également à leur position entre les électrodes de mesure.

Sun⁸⁵, dans ses travaux de 2008, met en évidence le fait qu'une étude de la variation d'impédance en fonction de la position doit être effectuée lorsque la cellule est en mouvement : si celle-ci n'est pas parfaitement centrée pendant toute la durée de la mesure, le modèle n'est plus valide (voir Figure 2.8). Il ne s'attarde pas sur ces résultats. Toutefois, on constate aisément qu'un défaut de position a une influence sur le signal mesuré.

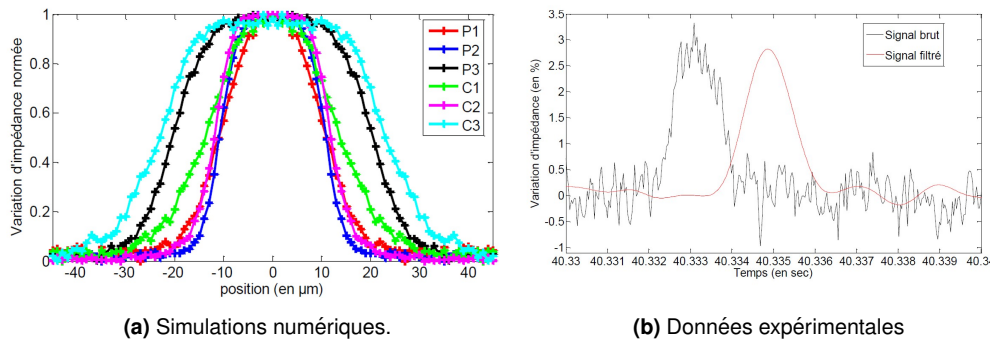


FIGURE 2.9 Mise en évidence de la dépendance de l'impédance entre deux électrodes à la position d'une cellule⁹⁸. **(a)** Variation normalisée de l'impédance, lors du passage d'une cellule isolée pour différentes formes et positionnements d'électrodes. **(b)** Variation d'impédance au cours du temps lors du passage de particules à 100kHz, pour le signal brut et le signal après filtrage.

Claudel⁹⁸, dans ses travaux de thèse, va plus loin en montrant que le choix d'une géométrie particulière d'électrodes présente une réponse qui s'apparente à un palier : le capteur présente peu de sensibilité vis-à-vis de la position de la cellule (voir Figure 2.9a). Ce choix est pertinent dans la mesure où l'objectif est de pouvoir effectuer une mesure servant à caractériser la cellule en dynamique. On peut également noter qu'il produit un résultat expérimental, présenté Figure 2.9b, mettant clairement en évidence la variation d'impédance induite par le passage d'une cellule.

2.2.5/ Conclusion

La spectroscopie d'impédance est donc une méthode servant à caractériser un échantillon biologique ayant un modèle donné, en exploitant la variabilité des mesures à différentes fréquences. Elle permet notamment de connaître les propriétés électriques et géométriques d'une cellule, composée d'un cytoplasme et d'une membrane, et ce à l'aide d'une seule paire d'électrodes. Cette technique pourra donc s'avérer utile puisqu'il s'agit d'un outil permettant de déterminer simplement l'ordre de grandeur des impédances mesurées lors du transit d'une cellule dans un canal. Toutefois, le modèle de l'EIS suppose notamment que l'échantillon biologique soit placé au centre de la zone de mesure des électrodes. Un bon capteur pour l'EIS suppose une faible variabilité de la réponse vis-à-vis d'un défaut de positionnement de l'échantillon. Ce modèle devra donc être modifié pour détection de position.

2.3/ La tomographie d'impédance électrique

2.3.1/ Principe et formulation du problème direct

La tomographie d'impédance électrique (Electrical Impedance tomography, EIT) est une méthode visant à donner une cartographie de la résistivité d'un milieu. A l'instar de la spectroscopie, elle s'appuie sur un modèle de l'impédance de contact entre les électrodes et le milieu. Toutefois, aucun modèle du milieu ni de l'échantillon à analyser n'est fourni. Les informations sur les propriétés sont obtenues à l'aide d'une multitude de mesures d'impédance effectuées à l'aide d'un grand nombre d'électrodes. Ce nombre est généralement de 16 ou 32. La multitude des mesures recueillies est la clé permettant d'aboutir à la cartographie souhaitée, comportant un nombre relativement important d'informations.

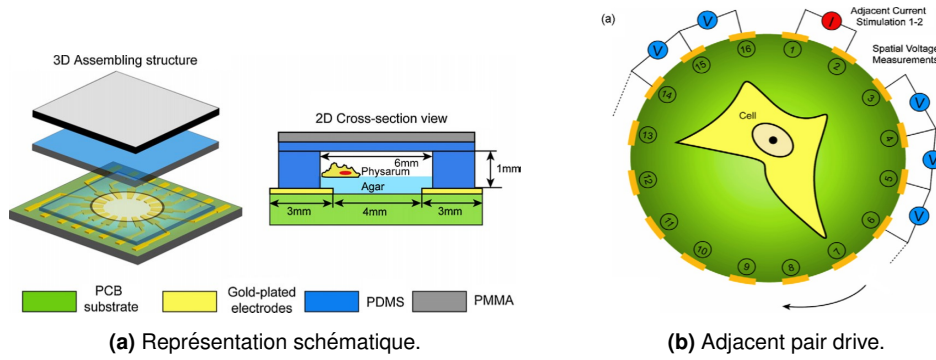


FIGURE 2.10 La tomographie d'impédance électrique sur puce⁹⁹. **(a)** Représentation schématique d'une puce pour la tomographie d'impédance électrique. **(b)** Présentation du « adjacent pair drive » utilisé en tomographie d'impédance électrique.

Un exemple de dispositif de tomographie mentionné dans la littérature par Sun⁹⁹ est donné Figure 2.10a. Afin d'aboutir aux mesures d'impédance, la technique habituelle consiste à injecter du courant entre des électrodes, puis de mesurer la tension résultante entre d'autres paires d'électrodes. Différentes méthodes d'injection et de mesure du courant existent. On parle notamment de « adjacent pair drive » comme présenté Figure 2.10b, où le courant est injecté entre 2 électrodes adjacentes, puis la tension mesurée entre toutes les paires d'électrodes adjacentes qu'il est possible de former en excluant les électrodes servant à l'injection du courant. On parle également de « opposite pair drive », ou encore de méthodes où le courant est injecté de manière plus uniforme.

D'autres géométries et positionnement d'électrodes sont couramment utilisés. La formulation générale du problème est la suivante : lorsque les courants électriques $I_l (l = 1, 2, \dots, L)$ sont injectés dans l'objet Ω par les électrodes $e_l (l = 1, 2, \dots, L)$ aux frontières $\partial\Omega$ et la distribution de résistivité ρ est connue sur Ω , le potentiel électrique correspondant u peut être déterminé à partir de l'équation aux dérivées partielles, dérivée des équations de Maxwell :

$$\nabla \cdot \left(\frac{1}{\rho} \nabla u \right) = 0 \text{ dans } \Omega, \quad (2.8)$$

$$u + z_l \frac{1}{\rho} \frac{\partial \rho}{\partial n} = U_l, l=1, 2, \dots, L, \quad (2.9)$$

$$\int_{e_l} \frac{1}{\rho} \frac{\partial u}{\partial n} dS = I_l, l=1, 2, \dots, L, \quad (2.10)$$

$$\frac{1}{\rho} \frac{\partial u}{\partial n} = 0 \text{ sur } \partial\Omega \setminus \bigcup_{l=1}^L e_l, \quad (2.11)$$

où z_l est l'impédance effective de contact entre la $l^{\text{ième}}$ électrode et l'électrolyte, U^l est le potentiel sur la $l^{\text{ième}}$ électrode et n la normale sortante unitaire de l'électrode.

La conservation des charges impose de plus :

$$\sum_{l=1}^L U_l = 0, \quad (2.12)$$

$$\sum_{l=1}^L I_l = 0, \quad (2.13)$$

L'Equation 2.8 donne une solution unique pour la distribution du potentiel électrique, si les conditions aux limites sont définies. Le problème direct est bien posé en termes d'existence, d'unicité et de stabilité.

2.3.2/ Résolution

Puisque la distribution du potentiel dépend de la distribution de résistivité, il ne peut pas être résolu analytiquement pour des valeurs arbitraires de ρ . Par conséquent, une approche générale est d'utiliser un modèle numérique qui peut simuler les valeurs des potentiels sur les électrodes les plus proches possibles des données de tension mesurées expérimentalement. Le modèle numérique discrétise le domaine en de petits éléments de telle sorte qu'une solution approchée peut être obtenue. On se tournera généralement vers des méthodes de Galerkin du type éléments aux limites (BEM), différences finies (FDM) ou éléments finis (FEM) pour une résolution numérique. Un logiciel opensource, *Eidors*, permet ce type de simulation. Dans cette configuration, une hypothèse forte qui consiste à utiliser une modélisation 2D est faite.

Régularisation du problème : La résolution du problème inverse consiste à calculer la distribution de résistivité lorsque le courant injecté est connu et les tensions sont mesurées au niveau des électrodes. Le problème inverse est lui « mal posé » : les solutions ne sont pas uniques, en raison de la nature des phénomènes physiques mis en jeu et du nombre limité d'informations. Pour obtenir une solution acceptable, le problème est régularisé. La régularisation fait référence à un processus consistant à ajouter de l'information à un problème pour éviter le surapprentissage. Cette information prend généralement la forme d'une pénalité envers la complexité du modèle. Ici, la régularisation se fait grâce à l'introduction d'informations *a priori* sur la solution : le processus pour résoudre le problème inverse consiste ici à trouver une valeur stable de ρ , de telle sorte que la différence entre les simulations numériques du potentiel $U(\rho)$ et la tension U mesurée est minimale :

$$\min_{\rho} ||U - U(\rho)||. \quad (2.14)$$

Le type de régularisation le plus utilisé en EIT, et plus généralement pour la résolution de problèmes qui ne sont pas bien posés ainsi que pour les problèmes inverses, est la régularisation de Tikhonov. Dans le but de privilégier une solution particulière dotée de propriétés qui semblent pertinentes, le terme de régularisation est introduit dans la minimisation. Cette méthode de régularisation permet d'améliorer le conditionnement du problème inverse.

Résolution du problème : Le type de résolution du problème de l'EIT dépend principalement des performances souhaitées en termes de vitesse et de précision. Différents auteurs présentent des travaux donnant de bonnes performances statiques, c'est à dire en termes de convergence et erreur résiduelle. Ces méthodes peuvent être basées sur un algorithme de Newton-Raphson modifié¹⁰⁰, un algorithme de rétroprojection¹⁰¹, une méthode variationnelle¹⁰², une approche maximale a posteriori¹⁰³, une méthode d'échantillonnage Monte Carlo¹⁰⁴, un algorithme de reconstruction directe¹⁰⁵ ou encore sur un algorithme de Gauss-Newton⁹⁹. Tous ces algorithmes de reconstruction utilisent un ensemble complet de mesures indépendantes afin d'obtenir une image.

En revanche lorsque de bonnes performances dynamiques sont souhaitées, ces méthodes s'avèrent peu efficaces. Une approche pour surmonter le problème de vitesse consiste à utiliser des fenêtres temporelles plus courtes dans la mesure des tensions. Toutefois, deux inconvénients doivent être considérés pour conserver des performances acceptables :

- Cela augmente le niveau de bruit des mesures,
- Les distributions d'impédance ne sont généralement pas statistiquement indépendantes.

Concernant les distributions d'impédance, il ne serait pas approprié de considérer chaque reconstruction séparément, puisque si les reconstructions successives sont réalisées indépendamment, des informations séquentielles temporelles sont perdues. Ainsi, une solution proposée¹⁰⁶ pour diminuer le temps de calcul est de se baser sur un modèle dynamique, intégré dans un filtre de Kalman (standard). Le filtre de Kalman est un outil faisant partie de la catégorie des observateurs d'état, permettant d'estimer un ou plusieurs paramètres à partir de la connaissance d'une autre grandeur. Ce type d'outil sera décrit dans la section suivante. Grâce au modèle d'état, représentatif de la dynamique supposée du système, la corrélation entre deux états successifs est prise en compte. La résistivité, en chaque point, est ré-estimée après obtention du jeu de mesures de tensions pour *chaque* injection de courant. La vitesse d'estimation est ainsi grandement augmentée (31 fois supérieure pour un dispositif comportant 32 électrodes). De plus l'utilisation du filtre de Kalman permet de minimiser l'influence des perturbations grâce à une prise en compte de données statistiques sur le bruit de mesure et sur les perturbations.

Une contribution ultérieure exploite un EKF (*Extended Kalman Filter*, variante non-linéaire du filtre de Kalman dit « standard ») afin d'améliorer les performances de reconstruction. La justification du choix de l'EKF au lieu du filtre de Kalman standard est que l'EKF présente de meilleures performances de reconstruction, en particulier dans les situations où la distribution de la résistivité change fortement par rapport à l'état de linéarisation supposé. L'amélioration est obtenue au détriment d'une charge de calcul légèrement accrue qui est due à la mise à jour des tensions d'électrodes et de la matrice Jacobienne pour chaque itération. L'auteur intègre également un état augmenté auquel il associe une régularisation de Tikhonov afin de tenir compte du caractère « mal-posé » du problème. La cartographie de résistivité peut alors être reconstruite comme présenté Figure 2.11. L'objet en surface du liquide modifie les lignes de champ électrique dans le milieu, et ainsi sa présence est détectée par le système.

2.3.3/ Conclusion

La tomographie d'impédance est donc une méthode permettant d'obtenir des informations sur les propriétés électriques d'un milieu en exploitant un grand nombre de mesures. Contrairement à la spectroscopie d'impédance, elle ne se base pas sur un modèle électrique donné de l'échantillon. De l'absence de ces hypothèses, et en raison du grand nombre d'informations que l'on souhaite obtenir (le potentiel électrique en chaque point du maillage), naissent toutefois des difficultés de résolution, notamment dues au caractère mal posé du problème. La tomographie exploite différents outils permettant la résolution du problème inverse : l'utilisation d'observateurs d'état pour la reconstruction dynamique à partir de plusieurs capteurs et d'outils pour améliorer le conditionnement. Tandis que la tomographie a pour objectif de reconstruire la résistivité d'un milieu dans son intégralité, notre objectif, la mesure de position d'une cellule dans une puce microfluidique par impédancemétrie se base sur les hypothèses de l'homogénéité du milieu liquide et de la cellule.

La synthèse d'un observateur de la position d'un objet est donc un sous-problème de celui de la tomographie : on souhaite connaître le barycentre des points dont la résistivité est très différente de celle du reste du milieu. Les outils utilisés en tomographie apparaissent alors a priori comme

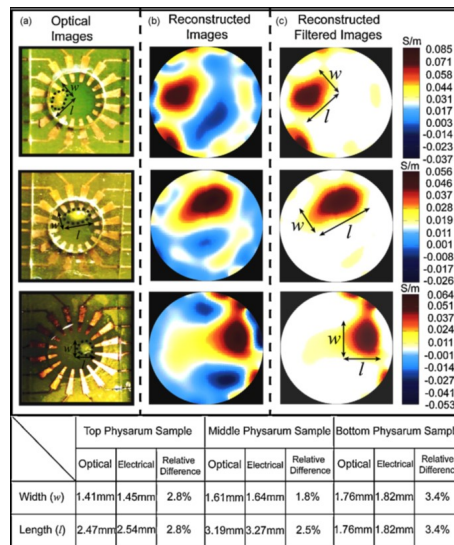


FIGURE 2.11 Tomographie d'impédance électrique sur puce. **(a)** Des images optiques de Physarum polycephalum sur le gel d'agar dans les puces de tomographie, **(b)** Des images reconstruites correspondantes. La cellule de Physarum est plus conductrice que le gel d'agar, et est représentée plus brillante (rouge) dans les images reconstruites. **(c)** Le bruit est éliminé par filtrage des régions de faible conductivité.

transposables à la mesure de position d'une cellule. La moindre quantité d'information requise, induite par les hypothèses d'homogénéité des éléments constitutifs du capteur, permet de plus d'envisager une dynamique de la mesure plus importante grâce à une charge de calcul plus faible.

2.4/ L'observation d'état

Lorsque l'état d'un système n'est pas directement mesurable, il est possible d'utiliser un observateur d'état (ou estimateur d'état) qui permet d'en donner une estimation à partir d'un modèle du système dynamique et des mesures d'autres grandeurs physiques. Afin d'alléger le contenu dans les parties suivantes, le tableau 2.1 référence diverses définitions auxquelles il sera possible de se référer par la suite.

2.4.1/ Principe

Un observateur d'état est une extension d'un modèle représenté sous forme de représentation d'état. Le problème d'estimation d'état peut être interprété comme l'estimation des états x d'un système dynamique décrit par un système d'équations différentielles du premier ordre :

$$\dot{x} = f(x, t) \quad \text{Equation d'état} \quad (2.15)$$

$$y = h(x, t) \quad \text{Equation d'observation} \quad (2.16)$$

où y est le vecteur des mesures. La première équation (2.15) est généralement définie comme étant l'équation d'état, et décrit la dynamique du système. La seconde (2.16), l'équation d'observation, relie l'état que l'on souhaite estimer à la ou les grandeurs qui sont mesurées.

Notations		
Notation	Description	Ensemble
x, x_k	Vecteur d'état réel (inconnu), notation continue et discrète	$\mathbb{R}^m$
$\hat{x}^-, \hat{x}_k^-$	Vecteur d'état estimé prédit, notation continue et discrète	$\mathbb{R}^m$
$\hat{x}, \hat{x}_k$	Vecteur d'état estimé corrigé, notation continue et discrète	$\mathbb{R}^m$
y, y_k	Vecteur des mesures, notation continue et discrète	$\mathbb{R}^n$
$\hat{y}, \hat{y}_k$	Vecteur des mesures estimées, notation continue et discrète	$\mathbb{R}^n$
u, u_k	Vecteur des consignes d'actionnement, notation continue et discrète	$\mathbb{R}^m$
v, v_k	Bruit de mesure, notation continue et discrète	$\mathbb{R}^n$
w, w_k	Bruit d'état (perturbation), notation continue et discrète	$\mathbb{R}^m$
L	Gain de l'observateur en boucle fermée	$\mathbb{R}^{m \times n}$
A	Matrice de transition d'état	$\mathbb{R}^{m \times m}$
B	Matrice de gain de l'actionnement	$\mathbb{R}^{m \times m}$
C	Matrice de passage état $\rightarrow$ mesure	$\mathbb{R}^{n \times m}$
$\mathbb{E}$	Espérance mathématique	$\mathbb{R}^{i \times j} \rightarrow \mathbb{R}^{i \times j},$ $(i,j) \in \mathbb{N}^{*2}$

TABLE 2.1 Résumé des principaux paramètres intervenant dans l'observation d'état.

Plusieurs auteurs ont travaillé à donner une solution à ce problème pour les cas linéaire et non linéaire, et les catégories et variantes d'observateurs sont nombreuses tant la diversité des cas applicatifs est importante. On peut citer notamment les observateurs ensemblistes¹⁰⁷, glissants¹⁰⁸, avec entrée inconnue¹⁰⁹, à correction proportionnelle-intégrale¹¹⁰, centralisés/décentralisés/fédérés¹¹⁰, séquentiels, adaptatifs¹¹¹, particuliers¹¹²... Des documents très complets sont disponibles dans la littérature pour une description plus complète et plus détaillée du domaine de l'observation d'état^{113,114}. La suite de ce chapitre présente les observateurs qui seront utilisés dans nos travaux.

2.4.2/ Cadre applicatif

L'utilisation des observateurs d'état est très répandue à l'heure actuelle, et concerne des cadres applicatifs très diversifiés. Il ne serait en aucun cas question ici d'en donner une description détaillée tant le domaine est vaste, mais plus simplement d'en donner des exemples illustratifs mettant en avant les performances et avantages de tels outils. On pourra par exemple citer des domaines aussi disparates que la chimie^{115,116}, la communication^{117,118}, les procédures médicales¹¹⁹ ou encore le transport de chaleur^{120,121}. Mais le principal cadre applicatif des observateurs de Kalman est très certainement la géolocalisation¹²²⁻¹²⁴. Aucun capteur ne peut à lui seul fournir une information précise en toute situation pour localiser un engin. Les capteurs embarqués ne fournissent qu'une information relative concernant la dynamique, cumulant l'erreur. La localisation GPS permet quant à elle de donner une estimation de la position absolue de l'engin, mais nécessite la fusion de données issues de plusieurs satellites, potentiellement bruitées ou indisponibles à un instant donné. L'utilisation des filtres de Kalman offre ainsi une solution pour la localisation continue en temps réel. Les données issues des différents organes sensoriels sont fusionnées, en tenant compte de données statistiques sur le bruit venant perturber les mesures.

2.4.3/ Les filtres de Kalman

Les filtres de Kalman¹²⁵ sont des observateurs très couramment utilisés pour leur simplicité d'implémentation ainsi que pour leurs performances.

Leur intérêt réside principalement dans le fait que :

- ils permettent de fusionner les données issues de plusieurs capteurs,
- ils tiennent compte des perturbations agissant sur le système étudié,
- ils peuvent souvent être utilisés pour des applications en temps-réel.

Les filtres de Kalman fournissent une estimation optimale sous l'hypothèse que les perturbations sont stochastiques, de moyenne nulle, et gaussiennes (sans corrélation temporelle) avec des covariances de bruit d'entrée et de sortie connues. Si ces hypothèses sont remplies, le filtre minimise la norme 2 de l'erreur d'estimation.

Les filtres de Kalman sont des observateurs dits *Observateurs à boucle fermée* ou encore *Observateurs basés sur les entrées et sorties*¹²⁶. Le diagramme donné Figure 2.12 donne un aperçu global de la structure de tels observateurs. Leur fonctionnement consiste en deux étapes récurrentes visant à fournir une estimation d'un état x . Ces deux étapes récurrentes, qui supposent une estimation initiale de l'état $\hat{x}_0$, sont réitérées à chaque fois qu'une nouvelle mesure est disponible.

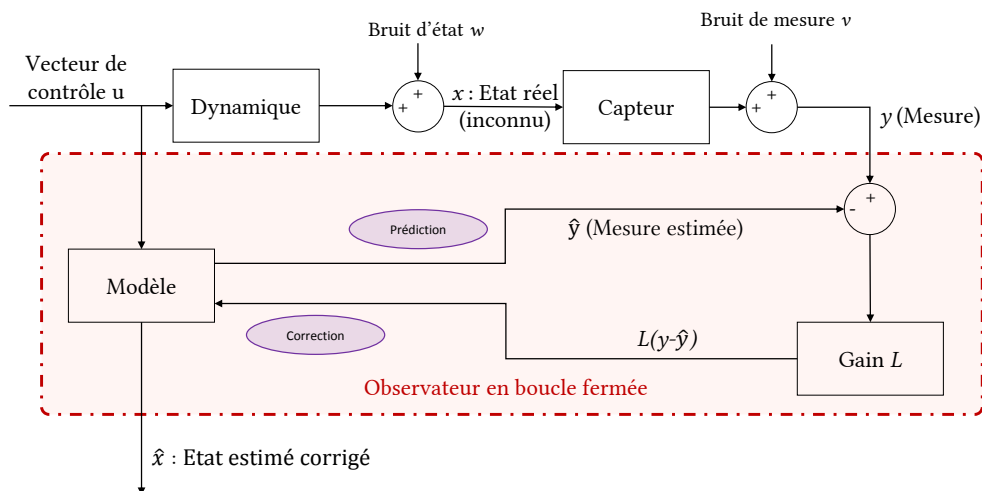


FIGURE 2.12 Structure d'un observateur d'état à boucle fermée et principe d'utilisation pour l'estimation d'un vecteur d'état.

Etape de prédiction

La première est une étape de prédiction dans laquelle une estimation de l'état est fournie, en ne considérant que le modèle de la dynamique du système étudié. L'étape de prédiction dépend exclusivement de l'état précédent et du modèle d'état. Aucune donnée sensorielle ne permet de compenser une erreur ou une perturbation au niveau du modèle d'état. Cette tâche incombe à l'étape de correction.

Etape de correction

Lorsqu'un nouveau vecteur de mesures y est fourni par la partie sensorielle, il est possible de l'introduire dans le processus de correction. Associée au modèle d'observation, il est possible de

corriger l'état prédit afin d'obtenir l'état corrigé $\hat{x}$. La correction se fait proportionnellement à l'erreur $(y - \hat{y})$ entre la mesure réelle et la mesure estimée, avec un gain L .

Afin d'alléger la description des différentes techniques, par la suite seuls les filtres à temps discret seront détaillés. Ce choix est justifié par le fait que ce type de filtre sera utilisé puisque la période d'échantillonnage de l'instrumentation ne permet pas de se placer sous l'hypothèse de temps continu.

Le filtre de Kalman simple/étendu

Cas linéaire :

La formulation du problème pour le filtre de Kalman dans le cas linéaire (dit Filtre de Kalman « standard ») s'écrit sous la forme suivante :

$$x_k = A_k x_{k-1} + B_k u_k + w_{k-1} \quad \text{Equation d'état} \quad (2.17)$$

$$y_k = C_k x_k + v_k \quad \text{Equation d'observation} \quad (2.18)$$

$$Q = \text{cov}(w_{(0,Q)}) \quad \text{Matrice de covariance des perturbations} \quad (2.19)$$

$$R = \text{cov}(v_{(0,R)}) \quad \text{Matrice de covariance du bruit de mesure} \quad (2.20)$$

où A est la matrice de transition d'état, B le gain d'actionnement, u le vecteur d'actionnement, C la matrice liant le vecteur des mesures au vecteur d'état, v et w sont respectivement le bruit de mesure et les perturbations du modèle d'état.

Cas non linéaire :

Le filtre de Kalman étendu¹²⁷ (connu sous sa dénomination anglophone, « Extended Kalman Filter » (EKF)), est régi par des équations similaires. Il est utilisé lorsque le problème d'observation n'est pas linéaire. La nouvelle formulation du problème d'observation pour des fonctions sur lesquelles aucune hypothèse de linéarité n'est faite est :

$$x_{k+1} = f(x_k, u_k) + w_k \quad \text{Equation d'état} \quad (2.21)$$

$$y_k = h(x_k) + v_k \quad \text{Equation d'observation} \quad (2.22)$$

où f est la fonction d'état et h la fonction d'observation.

Suite à cette nouvelle formulation, la nouvelle méthodologie consiste à linéariser le ou les modèles qui ne sont pas linéaires autour du point d'intérêt à l'aide d'un développement en série de Taylor à l'ordre 1. Ainsi le système, décrit pour le cas linéaire à l'aide des matrices A et C , l'est désormais à l'aide des matrices jacobienes J_f et J_h .

L'approche de linéarisation de l'EKF conduit à une précision de premier ordre. Il s'agit d'un observateur non linéaire très performant en termes de temps de calcul. Un autre filtre, le Unscented Kalman Filter (UKF), peut également s'avérer approprié pour le cas non linéaire. Cependant les temps de calculs sont généralement rallongés de 20 % environ.

2.4.4/ Principe d'utilisation et réglages du EKF

Le EKF a pour fonction de donner une solution au problème d'observation formulé précédemment (Equations 2.21 → 2.22). L'algorithme page 39 donne en détail la formulation analytique de cette solution. En premier lieu, diverses données doivent être fournies par l'utilisateur :

- Le modèle d'état et le modèle d'observation
 Ceux-ci sont respectivement représentés par les fonctions f et h données plus haut. La détermination de ces fonctions peut se faire de manière analytique ou expérimentale. Une formulation analytique présente l'avantage d'être continue mais peut être source d'erreurs de modèles qui peuvent potentiellement amoindrir les performances de l'observateur, particulièrement au niveau du modèle d'observation. Par exemple, la formulation de f peut se faire à partir de la deuxième loi de Newton pour un problème de dynamique du solide, de la loi de Fourier pour un problème de conduction thermique... Déterminer expérimentalement f et h peut être plus contraignant car de nouvelles mesures doivent être faites si un seul des paramètres expérimentaux vient à changer. Le modèle est cependant généralement plus fiable. Déterminer expérimentalement ces fonctions consiste à étalonner le système. Cette étape peut être menée à bien à l'aide d'un capteur externe. Ce dernier fournit une mesure de l'état, supposée parfaite. Ainsi la relation mesurée entre deux états permet d'aboutir à un modèle expérimental d'état, tandis que la relation état-mesure donne le modèle d'observation.
- Détermination des matrices de covariance du bruit Q et R
 Les matrices Q et R sont les matrices de covariance du bruit d'état (perturbations) et du bruit de mesure sur la partie sensorielle. Choisir correctement les valeurs des composantes de ces matrices est essentiel, car c'est par celles-ci que les réglages du filtre sont effectués. Une covariance de bruit importante implique que le bruit a une influence notable. En conséquence le modèle associé est considéré comme peu fiable. À l'inverse un modèle associé à une covariance de bruit faible sera considéré comme très fiable. Concrètement, ces matrices permettent de pondérer les modèles en fonction de leur fiabilité. Les matrices Q et R sont diagonales si les bruits ne sont pas corrélés entre eux. Si le bruit est mesurable, il est possible d'en extraire les caractéristiques lors de la phase d'étalonnage. Une alternative consiste à déterminer expérimentalement un jeu de « bons » paramètres lorsque le bruit n'est pas mesurable. Des techniques plus avancées sont décrites dans la littérature^{128,129}. Les méthodes décrites dans ces articles se basent sur une transformation du vecteur d'état estimé vers un espace dans lequel la base sépare les directions de variance finie et de variance infinie. Enfin, si les caractéristiques du bruit viennent à changer durant l'expérimentation, il est possible de faire varier les matrices Q et R , il s'agit alors d'un filtrage adaptatif.
- Initialisation de l'état et de la covariance
 Le EKF est basé sur des équations de récurrence, qui doivent être initialisées. L'étape d'initialisation est importante, voire cruciale pour la convergence du filtre lorsque les équations ne sont pas linéaires. Lors de cette étape, l'état et la covariance doivent être donnés en entrée de l'algorithme par l'application de l'espérance mathématique. D'une manière plus concrète, il s'agit de les déterminer à partir de la connaissance que l'on a *a priori* du système. Pour estimer ces paramètres, il est possible de se référer à la littérature^{130,131}.

Une fois ces étapes terminées, il est alors possible de lancer l'algorithme.

La phase de prédiction est menée à bien à l'aide du modèle dynamique ainsi que des réglages inhérents à la matrice Q . La phase de correction intervient lorsque le vecteur des mesures est disponible. Le gain de Kalman est calculé grâce au modèle d'observation et aux réglages inhérents à la matrice R . Celui-ci sert de gain proportionnel appliqué à l'erreur entre la mesure réelle et la

Algorithm 1 Algorithme du filtre de Kalman étendu

Initialisation :

 $k = 0$;

$$\hat{x}_0 = \mathbb{E}[x_0] \quad \text{Etat initial} \quad (2.23)$$

$$P_0 = \mathbb{E}[(x_0 - \hat{x}_0)(x_0 - \hat{x}_0)^T] \quad \text{Covariance initiale} \quad (2.24)$$

Pour $k \in \{1, \dots, \infty\}$ $k = k + 1$;

Prédiction :

$$\hat{x}_k^- = f(\hat{x}_{k-1}, u_{k-1}) \quad \text{Etat estimé prédit} \quad (2.25)$$

$$P_k^- = J_f(\hat{x}_k^-) P_{k-1} J_f(\hat{x}_k^-)^T + Q \quad \text{Covariance estimée prédite} \quad (2.26)$$

Correction :

$$\hat{x}_k = \hat{x}_{k-1} + K_k(y_k - \hat{y}_k) \quad \text{Etat estimé corrigé} \quad (2.27)$$

$$P_k = (I - K_k J_h(\hat{x}_k^-)) P_{k-1} \quad \text{Covariance estimée corrigée} \quad (2.28)$$

$$\hat{y}_k = h(\hat{x}_k^-) \quad \text{Mesure estimée} \quad (2.29)$$

$$S_k = J_h(\hat{x}_k^-) P_{k-1} J_h(\hat{x}_k^-)^T + R \quad \text{Covariance de l'innovation} \quad (2.30)$$

$$K_k = P_{k-1} J_h(\hat{x}_k^-)^T S_k^{-1} \quad \text{Gain de Kalman} \quad (2.31)$$

avec

$$J_f = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1} & \frac{\partial f_1}{\partial x_2} & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial x_m} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_m}{\partial x_1} & \frac{\partial f_m}{\partial x_2} & \dots & \frac{\partial f_m}{\partial x_m} \end{bmatrix} \quad \text{Jacobienne de la fonction } f \quad (2.32)$$

$$J_h = \begin{bmatrix} \frac{\partial h_1}{\partial x_1} & \frac{\partial h_1}{\partial x_2} & \dots & \frac{\partial h_1}{\partial x_m} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial h_n}{\partial x_1} & \frac{\partial h_n}{\partial x_2} & \dots & \frac{\partial h_n}{\partial x_m} \end{bmatrix} \quad \text{Jacobienne de la fonction } h \quad (2.33)$$

mesure estimée. Enfin, il est à noter que pour le cas du EKF la non linéarité est surmontée grâce à un procédé de linéarisation des fonctions f et h à l'ordre 1, par le calcul de leur jacobienne respective J_f et J_h .

Cette section a décrit la méthodologie classique de résolution du problème d'observation à l'aide du filtre de Kalman étendu. La littérature mentionne également en grande quantité des variantes du filtre en vue d'en optimiser les performances pour des cas particuliers, qu'il s'agisse de la précision des estimations ou du temps de calcul. Il est question ici d'en citer une, qui peut être utile au cadre applicatif de ce travail de thèse, celle-ci concerne la réduction du temps de calcul.

Le temps de calcul pour l'application d'un filtre de Kalman est relativement faible dans le cas où peu de variables sont utilisées. Toutefois, certains cas applicatifs nécessitent de fusionner des données fournissant une information partielle ou peu fiable issue de plusieurs capteurs. Dans ce cas la complexité algorithmique croît en fonction de la dimension du vecteur des mesures, pouvant induire des temps de calculs importants, notamment durant l'étape d'inversion de la matrice de covariance de l'innovation pour le calcul du gain de Kalman (voir Eq.2.31). Plusieurs solutions

pour gérer la fusion de données multi-capteurs sont données dans la littérature¹³², dont deux sont décrites ici.

La première solution consiste à utiliser un filtrage décentralisé¹³³. Le filtre Kalman standard est divisé en un ou plusieurs filtres locaux dédiés aux capteurs et un filtre maître. Sur le plan opérationnel, les filtres locaux fonctionnent en parallèle et leurs solutions sont périodiquement fusionnées par le filtre maître, ce qui donne une solution globale. Le résultat final est que la charge de calcul peut être considérablement réduite par cette technique. Les résultats peuvent toutefois être localement sous-optimaux, mais globalement optimaux.

La seconde solution pour réduire le temps de calcul peut être d'utiliser une logique floue¹³⁴. Le principe est assez intuitif, et consiste à pondérer la valeur estimée des informations fournies par les différents capteurs. Ainsi un choix peut être fait notamment sur les capteurs qui seront utilisés à l'itération suivante pour l'estimation.

Ces deux techniques peuvent également être utilisées simultanément.

2.5/ Conclusion

Ce chapitre présente un état de l'art des principales thématiques qui seront utiles à cette thèse. La spectroscopie d'impédance, la tomographie et l'observation d'état ont été abordées.

La spectroscopie d'impédance électrique s'attache à la caractérisation de cellules et peut être appliquée pour définir les propriétés de cellules individuelles en temps réel circulant dans une puce fluide.

La tomographie d'impédance électrique a pour finalité de reconstruire une image de la résistivité d'un milieu. Elle permet donc de définir la position d'objets possédant une résistivité différente de celle du milieu, ce qui correspond au besoin de détection de position. Cependant, contrairement à la spectroscopie d'impédance électrique, elle n'est à ce jour pas utilisée dans le micromonde. De plus, elle est basée sur des mesures effectuées sur un grand nombre d'électrodes, à différentes fréquences. Elle n'est donc pas directement applicable pour la mesure en temps réel de position. Il convient de noter que cette approche utilise des techniques de fusion de données pour l'estimation.

Enfin, les techniques classiques de fusion de données ont été abordées. En particulier les filtres de Kalman, largement utilisés en tomographie d'impédance, ont été présentés pour des systèmes non linéaires à temps discret.

En résumé, la littérature concernant les trois thématiques abordées apporte :

- des outils méthodologiques et techniques pour la conception de puces microfluidiques qui pourront être issus des travaux portant sur la spectroscopie d'impédance,
- une méthode de détection mise en application à l'échelle macroscopique, qui présente de bonnes performances en termes de précision, mais qui n'est pas en l'état exploitable pour une détection à haute cadence dans des puces fluidiques,
- des connaissances sur les observateurs d'état et de leur utilisation.

La mesure d'impédance couplée à un observateur d'état semble donc une solution prometteuse pour effectuer une estimation de la position d'une cellule dans une puce fluide en temps réel. Nous pourrions nous appuyer sur les développements réalisés pour la spectroscopie d'impédance et la tomographie. Cependant aucune de ces deux approches ne peut être directement appliquée. Le reste de cette thèse a donc pour but de concevoir et fabriquer un système de détection de

position par mesure d'impédance, de le caractériser et d'apporter une preuve de concept de la faisabilité de cette approche.

Chapitre 3

Conception et fabrication d'une plateforme pour la détection de position par impédancemétrie

Les chapitres précédents ont montré l'opportunité d'utiliser des champs électriques pour fournir à la fois un système d'actionnement et une mesure locale au sein d'une puce fluidique. Dans ce chapitre, l'objectif est de développer une plateforme expérimentale permettant la détection de position en temps réel d'objets biologiques au sein d'une puce fluidique par impédancemétrie. Cette plateforme comprend à la fois la partie capteur, au contact d'objets micrométriques, et la partie instrumentation et communication avec l'ordinateur de commande qui est elle macroscopique. Ce chapitre mettra en évidence les problématiques liées à ce changement d'échelle. L'ensemble des fonctionnalités nécessaires à la réalisation de cette détection de position sera présenté dans ce chapitre, et la conception et la fabrication des différents éléments, ainsi que leurs connexions respectives, seront étudiées. La plateforme développée devra permettre de mesurer la variation d'impédance en temps réel liée au passage d'une bille dans une puce fluidique. Les signaux d'impédance seront ensuite traités au Chapitre 4, et interprétés en mesure de position au Chapitre 5.

3.1/ Etude fonctionnelle de la plateforme de détection de position par impédancemétrie

Cette section a pour but de présenter une description fonctionnelle d'une plateforme de détection de position par impédancemétrie. La fonction de cette plateforme est de fournir un support matériel capable d'effectuer des mesures d'impédance reproductibles lorsqu'une particule microscopique se trouve dans la zone de détection. Ces données pourront ensuite être traitées puis interprétées pour fournir une mesure de position par impédancemétrie dans des puces microfluidiques. Le tableau Figure 3.1 résume les différentes spécifications fonctionnelles qui doivent être respectées pour développer cette plateforme.

En premier lieu, un environnement de test doit être défini. Cet environnement doit autant que possible être représentatif des conditions de manipulation d'objets biologiques tout en permettant des mesures simples et reproductibles en temps-réel.

La position des particules doit pouvoir y être contrôlée, depuis la zone d'injection et jusque dans la

Plateforme expérimentale	Environnement de test	Déplacement des objets	Mesure de position	Récupération des signaux
Conception	- Choix du milieu - Choix des objets - Analyse individuelle	- Choix des méthodes d'actionnement - Conception des actionneurs - Contraintes : longue distance de trajet, précision, immobilisation Sec. 3.3	- Choix de la technologie - Conception de capteurs - Contraintes : Nécessité d'une mesure de référence, compatibilité temps-réel Sec. 3.4	- Architecture électronique / cartes - Contraintes : compatibilité temps-réel
Fabrication	Dilution / préparation Sec. 3.2	- Fabrication des actionneurs - Alimentation / contrôle de l'actionnement Sec. 3.5	Mise en place des capteurs / traitement des signaux	Cartes électroniques / câblage Sec. 3.6

FIGURE 3.1 Diagramme décrivant les points clés de développement de la plateforme expérimentale.

zone de détection. Le contrôle se situe à plusieurs niveaux. D'une part il doit permettre d'acheminer les objets sur de longues distances vers la zone de détection, et d'autre part il doit permettre le positionnement d'une particule de manière précise dans la zone de détection.

La plateforme doit aussi intégrer les outils de détection nécessaires à la détection de position par impédancemétrie et à l'étalonnage de ce capteur.

Enfin, les signaux correspondants aux mesures d'impédance et au contrôle du système devront respectivement être envoyés à un PC de commande et reçus de ce PC.

Ce chapitre abordera donc la conception et la fabrication de l'ensemble des éléments relatifs à la réalisation de ces fonctionnalités dans les sections suivantes, comme détaillé dans la Figure 3.1.

3.2/ Environnement de test

Le but applicatif final de cette thèse est de fournir un outil de détection de position en temps réel de cellules biologiques, comme des lymphocytes, au sein d'une puce fluide. Il est cependant nécessaire en premier lieu de réaliser une plateforme expérimentale de test ayant pour vocation d'évaluer la faisabilité d'une telle approche et d'étudier les performances de la détection de position par impédancemétrie. Pour ceci, il est nécessaire de réaliser un grand nombre de tests expérimentaux sur un système répétable. De manière à maîtriser au mieux les caractéristiques des objets traités pour réaliser cette étude de performances, dans la suite de ces travaux, des billes artificielles parfaitement calibrées seront utilisées. Cependant, la plateforme sera conçue et fabriquée pour une utilisation avec des cellules biologiques pour de la détection de position en temps réel. La biocompatibilité et l'équivalence de comportement avec celui d'une cellule (électrique, mécanique, résistance aux champs électriques...) seront prises en compte. De la même manière, pour valider l'approche dans des conditions contrôlées, l'environnement doit être tel que les particules arrivent une par une devant le capteur.

Comme mentionné dans le chapitre précédent, le modèle de Morgan énonce qu'à basses fréquences, la membrane cellulaire est équivalente à une capacité. Dans ces conditions, le com-

portement électrique d'une cellule est de type isolant. Une microbille composée d'un matériau polymère, de conductivité très faible, possède donc le même comportement électrique qu'une cellule de taille identique. L'utilisation de billes artificielles est donc un choix pertinent pour des essais. De plus, utiliser des billes calibrées garantit la reproductibilité des mesures puisque leurs caractéristiques, notamment leur taille, sont identiques, comme il est possible de le constater sur la Figure 3.2. En conséquence, dans ces travaux, nous utiliserons des billes isolantes en polystyrène. Les billes choisies sont de la marque Estapor et ont un diamètre $8.7\ \mu\text{m}$ avec une dispersion dimensionnelle négligeable.

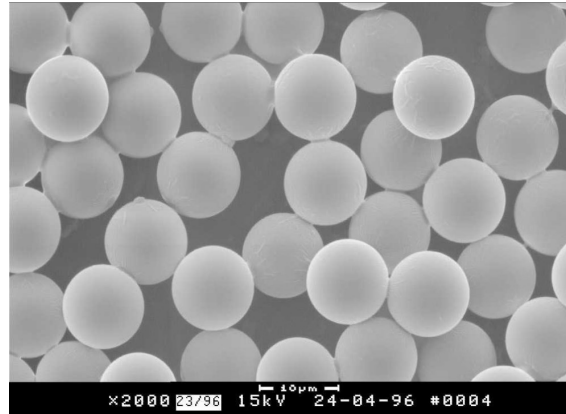


FIGURE 3.2 Image MEB (Microscope Electronique à Balayage) de microbilles (microParticles GmbH).

L'environnement des billes, qu'il s'agisse du liquide de transport ou des matériaux formant la puce, doit être pensé de manière à être biocompatible. Les milieux nutritifs généralement utilisés pour le transport des cellules, tels que le tampon phosphate salin, sont généralement composés en grande partie d'eau et de sels. Le tampon phosphate salin (souvent abrégé PBS, de l'anglais phosphate buffered saline) est une solution tampon couramment utilisée en biochimie. Il s'agit d'un soluté physiologique contenant du chlorure de sodium, du phosphate disodique, du phosphate monopotassique et un peu de chlorure de potassium. En général, la concentration de ces sels est celle du corps humain (isotonicité). Ce type de milieu sera reproduit en utilisant un mélange d'eau déionisée et de chlorure de sodium (Na^+ , Cl^-) comme liquide de transport. La proportion en sels est de l'ordre de quelques grammes par litre. Cette proportion aura une influence sur certaines mesures et sur l'actionnement, ce point sera abordé dans le chapitre suivant. La concentration en billes est approximativement de 10^6 par millilitre, la dilution se faisant à partir de la connaissance de la fraction volumique de polystyrène contenue dans l'objet initial.

3.3/ Conception de l'actionnement dédié au déplacement des billes dans la puce

Les billes contenues dans l'environnement doivent être déplacées de manière contrôlée au sein de la puce fluide. Plusieurs types de mouvements doivent être réalisés :

- des déplacements longue distance (quelques centimètres) avec une précision limitée,
- des déplacements précis et répétables au sein de la zone de mesure,
- des phases d'immobilisation.

Plusieurs principes physiques sont utilisables pour déplacer des billes. Parmi les plus courants se trouvent l'actionnement fluide, magnétique, optique, par ondes acoustiques, et par

diélectrophorèse. Comme cela a été décrit dans le Chapitre 1, l'actionnement fluide est particulièrement utile pour effectuer des grands déplacements, mais la précision du contrôle de position est limitée car le fluide possède une inertie importante. Les champs électriques, à travers la diélectrophorèse, sont largement utilisés pour le contrôle précis ou l'immobilisation d'objets dans des puces fluidiques. Cependant, le capteur de position est lui aussi basé sur l'utilisation de champs électriques, et ainsi des couplages peuvent apparaître. Une solution alternative pour la caractérisation, découplant totalement l'actionnement et la mesure, sera donc également proposée. Elle sera basée sur l'utilisation d'un micromanipulateur externe sur lequel sera fixé l'objet à déplacer. L'utilisation de cette solution sera limitée aux premières caractérisations du capteur puisqu'elle nécessite de travailler en milieu ouvert.

Les sections suivantes traiteront de la conception de ces actionneurs.

3.3.1/ L'actionnement longue distance

La fonction de l'actionnement longue distance est de permettre l'injection des objets contenus dans un milieu liquide depuis un conteneur de taille centimétrique jusque dans les canaux de la puce. Les objets sont généralement, pour ce type d'application, contenus dans des seringues, elles-mêmes reliées à un pousse-seringue, dont le débit est réglable, ou à un régulateur de pression. Ce type de matériel n'est pas assez précis pour permettre un positionnement précis des billes dans la puce, mais peuvent exercer des forces suffisantes pour les acheminer jusqu'à l'intérieur de la puce. Une instrumentation conventionnelle sera donc utilisée.

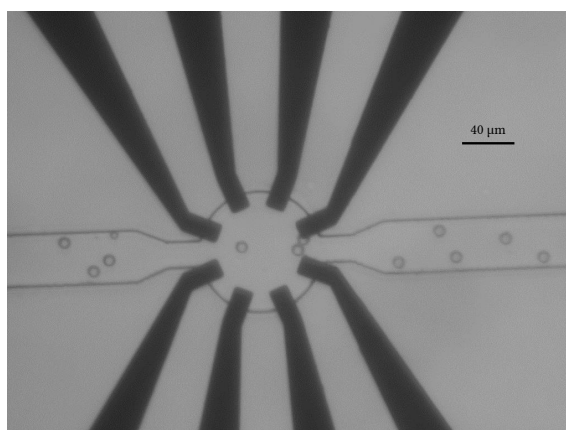


FIGURE 3.3 Photographie au microscope optique de microbilles injectées dans une puce à l'aide d'un liquide de transport. Les billes présentent une vitesse importante, ont une position longitudinale variable et peuvent éventuellement s'agglomérer ou sédimenter.

La Figure 3.3 est une photographie sous microscope optique de la zone d'intérêt d'une puce dans laquelle sont injectées des microbilles transportées ensuite par le fluide. Celle-ci met en évidence la dispersion des billes dans le canal et la nécessité d'un actionnement précis pour pouvoir obtenir des mesures à des positions contrôlées pour étalonner et évaluer le capteur de position proposé. La vitesse des billes le long de l'axe du canal peut être de plusieurs centaines de micromètres par seconde, et leur position dans la section est aléatoire.

3.3.2/ L'actionnement précis et répétable par diélectrophorèse

Comme mentionné dans l'état de l'art du Chapitre 2, la force de diélectrophorèse (DEP) fait référence au mouvement d'une particule polarisable soumise à un champ électrique non uniforme. L'amplitude de la force de DEP dépend de plusieurs paramètres, mais sa portée est généralement de l'ordre de la dizaine à la centaine de micromètres. Ces ordres de grandeur sont similaires à ceux de l'impédancemétrie comme il sera décrit plus loin. De plus, les cellules sont des sphères polarisables qu'il est possible d'actionner précisément par DEP. Dans l'ensemble de ces travaux, nous nous placerons dans des conditions telles que la DEP soit négative, c'est-à-dire que la force est dirigée vers les zones de plus faible gradient de champ électrique.

Cette force sera utilisée afin d'améliorer la répétabilité du positionnement des billes, les piéger et contrôler précisément leur trajectoire. Deux types de puces seront développés dans le cadre de ces travaux : le premier pour la validation du concept sur la mesure de position selon une dimension, et un second pour la mesure de position dans le plan.

3.3.2.1/ Design d'électrodes pour le cas 1D

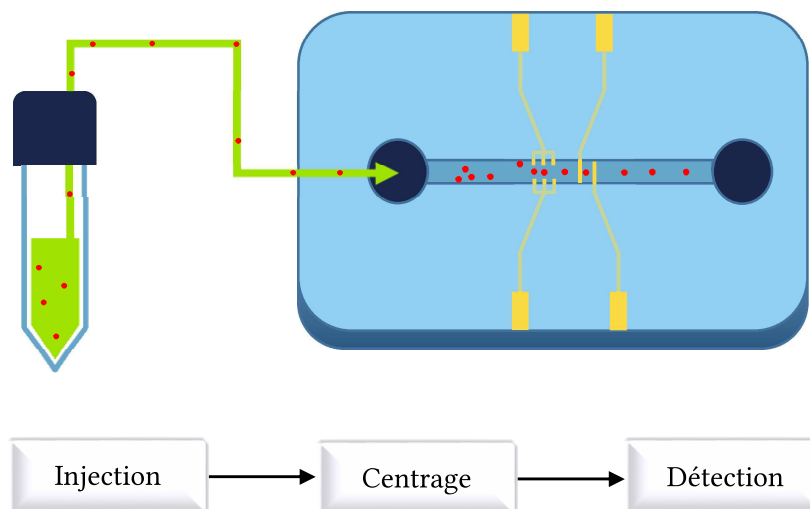


FIGURE 3.4 Schéma de principe illustrant la stratégie pour la détection en 1D. Plusieurs billes sont déplacées par le fluide et passent dans la zone de détection, détection se faisant selon l'axe du canal.

L'objectif est ici de valider la détection dans un cas à une dimension. Pour ce faire, des objets sont introduits dans la puce, et la détection se fait selon l'axe du canal, pour plusieurs objets. Pour ce cas les électrodes d'actionnement et de mesure sont clairement dissociées : les électrodes d'actionnement assurent la reproductibilité des mesures en assurant une fonction de guidage des billes, tandis que les électrodes de mesure, situées en aval dans le canal, servent uniquement à l'obtention de signaux pour l'estimation de position (Figure 3.4).

La fonction des électrodes d'actionnement est donc de positionner de manière répétable les objets, qui arrivent dans la puce dans des proportions et positions latérales et verticales aléatoires.

Pour obtenir des mesures d'impédance reproductibles, la position des billes dans le canal doit pouvoir être contrôlée. La détection se faisant selon l'axe du canal fluide, il est nécessaire de posi-

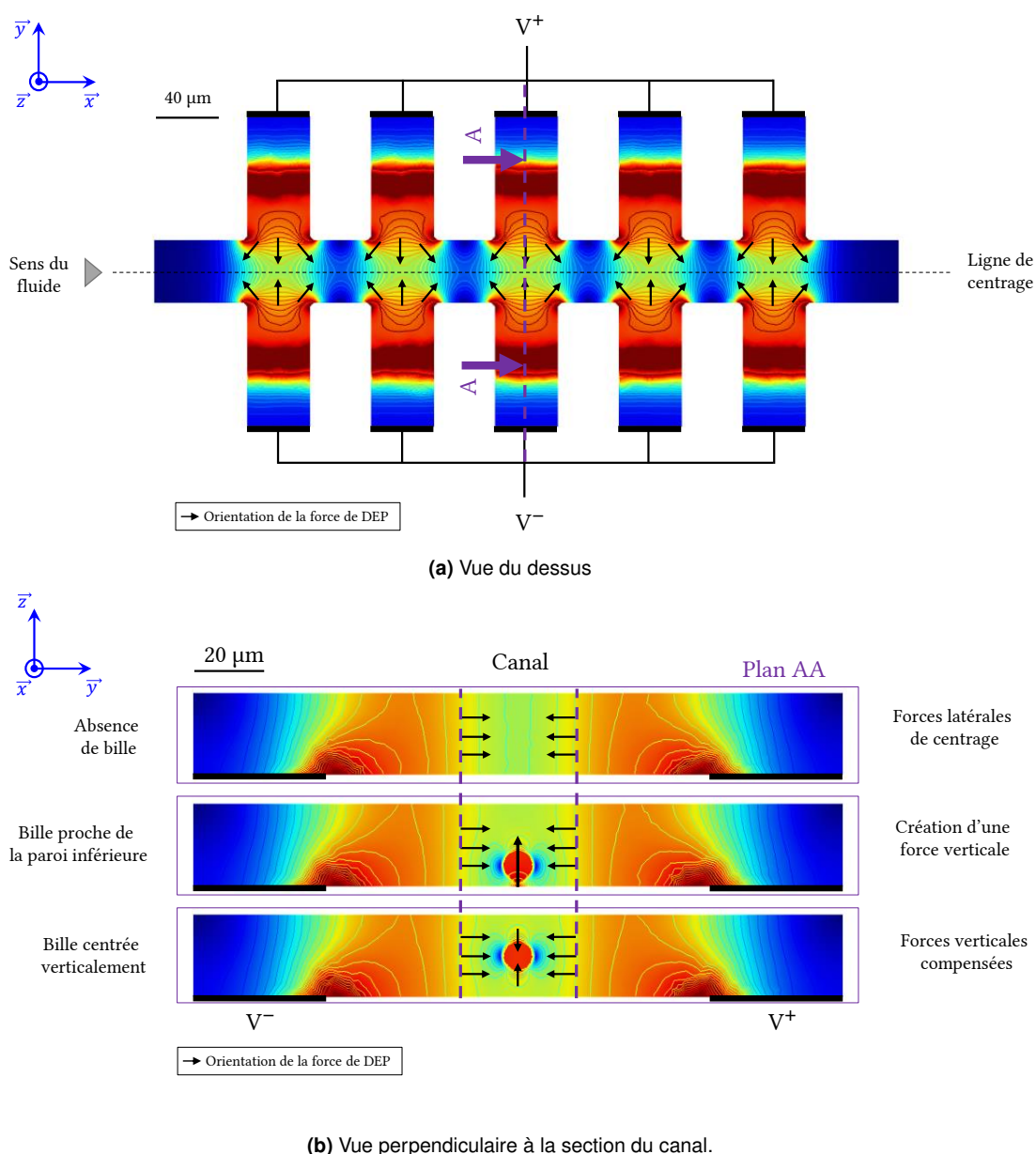


FIGURE 3.5 Simulation FEM à l'aide du logiciel Comsol de l'intensité du champ électrique dans le microcanal lorsqu'une bille isolante est présente alors que les électrodes de focalisation DEP sont activées. **(a)** Vue du dessus **(b)** Vue perpendiculaire à la section du canal.

tionner et guider les billes à une position fixe dans la section du canal, perpendiculaire à l'axe de détection. A cette fin, des électrodes de guidage exploitant la force de DEP peuvent être utilisées. Pour le cas où la position latérale doit être maîtrisée, le design d'électrodes développé par l'Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL) peut être exploité^{73,135}. Les électrodes utilisées sont des électrodes coplanaires fabriquées au fond de chambres situées sur les côtés du canal principal. Les parois isolantes et le plafond du canal guident les lignes de champ électrique dans le liquide dans le canal principal et déterminent la distribution du champ électrique. Des potentiels en opposition de phase sur les électrodes génèrent une force diélectrophorétique négative qui agit sur les billes et les focalise vers les régions de faible champ électrique. La Figure 3.5 montre l'intensité du champ électrique pour une microbille localisée entre les électrodes de guidage.

La force diélectrophorétique maintient les billes au centre de la largeur du canal (axe y) en raison du gradient de champ généré. Dans un canal microfluidique fermé diélectriquement à l'aide d'un substrat, le champ électrique vertical est homogène au centre du canal en l'absence de particule. La présence d'une particule de faible permittivité diélectrique interfère avec le champ électrique homogène vertical (axe z) généré par les électrodes. Le gradient de champ électrique induit est la source d'une force de diélectrophorèse verticale qui permet le contrôle de la position des billes selon l'axe z .

3.3.2.2/ Design d'électrodes pour le cas 2D

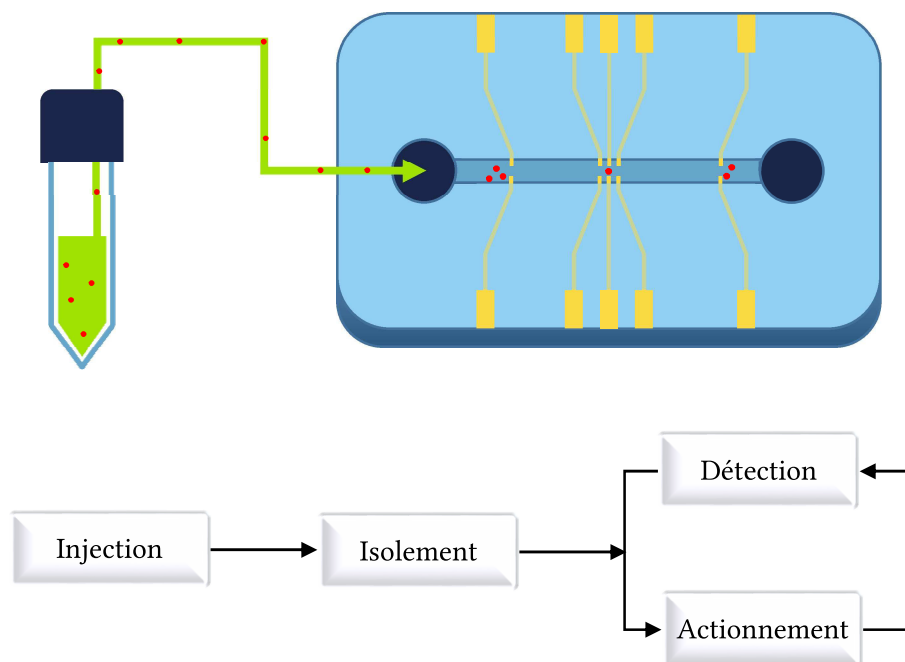


FIGURE 3.6 Schéma de principe illustrant la stratégie pour la détection en 2D.

L'objectif de cette section est de proposer un design d'électrodes pour l'étalonnage et la validation d'un capteur de position dans un plan. Ce cas présente plusieurs difficultés, notamment le fait que la quantité d'informations requise pour une détection fiable est a priori supérieure au cas à une dimension. Dans ces travaux, la stratégie retenue, comme illustré Figure 3.6 est (i) d'isoler une bille dans la zone de mesure et (ii) de parcourir la zone de détection avec cette bille pour réaliser un grand nombre de mesures d'impédance dans le plan à l'aide d'un contrôle actif. Cette stratégie a pour but, en plus de la détection, de poser les prémisses d'un objectif plus vaste de self-sensing, c'est à dire d'un contrôleur intégré dans lequel actionnement et détection se font à l'aide d'électrodes. Les contraintes associées seront discutées dans la partie étalonnage du capteur dans le chapitre suivant, ainsi que dans les perspectives de ces travaux.

Les deux défis de l'actionnement sont donc :

- **Piéger et isoler une bille d'étude**, ce qui nécessite de pouvoir contrer les forces exercées par le fluide. Les forces d'adhésion jouent également un rôle important puisque les billes peuvent adhérer aux parois, sans possibilité d'être séparées.

- **Contrôler de manière précise** la position d'une bille dans le plan afin d'étalonner un capteur par impédancemétrie, ce qui nécessite également une méthode d'actionnement spécifique.

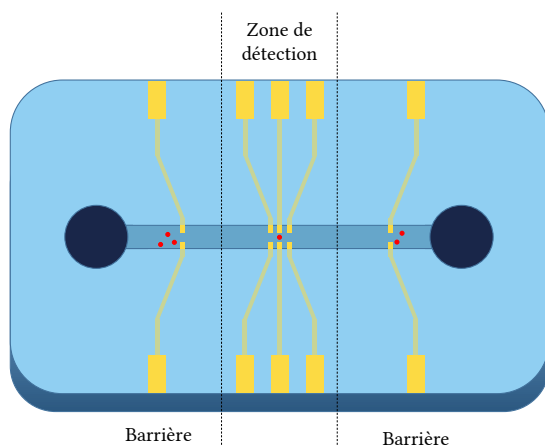


FIGURE 3.7 Principe d'isolement d'un objet.

Isolement d'une bille Pour garantir que seule une bille sera présente dans la zone de détection, des électrodes que l'on qualifiera de barrières seront insérées, comme présenté Figure 3.7. Les électrodes barrières sont deux électrodes parallèles placées perpendiculairement à l'axe du canal. La tension entre les électrodes, dont l'amplitude dépend des forces fluidiques à contrecarrer, est généralement de quelques volts pour les vitesses de fluide utilisées (de l'ordre de $100 \mu\text{m s}^{-1}$). Les potentiels sur les électrodes peuvent être fixés en opposition de phase. La tension ainsi fixée crée une force de DEP principalement orientée selon l'axe du canal et dans le sens opposé à celui de l'arrivée de l'objet. Les forces fluidiques sont contrées et l'objet ne peut entrer dans la zone si une autre bille y est déjà située pour son étude. Une tension de quelques Volts entre les électrodes permet de piéger une bille se déplaçant à une vitesse inférieure à 1 mm/s , et est donc suffisante dans ce contexte applicatif.

Piégeage et contrôle actif d'une bille Dans un canal microfluidique, les forces inertielles du fluide à l'origine du déplacement des billes sont difficiles voire impossibles à annuler de manière instantanée et, de plus, en l'absence de ces forces les billes sédimentent dans le canal. Un moyen efficace de stopper une bille dans un canal microfluidique est d'utiliser un piège par diélectrophorèse. Ce type de piège peut être activé ou désactivé instantanément lorsqu'un objet se trouve dans la zone d'intérêt.

Une fois l'objet piégé dans la zone d'intérêt, il faut être en mesure de contrôler sa position pour l'étalonnage. Une configuration circulaire de 4 électrodes permet de remplir ces deux fonctions (voir Figure 3.8a).

Le mode piège peut être activé en appliquant des potentiels en opposition de phase sur les 4 électrodes (voir Figure 3.8b). Un objet se trouvant dans cette zone trouve donc sa position d'équilibre en ce point. Tout comme pour les électrodes de centrage du cas 1D, la présence d'un objet dans la zone perturbe l'homogénéité du champ dans la structure. Ce type de piège, en plus de fixer la position d'une bille dans le plan, permet donc de faire varier son altitude et ainsi éviter la sédimentation.

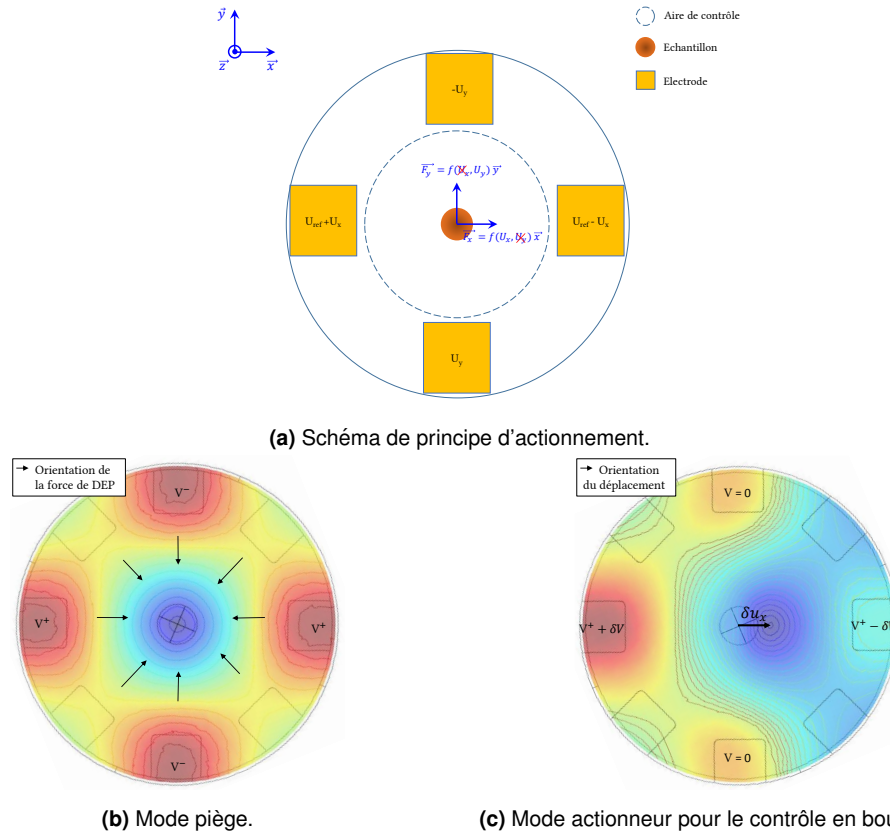


FIGURE 3.8 Représentation schématique de la méthode d'actionnement utilisée pour le déplacement d'une bille dans le plan et le contrôle de son altitude. **(a)** Les paramètres de contrôle U_x et U_y sont utilisés pour définir le potentiel sur quatre électrodes, permettant un déplacement des billes par force de DEP. Une hypothèse de déplacement indépendant selon les deux axes et de linéarité sont faites. **(b)** Mode piège : l'alternance de 4 potentiels en opposition de phase permet de maintenir l'objet au centre de la zone. **(c)** En mode actionnement, le minimum de champ électrique peut être fixé dans la zone afin d'y diriger l'objet par DEP négative.

La méthode d'actionnement pour contrôler la position d'une bille en deux dimensions est basée sur des travaux antérieurs⁷². 4 électrodes sont utilisées, sur lesquelles l'on fait varier l'amplitude du potentiel. La fréquence utilisée est constante et ici de 1 MHz afin de limiter les phénomènes de bullage dans les puces lors de l'actionnement. Brièvement, cela consiste à utiliser deux variables indépendantes U_x et U_y pour définir le potentiel appliqué sur quatre électrodes comme présenté dans la Figure 3.8c. Le fait de contrôler les variables U_x et U_y permet d'appliquer une force de DEP et ainsi de déplacer l'objet selon les deux axes. La configuration des électrodes ainsi que la relation entre les tensions appliquées crée un puits de potentiel, possédant un minimum local. La force de DEP étant proportionnelle au gradient du carré du champ électrique, cette technique permet de déplacer l'objet vers un point stable quelle que soit sa position dans la zone de contrôle. Le potentiel U_x est appliqué sur l'électrode gauche et $-U_x$ sur l'électrode droite pour déplacer la bille le long de l'axe x . La même méthode est utilisée pour un déplacement le long de l'axe y , en supposant qu'il n'y a pas de couplage entre les deux axes. Cette méthode originale de changement de variable permet de n'utiliser que deux grandeurs supposées indépendantes pour l'actionnement des objets, ce qui la rend très simple d'implémentation. Une régulation PI (proportionnelle-intégrale) basée sur une détection par vision peut être implémentée pour compenser les erreurs de modélisation. Cette détection externe sera utile uniquement lors des phases d'étalonnage et ne sera pas présente dans le cadre de l'application finale de détection de position intégrée.

Nous avons donc ici une méthode de contrôle actif dans le plan, par ailleurs exploitant un design d'électrodes identique à celui de la technique de piégeage évoquée plus haut.

3.3.3/ Actionnement en milieu ouvert pour le banc d'essai

Les solutions présentées ci dessus utilisant la diélectrophorèse pour l'étalonnage du capteur sont séduisantes, mais comme évoquées précédemment elles sont susceptibles d'induire des couplages entre la mesure et l'actionnement dans le cas de la détection dans le plan puisque les électrodes d'actionnement et de mesure sont colocalisées, et que les effets physiques sont identiques. Ces couplages pourront à l'avenir être pris en compte à l'aide d'un modèle, et annulés lors des phases d'étalonnage. Cependant, dans un premier temps, afin de mieux évaluer leurs effets il peut être pertinent de proposer une solution permettant de découpler totalement les effets d'actionnement et de mesure. Une solution alternative est proposée ici pour un dispositif en milieu ouvert.

Cette solution consiste à fixer une microbille à l'extrémité d'une pointe, et à déplacer cette dernière à l'aide d'un montage cartésien de trois moteurs. La Figure 3.9 présente cette solution.

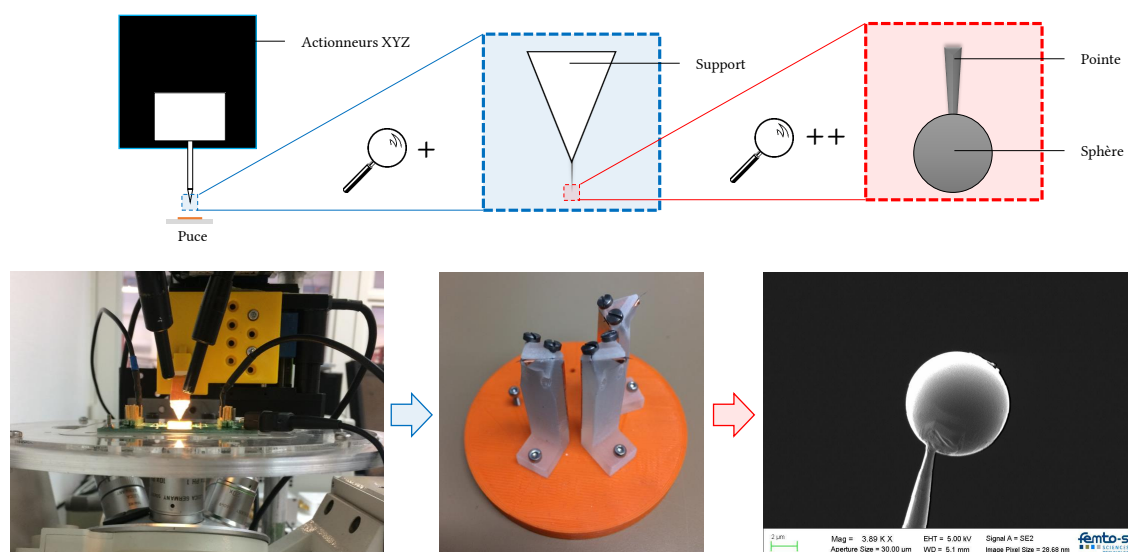


FIGURE 3.9 Actionnement motorisé d'une microbille collée à l'extrémité d'une pointe pour la détection par impédancemétrie : illustrations et visuels.

La méthode permettant d'aboutir à ce dispositif est la suivante :

- Fixation d'une pointe sur un support polymère
Une pointe en tungstène, plus couramment utilisée pour la microélectronique, d'extrémité aux dimensions submicrométriques, est fixée sur un support (ici fabriqué en impression 3D laser). Le maintien se fait à l'aide de deux vis. L'objectif de ces expérimentations étant de donner une preuve de concept de détection en deux dimensions, il n'est pas nécessaire que le comportement électrique du système composé de la pointe et de la bille soit rigoureusement identique à celui d'une bille seule. Toutefois, il convient de s'assurer qu'une réponse sensible peut également être obtenue. Des simulations FEM, non présentées ici, montrent que le milieu ouvert crée une perte de sensibilité d'un facteur 2 environ, mais que la pointe n'apporte pas de changement significatif du modèle.
- Collage de la bille sur une pointe

Le support de la pointe et de la bille est recouvert au préalable de ruban adhésif métallique afin de le rendre conducteur, et ainsi éviter la formation d'un nuage électronique dans le microscope électronique à balayage (MEB). Il est ensuite inséré dans le MEB, ainsi qu'une plaque sur lesquelles sont dispersées des microbilles. La pointe est mise en contact avec l'une des billes de la plaque. Un dépôt de platine à l'aide de la sonde ionique focalisée (SIF, FIB en anglais) permet le collage entre l'extrémité de la pointe et la bille. Ces travaux ont été réalisés sur la plateforme μ ROBOTEX du laboratoire, avec le support des personnels de la plateforme.

— Assemblage

3 moteurs (marque PI, modèle M-112.1DG), sont assemblés de façon à pouvoir se déplacer selon les 3 axes. La bille et son support y sont fixés. Le tout est monté sur un châssis afin d'être situé proche de la zone de détection par impédancemétrie.

Une fois la pointe en approche de la zone de détection, l'utilisation d'un microscope permet de se positionner finement dans la zone de détection. Comme illustré Figure 3.10, le positionnement peut être effectué par visualisation directe de la position de la bille par rapport à la zone de détection. Le placement vertical quant à lui peut par exemple être effectué en s'appuyant sur la faible profondeur de champ disponible. Une fois le positionnement vertical effectué, la zone de détection peut être balayée à altitude supposée fixe.

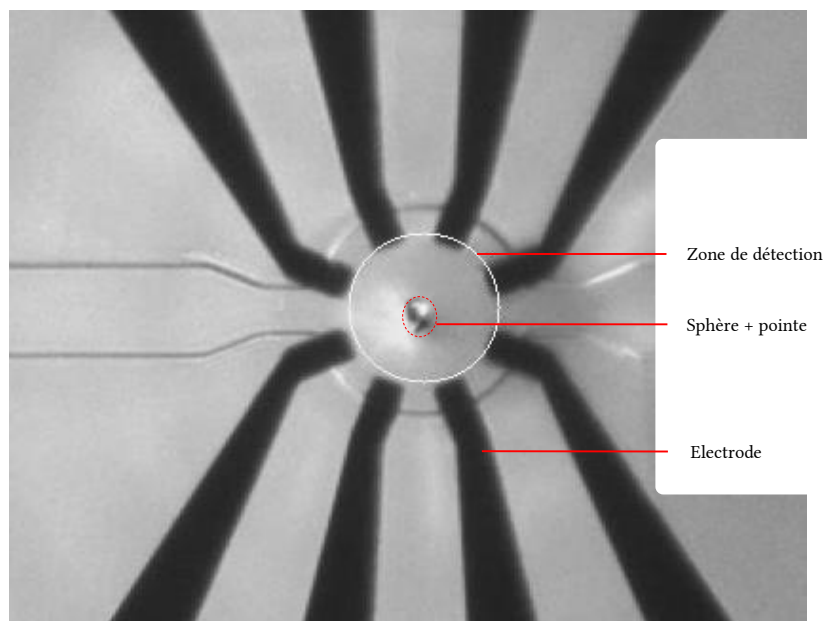


FIGURE 3.10 Déplacement d'une bille dans une puce fluïdique ouverte avec actionnement motorisé.

3.4/ Conception de la partie détection de position

Le but de ce chapitre est de fournir une plateforme permettant de récupérer les signaux pour la validation et l'étalonnage d'un capteur de position par impédancemétrie. Pour ceci plusieurs types de détections sont nécessaires :

- des électrodes intégrées à la puce fluïdique fournissant en temps réel une mesure d'impédance sensible à la position d'une bille dans la puce fluïdique,

- une mesure de référence pour l'étalonnage de ce capteur par impédancemétrie, et pour la validation de ses performances.

Cette section détaillera la conception de ces deux types de capteurs.

3.4.1/ Electrodes intégrées à la puce fluide pour la mesure d'impédance

Cas de la mesure selon une dimension Les électrodes utilisées en spectroscopie d'impédance électrique présentées dans le Chapitre 2 ne peuvent pas être réutilisées directement pour la détection de position. En effet, la courbe Figure 3.11 présente une simulation numérique de la variation d'impédance induite par la présence d'une bille sphérique isolante dans un milieu conducteur. On constate que ce design d'électrodes n'est pas adapté à la détection de position en raison de la zone de 20 μm dans laquelle l'impédance est presque constante. En effet, dans cette zone, la sensibilité du capteur (ie la variation d'impédance par unité de longueur) est proche de zéro, et il est impossible de remonter à la position de l'objet dans cette région. Ce manque de sensibilité au positionnement s'explique par le fait qu'en spectroscopie d'impédance, un défaut de positionnement ne doit pas avoir d'impact notable sur les mesures.

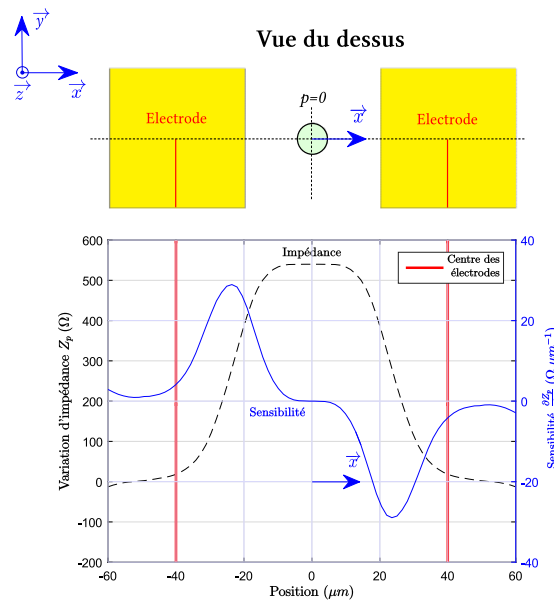


FIGURE 3.11 Simulations FEM de la variation d'impédance due à la présence d'une bille isolante entre deux électrodes en fonction de sa position longitudinale dans un canal microfluidique pour une géométrie d'électrodes carrée. Les paramètres de la simulation sont les suivants : milieu : PBS ($\sigma_s = 1,6 \text{ S m}^{-1}$, $\epsilon_s = 80$), largeur du canal : 40 μm , hauteur du canal : 20 μm , bille : bille de 8 μm de diamètre ($\sigma_b = 10^{-14} \text{ S m}^{-1}$, $\epsilon_b = 4$), espacement entre les électrodes : 80 μm , altitude de la bille : 10 μm (centre de la hauteur du canal).

Dans cette section, l'objectif est de déterminer une géométrie d'électrodes présentant une sensibilité à la position de l'objet pour la détection de position. Dans le cas de la détection de position selon une dimension, plusieurs géométries d'électrodes sont simulées, avec des propriétés différentes : concave ou convexe, avec des formes arrondies ou coniques. Les simulations reposent sur une modélisation par éléments finis à l'aide du logiciel Comsol, et les paramètres de la simulation sont ceux d'un capteur conventionnel utilisé en mesure d'impédance⁷⁰ : milieu : PBS ($\sigma_s = 1,6 \text{ S m}^{-1}$, $\epsilon_s = 80$), largeur du canal : 40 μm , hauteur du canal : 20 μm , bille : bille de 8 μm de diamètre ($\sigma_b = 10^{-14} \text{ S m}^{-1}$, $\epsilon_b = 4$), espacement entre les électrodes : 80 μm , altitude de la bille : 10 μm

Comparatif des géométries				
Géometrie	Nom	Sensibilité sur toute la plage du capteur	Points d'inversion de la pente	Sensibilité moyenne ($\Omega/\mu\text{m}$)
	G1 (Classique)	Non	1	14.0
	G2 (Retenue)	Oui	1	12.5
	G3	Non	1	14.1
	G4	Faible	1	13.3
	G5	Oui	3	14.4
	G6	Oui	1	11.6

TABLE 3.1 Comparaison des performances de différentes géométries d'électrodes pour la détection de position basée sur des mesures d'impédance pour le cas 1D. Le critère de plage de détection (1^{er} critère) ne tient pas compte des zones ponctuelles sans sensibilité. La sensibilité moyenne correspond à la moyenne de la valeur absolue de la sensibilité entre le centre des deux électrodes de mesure.

(centre de la hauteur du canal). L'objectif est ici, à partir d'un design de capteur qui n'est pas sensible à la position dans toute sa plage de détection (la zone entre les électrodes), de montrer qu'un travail de conception sur la géométrie des électrodes peut être effectué pour obtenir un capteur de position. Six géométries sont comparées dans le tableau 3.1. Seul le cas pour lequel les deux électrodes sont identiques est considéré. Le choix des géométries est arbitraire et porté sur des formes simples (carré, rond...), l'objectif étant de montrer l'utilité d'un travail de conception sur la géométrie, à travers son influence sur la sensibilité du capteur. Notamment, une tendance concernant l'influence de la forme (concave, convexe...) des électrodes sur la sensibilité du capteur est recherchée. Ce travail pourra être amélioré à l'aide d'un algorithme d'optimisation dans le futur. Deux critères sont pris en compte dans le choix de la géométrie : (i) le nombre de points de sensibilité nulle et (ii) la sensibilité du signal autour de la zone située au milieu entre les deux électrodes. En raison de la symétrie de la zone de détection, qui est composée de deux électrodes identiques, au moins une zone où laquelle la pente s'inverse, induisant un point de sensibilité nulle, est attendue au centre, entre les deux électrodes. Idéalement, il faudrait que seule cette zone présente une inversion de la pente, afin de limiter le nombre de zones peu sensibles du capteur et ainsi limiter le risque de perte de suivi. En tant que critère supplémentaire pour sélectionner la géométrie des électrodes, la sensibilité moyenne devrait être maximisée. La figure 3.12b montre les simulations FEM de l'impédance mesurée entre les électrodes lorsqu'une bille circule à l'intérieur du canal. Une géométrie, G5, présente 3 points de sensibilité nulle (voir Figure 3.12c). Elle n'est donc pas retenue. Les géométries G1, G3 et G4 ne présentent aucune sensibilité (ou non significative) autour du centre de la zone de détection du capteur (Figure 3.12d). Elles ne sont également pas retenues. Deux modèles, G2 et G6, sont compatibles avec les critères mentionnés ci-dessus. On peut par ailleurs constater que les géométries G2 et G6 sont de forme concave. Puisque G2 a la sensibilité moyenne la plus élevée (Tableau 3.1), cette géométrie peut être sélectionnée pour une utilisation dans un cas de figure à une dimension.

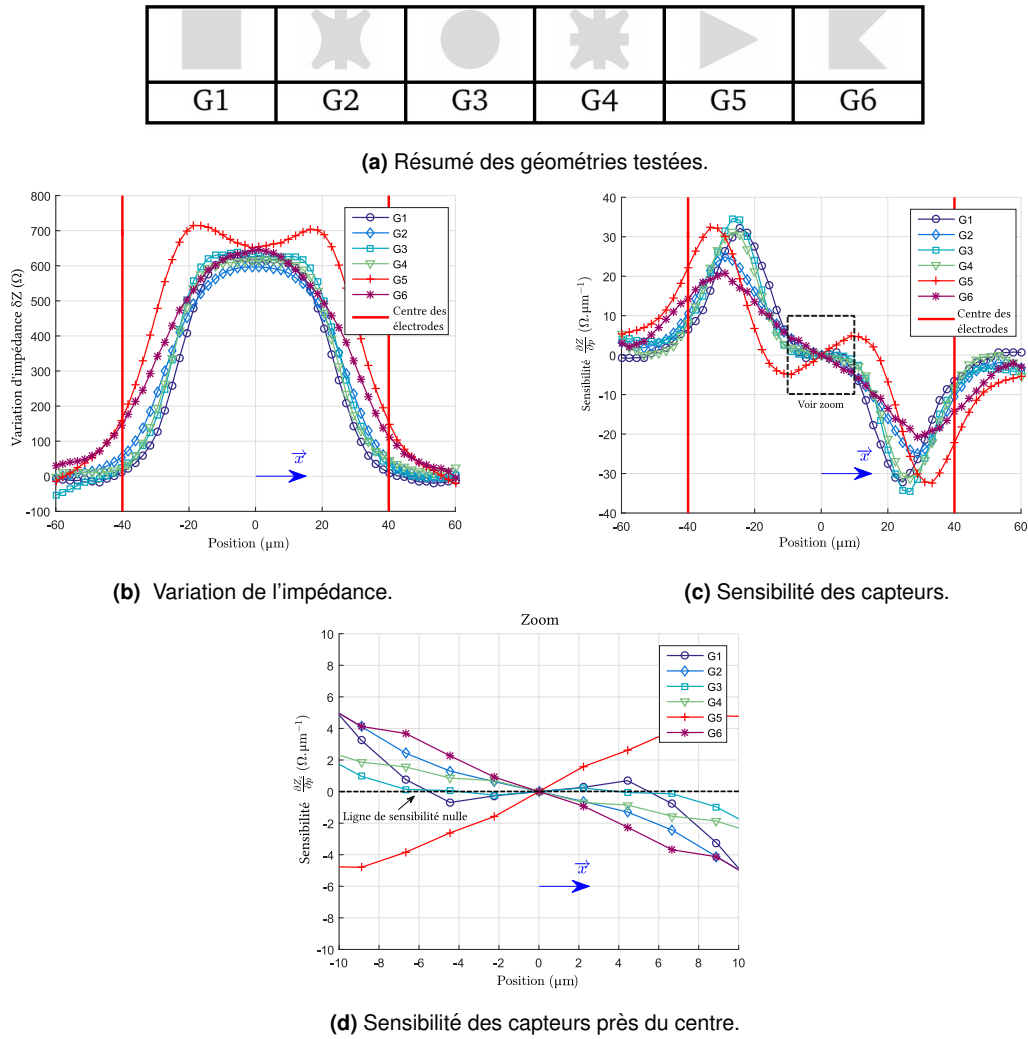


FIGURE 3.12 Simulation de la réponse du capteur pour différentes géométries d'électrodes. **(a)** Résumé des géométries testées. **(b)** Variation de l'impédance en fonction de la position de la bille pour différentes géométries. **(c)** Sensibilité du capteur. **(d)** Vue agrandie autour du centre de la zone de détection. Les paramètres de simulation sont identiques à ceux Figure 3.11.

Une fois la géométrie des électrodes déterminée, l'influence de la position de la bille le long des autres axes sur la mesure de l'impédance doit être étudiée. Des simulations FEM ont été effectuées pour analyser la variation d'impédance due à la hauteur de la cellule dans le canal. Les résultats sont présentés sur la Figure 3.13. Pour les billes proches de la paroi inférieure du canal ($z = 4.1 \mu m$), le graphique de la dépendance de l'impédance à la position, Figure 3.13a, présente trois points où la sensibilité égale à zéro, ce qui rend la détection de position plus compliquée. Pour obtenir des mesures d'impédance reproductibles, la hauteur des billes doit être contrôlée et elles doivent être élevées, d'au moins quelques micromètres, pour assurer une bonne sensibilité et une bonne forme de la variation d'impédance. De même, les simulations FEM (non présentées dans ce document) montrent que l'impédance dépend aussi de la position latérale des billes dans le canal. Ce positionnement sera garanti par les électrodes de centrage présentées dans la section précédente.

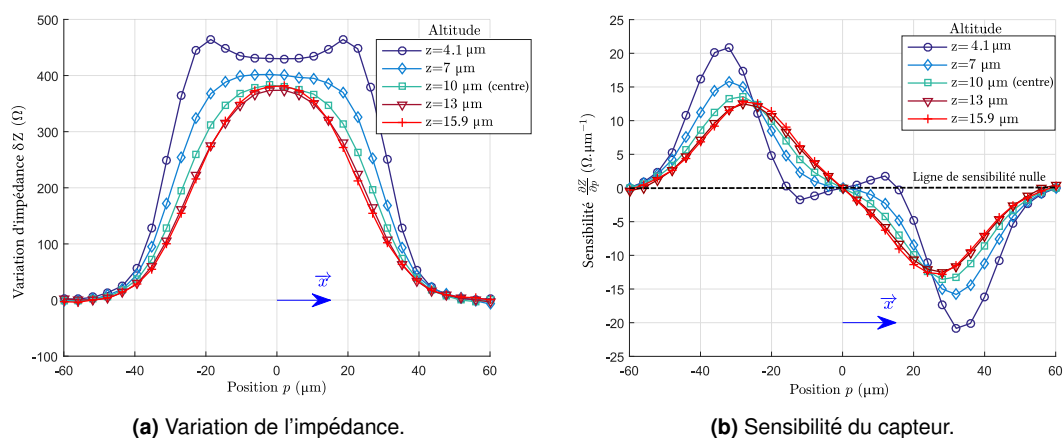


FIGURE 3.13 Simulation de (a) la variation de l'impédance et (b) la sensibilité du capteur induite par le passage d'une cellule de 8 μm de diamètre dans du PBS pour la géométrie d'électrode en étoile à différentes altitudes dans un canal de 20 μm de haut.

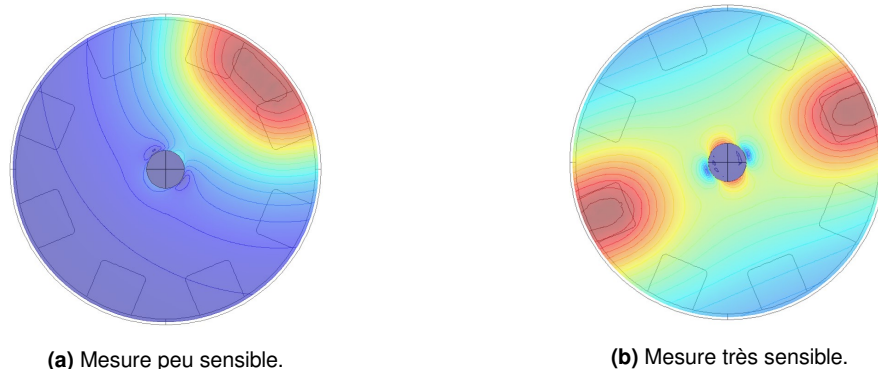


FIGURE 3.14 Visuel du dessus des électrodes de détection pour l'estimation 2D (simulation FEM). La multitude d'électrodes (8) permet le choix d'une ou plusieurs paires sensibles à la position de l'objet. (a) Champ de déplacement électrique pour une mesure peu influencée par l'objet. (b) Champ de déplacement électrique pour une mesure fortement influencée par l'objet.

Cas de la mesure dans le plan L'estimation dans le plan requiert plus d'information que pour le cas précédemment étudié à une dimension. Il a également été constaté que le manque de sensibilité du capteur au centre de la plage de détection pouvait amoindrir sa fiabilité dans cette zone. La solution retenue pour surmonter cette difficulté se base sur une analogie avec la tomographie d'impédance électrique, et consiste à utiliser plusieurs paires d'électrodes afin d'augmenter la quantité d'information recueillie. Les mesures peuvent ensuite être fusionnées.

Pour l'estimation de position d'une cellule en milieu microfluidique, la quantité d'information requise sous forme de mesures d'impédance est moindre qu'en tomographie. En effet, la totalité de la résistivité du milieu n'a pas à être reconstruite, puisque des hypothèses sont faites : un milieu homogène dans lequel un objet aux propriétés électriques (et éventuellement géométriques) sont connues. Le nombre de mesures doit donc être un compromis entre temps de calcul et fiabilité. Dans ces travaux, on considérera qu'un dispositif à 8 électrodes permet une détection avec une fiabilité suffisante. Ce choix se justifie en raison du nombre de paramètres qui doivent être estimés : 3 (la position dans le plan et la conductivité). Au besoin, seule une partie des électrodes pourra être judicieusement choisie pour la mesure, ce point sera abordé dans le chapitre suivant. Un schéma de principe présenté Figure 3.14 illustre cette idée. La géométrie des électrodes ne

sera pas étudiée pour ce cas. En effet, le cas de la détection dans le plan est plus complexe dans le sens où des effets couplés, discutés dans la suite de cette thèse, ont lieu entre l'actionnement par diélectrophorèse et la mesure par impédancemétrie. Une bonne connaissance des couplages et des stratégies à mettre en place pour combiner actionnement et mesure est donc nécessaire avant de réaliser une conception dédiée. Cette problématique dépasse le cadre de cette thèse.

3.4.2/ Mesure de référence pour l'étalonnage

De manière à pouvoir étalonner le capteur de mesure par impédancemétrie, il est nécessaire de disposer d'un second moyen de détection de position. Ce capteur doit permettre la détection d'une bille de 8 micromètres, en mouvement, au sein d'une puce fluide. Il ne doit en aucun cas interférer avec la mesure d'impédance. Comme cela a été mentionné dans le Chapitre 1, une solution classique est d'utiliser des images issues de caméras pour réaliser cette mesure. Une caméra de la marque AVT, modèle Stingray, est utilisée dans ce but (fréquence maximale d'acquisition : 30 ips (images par seconde), résolution : 1032 (H) $\times$ 776 (V), taille de pixel : 4,65 μm $\times$ 4,65 μm). Celle-ci est montée directement sur le microscope et associée à un grandissement $\times 10$. Le champ de vue est donc de quelques centaines de micromètres et la taille d'un pixel de 0,465 μm .

3.5/ Fabrication des puces fluidiques et connexions pour l'alimentation et le contrôle

Les sections 3.3 et 3.4 précédentes ont traité de la conception de la puce fluide et de son contrôle. Il convient maintenant de la fabriquer, et de connecter cette puce centimétrique, dédiée à la mesure d'objets micrométriques, aux systèmes d'alimentation et de contrôle macroscopiques (PC, alimentation électrique et fluide, ...). C'est l'objet de cette section.

3.5.1/ Fabrication des puces fluidiques

Les puces décrites, qui serviront à la mise en œuvre expérimentale de la méthode de détection, contiennent des canaux pour l'actionnement fluide dont les dimensions sont de l'ordre de la dizaine de micromètres. Elles sont également pourvues d'électrodes d'actionnement et de mesure, composées de fines couches métalliques (quelques centaines de nanomètres d'épaisseur). Une résolution micrométrique voire submicrométrique est donc nécessaire pour un dessin précis des motifs. En conséquence, les technologies de salle blanche seront utilisées. Ainsi, les puces seront fabriquées par empilement de couches.

3.5.1.1/ Matériaux

Chaque matériau constitutif de la puce utilisé doit être pensé en fonction de ses propriétés physiques et de sa biocompatibilité. Le verre est un bon choix de substrat notamment en raison de sa rigidité et de sa transparence, facilitant ainsi l'observation des objets. Il est également biocompatible. L'épaisseur de 0,5 mm est standard pour ce type de wafer et suffisamment faible pour que les inhomogénéités de température ne soient pas critiques lors d'un recuit effectué dans de bonnes conditions. Longueur et largeur sont quant à elles suffisantes pour que la puce puisse être manipulée facilement, tout en étant suffisamment faibles pour que la puce ne soit pas fragile mécaniquement et que le nombre de puces par wafer soit intéressant (16 puces par wafer 4"). Les

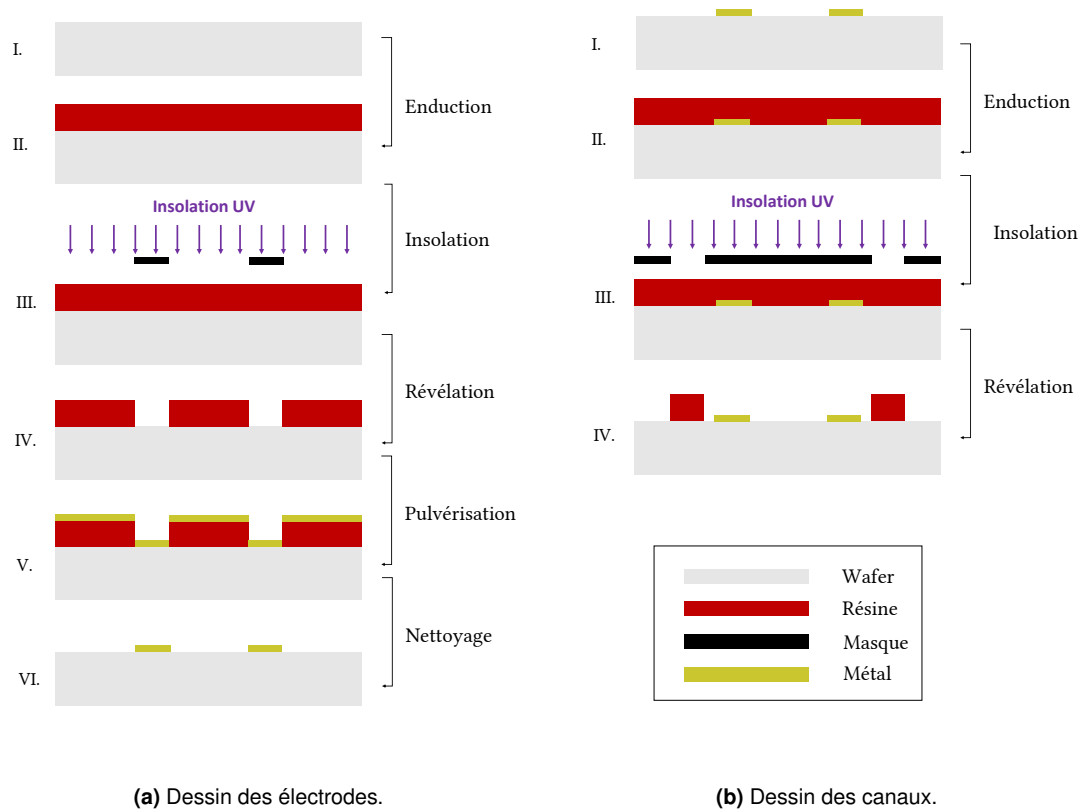


FIGURE 3.15 Illustration des procédés de fabrication. **(a)** Version simplifiée du procédé de fabrication des électrodes par lift-off. Une couche métallique est déposée sur une résine sacrificielle gravée au préalable. Les pistes restantes après nettoyage sont situées là où la résine a été gravée et servent à l'envoi de signaux électriques dans la puce. **(b)** Version simplifiée du procédé de fabrication des canaux en SU8. La résine négative SU8 subit une photolithographie en vue de fabriquer les canaux de transport microfluidiques.

électrodes sont formées à l'aide de couches de Ti/Pt (titane et platine). Le platine est choisi pour sa biocompatibilité, sa noblesse et sa conductivité et sa bonne tenue vis-à-vis de fortes tensions électriques. Il sera préféré à l'or, meilleur conducteur mais qui a tendance à se désolidariser du wafer sous l'effet de fortes tensions. Le titane sert de couche d'accroche au verre. Les canaux microfluidiques sont le plus souvent fabriqués en PDMS ou en résine SU8. Ces deux matériaux ont la particularité d'être transparents et biocompatibles. Le PDMS est généralement privilégié lorsqu'il est souhaité que la partie supérieure de la puce, qui sert à la fermeture des canaux, soit solidaire de ceux-ci. Dans ces travaux, la résine SU8, plus rigide et plus facile à fabriquer et à aligner avec les électrodes, sera utilisée. Elle sera recouverte d'un capot amovible en PDMS fabriqué par moulage, ce qui facilite la procédure de nettoyage des puces en cas de contamination ou bouchage des canaux.

3.5.1.2/ Procédés de fabrication des puces fluidiques

Cette section résume les principales étapes de fabrication des puces fluidiques. Ces étapes sont basées sur les procédés de microfabrication en salle blanche introduits dans le Chapitre 1. Les procédés de fabrication complets des électrodes et du canal microfluidique sont détaillés Annexe A, et résumés à titre illustratif ci-dessous Fig. 3.15.

Fabrication des électrodes Fig. 3.15a présente le procédé pour le dessin des électrodes, nommé lift-off. Il permet le dessin des électrodes, (15 nm Ti / 120 nm Pt) dans le cas présent. Ce procédé standard est préféré à d'autres comme la gravure humide pour la qualité des motifs qu'il est possible d'obtenir.

1. I→II Enduction

La première étape consiste à déposer une couche de 1 μm environ de résine. La résine est ensuite solidifiée lors d'un premier recuit.

2. II→III Insolation

Dans l'étape suivante, elle est insolée de manière sélective par ultra-violets à l'aide d'un masque monté sur un insolateur.

3. III→IV Révélation

Un second recuit permet la polymérisation de la résine, à la suite de quoi celle-ci est de nouveau insolée afin d'inverser son comportement. La résine, initialement positive, devient négative et de ce fait les zones initialement insolées ne seront pas dissoutes durant l'étape suivante : la révélation. Le wafer est plongé dans un solvant révélateur qui dissout la résine non polymérisée. Enfin le wafer est nettoyé puis séché afin d'éliminer les résidus de solvant.

4. IV→V Pulvérisation

L'intérêt de la résine inversible réside dans le fait qu'il est possible de déposer des épaisseurs faibles de par leur faible viscosité, et que les flancs de la résine une fois gravée sont rentrants, comme illustré Fig. 3.16. Ainsi la matière métallique déposée dans les cavités gravées de la résine n'est pas solidaire de celle déposée sur la résine, évitant un arrachement de matière lorsque la résine est retirée. Les couches métalliques de Ti/Pt sont ensuite déposées, précédées d'un éventuel plasma O_2 pour éliminer d'éventuels résidus de résine ou autres impuretés en vue d'améliorer l'adhérence entre le wafer et le métal déposé. Les deux matériaux sont déposés successivement sur l'intégralité du wafer, dans le cas présent par pulvérisation cathodique.



FIGURE 3.16 Illustration de l'orientation des flancs d'une résine inversible après gravure pour le cas d'un procédé de lift-off. Les flancs rentrants permettent de dissocier la matière déposée par région : zones gravées et zones non gravées de la résine.

5. V→VI Nettoyage

Une fois les métaux déposés, le wafer est plongé dans un bain de dissolvant tel que l'acétone, dans lequel la résine sacrificielle est dissoute. Seul le métal déposé directement sur le wafer, là où la résine a été gravée au préalable, est toujours présent. Les électrodes sont alors dessinées. Le wafer est à nouveau nettoyé au plasma pour éliminer les résidus de résine.

Fabrication des canaux Par la suite, des canaux de SU8 de 20 μm d'épaisseur doivent être fabriqués, correctement positionnés par rapport aux électrodes (précision de 1 μm). Les différentes étapes, similaires à celles du lift-off, sont illustrées Fig. 3.15b.

1. I→II Enduction

20 μm de résine sont déposés par enduction centrifuge.

2. II→III Insolation

La résine, négative, est ensuite insolée de manière sélective là où il est souhaité que la matière reste, à l'aide d'un masque monté sur l'insolateur. Une plaque spécialement conçue pour une utilisation avec des résines SU8 est montée sous la lampe afin d'améliorer la droiture des flancs des canaux. Contrairement à la phase de fabrication des électrodes, ne nécessitant qu'un positionnement grossier sur le wafer, le masque doit ici être positionné avec précision afin de garantir le positionnement des canaux vis-à-vis des électrodes. L'insolateur utilisé possède également une fonction d'aligneur. L'alignement est fait manuellement à l'aide de croix dessinées aux extrémités du masque, qui doivent être positionnées vis-à-vis de motifs dessinés lors du dessin de la couche métallique. Il est possible d'obtenir une précision de positionnement submicrométrique si l'opération est effectuée par un opérateur expérimenté.

3. III→IV Révélation

La résine est ensuite recuite et nettoyée de manière similaire à celle précisée dans le procédé du lift-off. Seuls les paramètres changent (se référer à l'annexe page 152 pour les détails des procédés). La résine non insolée est ensuite dissoute et un plasma est effectué pour le nettoyage final.

Fabrication du capot Afin de pouvoir sceller hermétiquement la puce et ainsi pouvoir y injecter un fluide et les billes de test, un capot en PDMS (polydiméthylsiloxane) est fabriqué afin d'être pressé mécaniquement sur la couche de SU8 (se référer à la Figure 3.26 page 69 dans la section suivante pour un visuel). La pièce en PDMS possède une géométrie rectangulaire, dans laquelle deux cylindres sont extrudés pour permettre l'acheminement du fluide. Afin de ne pas risquer de boucher les canaux fluidiques, les cylindres extrudés doivent être de dimensions supérieures à celles de l'entrée et de la sortie du canal (dans le cas inverse, la largeur importante de l'entrée et de la sortie font que le PDMS a tendance à fléchir lors de l'application de la pression mécanique). Cette pièce est fabriquée par moulage. Un moule en PMMA a été utilisé dans le cadre de ces travaux. L'intérêt d'utiliser ce matériau est qu'il est simple de se le procurer avec d'excellents états de surface. En effet les canaux que le PDMS doit fermer ont des dimensions de l'ordre de la dizaine de micromètres. Or une pièce métallique usinée par des méthodes traditionnelles (fraisage...) possède une rugosité arithmétique dont l'ordre de grandeur est égal ou supérieur à cette valeur. La faible rugosité du PMMA quant à elle ne créera pas d'irrégularités au niveau de la surface du PDMS, ainsi il n'y a pas de risque de boucher le canal microfluidique.

Afin de créer le moule, trois pièces de PMMA sont superposées. La première sert de base, et sa surface supérieure n'a pas été usinée afin de conserver l'état de la surface. Seuls des perçages non traversants sont effectués afin d'y insérer des goupilles, qui serviront à modeler les cylindres pour l'arrivée du liquide. La deuxième pièce sert à donner son volume au moule. Enfin, la troisième sert à étaler une couche large et fine au dessus de la géométrie du capot, afin de déporter les effets de bord et ainsi conserver une surface plane au niveau du capot. Une seconde solution consiste à fermer le moule en ne laissant que des interstices pour l'injection du matériau. La planéité de la surface supérieure du capot sera améliorée, mais cette configuration empêche souvent l'évacuation d'une bulle formée lors de l'injection. Les trois pièces de PMMA sont solidarisées par pression mécanique à l'aide de vis et écrous. Du ruban adhésif est placé tout autour du moule afin de limiter les fuites de PDMS par les interstices entre les pièces du moule. Le moule est alors terminé (voir Fig 3.17).

Pour la fabrication du capot, une base et un durcisseur sont mélangés dans des proportions 10 : 1. Ce mélange, très visqueux, doit être placé dans une cloche à vide afin de retirer les bulles d'air

formées lors du mélange. Il est ensuite placé dans le moule, suivi d'un second dégazage si des bulles se sont formées. Un recuit doit ensuite être effectué. Afin de ne pas déformer le moule ni le ruban adhésif, le recuit est fait à une température de 50°C pendant 3 heures environ.

Une fois le recuit terminé et le capot refroidi, celui-ci est retiré du moule. Le surplus de matière placé pour assurer la planéité est retiré au cutter.

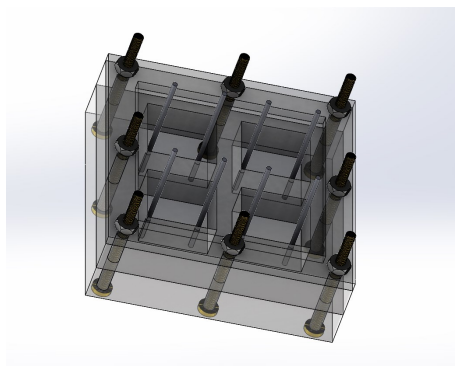


FIGURE 3.17 Moule servant à la fabrication de 4 capots. Des pièces de PMMA et des goupilles sont assemblées pour former le moule dans lequel le PDMS sera injecté.

Puces fabriquées Dans le cadre de cette thèse plusieurs puces fluidiques permettant de valider le concept de la détection de position par impédancemétrie ont été développées. Ce paragraphe a pour but de présenter certaines de ces réalisations les plus représentatives.

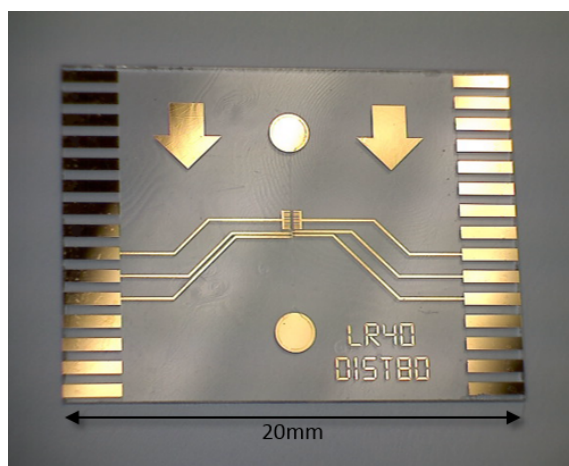


FIGURE 3.18 Visuel général d'une puce fluidique pour la détection de position.

Un visuel global d'une puce développée est donné Figure 3.18. Les puces sont composées du support, de la couche d'électrodes et du canal microfluidique. Le support est formé à partir d'un wafer de verre découpé à la scie à pointe diamant. Ses dimensions sont de 20 mm x 15 mm x 0,5 mm. 2 rangées de 15 pads par pas de 1 mm sont situées à l'extrémité de la puce. Certains de ces pads sont reliés électriquement à des électrodes situées proche du centre de la puce, et qui serviront à l'envoi et la récupération de signaux pour la mesure et l'actionnement. Un canal microfluidique traverse la puce. Celui-ci sert à l'acheminement des objets dans la zone dite zone de contrôle, c'est à dire là où les objets sont actionnés et/ou là où des mesures sont effectuées. Enfin, les

puces sont fermées hermétiquement à l'aide du capot en PDMS (polydiméthylsiloxane). Ce capot rectangulaire recouvre la puce et possède deux cylindres au niveau de l'entrée et de la sortie permettant l'arrivée du fluide et des billes. Les dimensions des puces et le positionnement des pads et des entrées fluidiques sont identiques à ceux des puces développées à l'EPFL afin d'assurer la compatibilité avec la plateforme de l'établissement partenaire.

Comme cela a été décrit précédemment, ces puces possèdent plusieurs éléments caractéristiques, tels que les électrodes de centrage pour assurer un positionnement répétable dans le cas de la mesure selon une dimension (Figure 3.19), des électrodes barrières pour conserver une bille unique dans la zone d'intérêt (Figure 3.20), ou des électrodes de détection dans le cas de la mesure dans le plan (Figure 3.21).

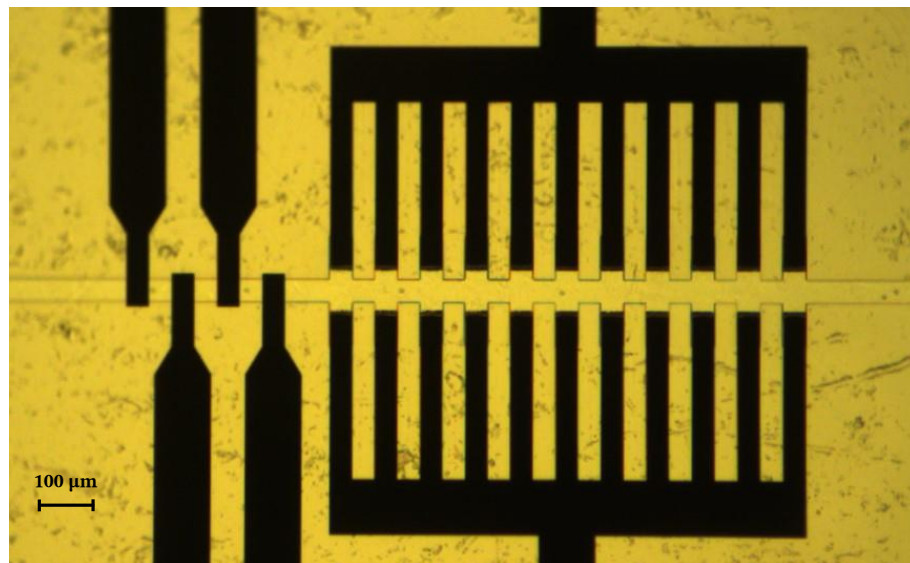


FIGURE 3.19 Visuel des électrodes de centrage.

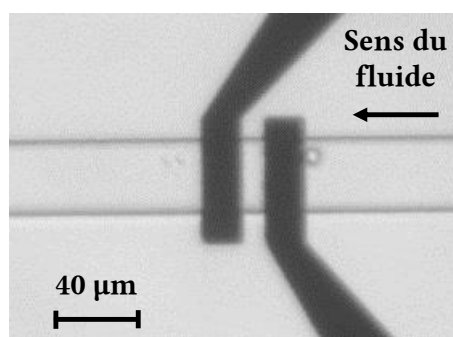


FIGURE 3.20 Photographie des électrodes barrière en utilisation. La force de DEP générée lors de l'application d'une tension alternative empêche un objet porté par le liquide de transport de les traverser.

Un exemple de puce fluidique destinée à se rapprocher du dispositif final dans lequel il serait possible d'effectuer le contrôle en boucle fermée de la position de la bille à l'aide d'une technologie intégrée couplant actionnement par DEP et estimation de position par mesure d'impédance est donné Figure 3.22. A l'intérieur de la puce, 8 électrodes sont disposées en répétition circulaire dans la zone de mesure, au centre du cercle de résine. Le cercle dessiné dans le canal a un diamètre de

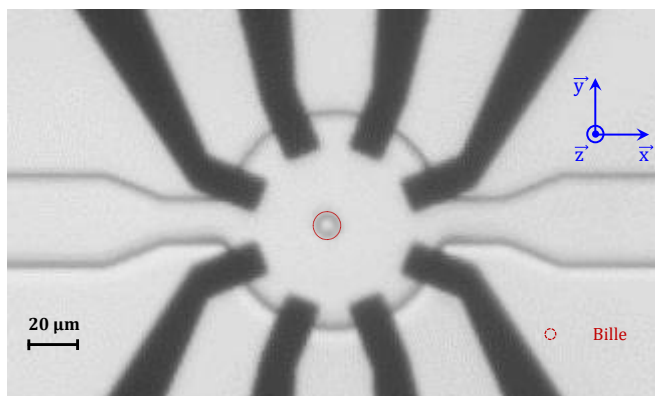


FIGURE 3.21 Visuel du dessus des électrodes de détection pour l'estimation de position dans le plan. La multitude d'électrodes (8) permet le choix d'une ou plusieurs paires sensibles à la position de l'objet.

70 μm , et la distance entre 2 électrodes symétriques est approximativement de 50 μm . Deux paires d'électrodes barrières sont placées respectivement en amont et en aval de la zone de contrôle.

Les électrodes barrières sont utilisées afin d'isoler un objet. En effet, comme mentionné plus haut, en raison de l'inertie inhérente du fluide, il est difficile de pouvoir arrêter instantanément le mouvement des billes dans le canal. Les électrodes barrières peuvent être activées lorsqu'une bille a passé ces barrières, et appliqueront une force de DEP suffisante pour empêcher un autre bille de passer. Une fois l'objet présent dans la zone de détection, 4 des 8 électrodes centrales assurent le piégeage de l'objet. Le piège permet simultanément de maintenir la bille au centre de la zone de contrôle tout en l'empêchant de sédimenter. Le piège, tout comme les électrodes barrières, est activé jusqu'à ce que le mouvement du fluide dans la puce soit stoppé. A ce stade, une bille isolée se trouve au centre de la zone de contrôle et est prête à être utilisée pour obtenir le modèle d'observation. La mise en situation initiale est alors effectuée. Une fois l'objet isolé, les électrodes centrales peuvent alternativement assurer les fonctions souhaitées pour l'actionnement et la mesure dans la zone de contrôle. Le modèle d'observation (étalonnage du capteur) pourra être obtenu en déplaçant l'objet dans la zone de mesure et en effectuant les mesures d'impédance souhaitées. Les quatre électrodes précédemment utilisées pour le piégeage peuvent cette fois-ci être utilisées pour le contrôle actif de position. Elles permettent de déplacer dans le plan l'objet. Associées à une correction grâce à des mesures de position par vision, il est possible d'atteindre toutes les positions souhaitées dans la zone de contrôle. Une fois la position souhaitée atteinte, les électrodes peuvent être utilisées en mode mesure.

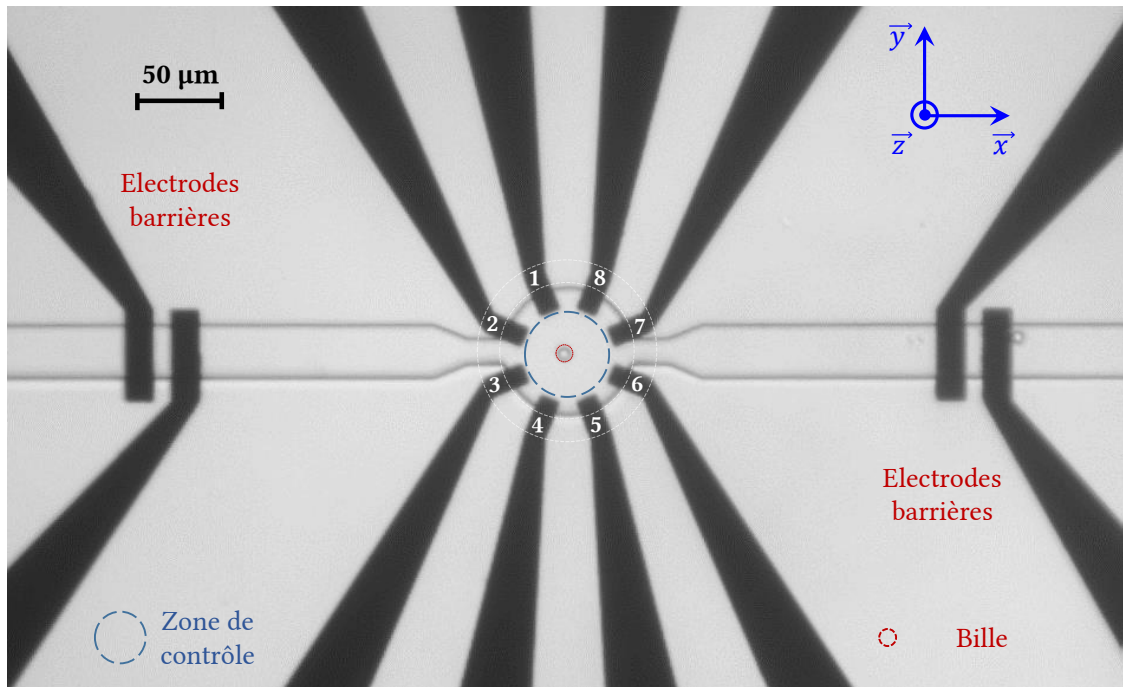
3.5.2/ Alimentation, contrôle et connexion des puces

Les puces fabriquées doivent maintenant être alimentées et connectées (alimentation fluidique, électrique, mesure d'impédance, ...). Cette section décrira dans un premier temps l'ensemble des appareils d'alimentation et de mesure, puis traitera de leur connexion avec la puce fluidique.

3.5.2.1/ Alimentation pour l'actionnement

L'instrumentation pour l'actionnement comprend :

Electrodes centrales : actionnement et/ou mesure



Electrodes centrales : actionnement et/ou mesure

FIGURE 3.22 Photographie de la puce pour la détection 2D. Les électrodes autour de la zone de contrôle piègent un objet puis peuvent alternativement servir pour l'actionnement par DEP et la mesure d'impédance à l'aide du routeur de signaux. Les électrodes barrière ont pour fonction d'empêcher un autre objet de pénétrer dans la zone de contrôle.

- l'alimentation et le contrôle fluidique,
- l'alimentation et le contrôle électrique.

Un schéma illustratif de l'instrumentation pour l'actionnement au sein d'une puce fluidique est donné Figure 3.23.

L'actionnement longue distance est fait par actionnement fluidique. Le déplacement du fluide est contrôlé à l'aide d'un régulateur de pression modèle OB1 de la marque Elveflow. Il est muni de quatre sorties pouvant chacune appliquer une pression différentielle de 2 bars. Compte tenu de la résistance fluidique des puces (de l'ordre de 10^{12} Pa.s.m⁻³ si les canaux sont remplis d'air, 10^{15} Pa.s.m⁻³ s'il s'agit d'eau), une pression de 2 bars est suffisante pour remplir rapidement les tuyaux et ensuite faire transiter les objets dans la puce. La vitesse des objets dans la puce peut être estimée à partir de la connaissance de la pression appliquée et de la résistance fluidique du canal.

Le contrôle précis des billes est effectué par diélectrophorèse à l'aide d'électrodes. Ceci nécessite plusieurs générateurs de signaux alternatifs afin d'appliquer une force de DEP. Le nombre de potentiels qui doivent être fixés dépend du type de dispositif expérimental. De nombreuses fonction-

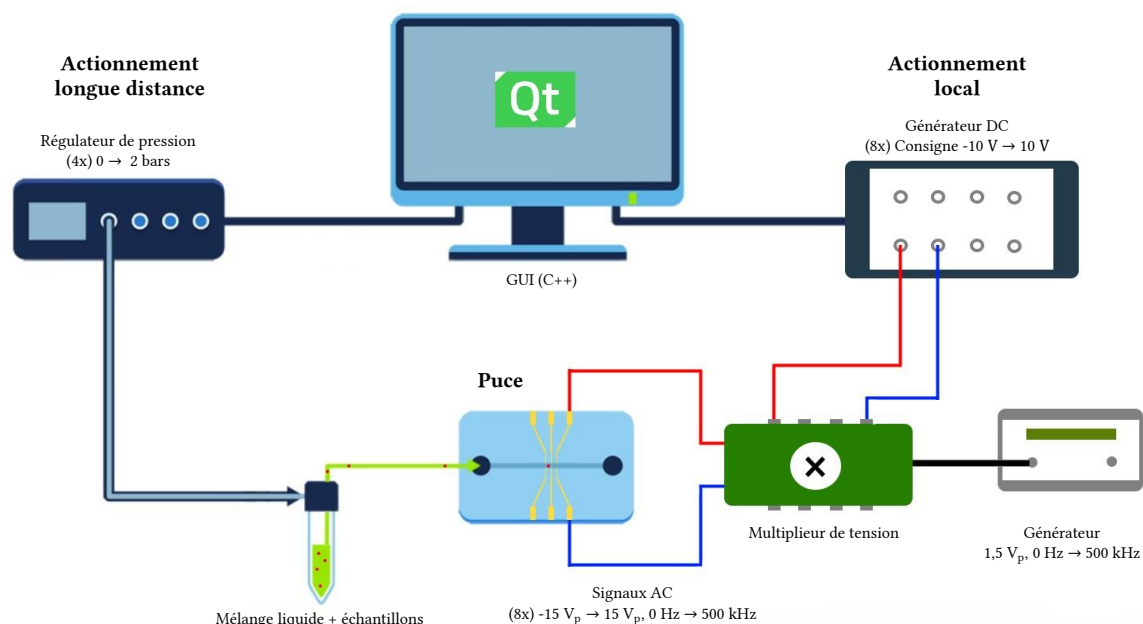


FIGURE 3.23 Instrumentation pour l'actionnement dans une puce fluide. Les objets sont acheminés jusqu'à la zone de détection par actionnement fluide, où un contrôle plus fin peut être exercé par DEP en utilisant les électrodes en association avec l'instrumentation électrique (certaines images du schéma ont été empruntées à l'entreprise Elveflow, distributeur de régulateurs de pression).

nalités de guidage et des stratégies complexes de contrôle étant attendues, un générateur 8 voies de signaux alternatifs à tension modulable a été développé. Il est composé des éléments suivants :

- une carte de multiplication de signaux développée en interne ;
- un génération de signaux DC 8 voies NI-BNC-2110 de chez National Instruments ;
- un générateur alternatif.

D'une part, un signal dont la tension V_{in}^{ac} est fixée est généré par le générateur alternatif. D'autre part, des tensions continues dont l'amplitude $V_{in}^{dc,i}$, pour i allant de 1 à 8, sont générées au niveau de la carte NI contrôlée par l'ordinateur. Pour chacune des 8 voies, la tension de consigne $V_{in}^{dc,i}$ est multipliée à la tension alternative fixe V_{in}^{ac} , permettant ainsi de piloter indépendamment 8 tensions analogiques AC selon la relation $V_{out}^{ac,i} = V_{in}^{ac} \times V_{in}^{dc,i}$.

3.5.2.2/ Instrumentation pour la mesure par impédancemétrie

Diverses contraintes d'ordre technique sont à considérer pour la mesure d'impédance :

- il est nécessaire de filtrer le bruit de mesure,
- les signaux électriques doivent rester suffisamment faibles et de courte durée afin de ne pas endommager les objets biologiques,
- l'appareil doit être suffisamment sensible pour mesurer des signaux de faible amplitude,
- l'appareil doit être en mesure d'injecter un signal AC à la fréquence souhaitée.

A ces contraintes courantes viennent s'ajouter des contraintes liées au caractère temps-réel des expérimentations prévues. En effet, l'objectif global de ces travaux de thèse, comme énoncé en introduction, est de fournir une estimation de la position de cellules par l'intermédiaire de mesures d'impédance et d'intégrer cette estimation dans une boucle de régulation. La mesure en temps-réel est donc un aspect essentiel de ces recherches, qui nécessite une attention particulière puisqu'il

n'est pas traité dans la majorité des travaux de spectroscopie d'impédance électrique, fournissant des résultats purement statistiques.

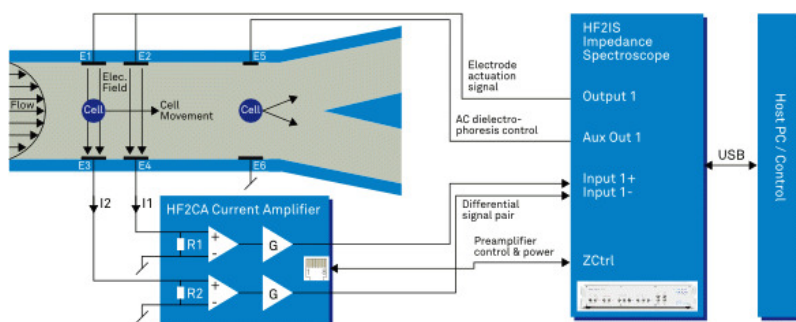


FIGURE 3.24 Principe d'utilisation de l'impédancemètre associé au trans-impédance (image empruntée à l'entreprise Zurich Instruments, fournisseur du matériel).

L'appareil retenu après comparatif est le *HF2IS* de chez Zurich Instruments, associé à un trans-impédance *HF2TA*. Le principe d'utilisation de ces appareils est illustré Fig. 3.24.

Le *HF2IS* génère une tension d'excitation U_{out} directement injectée dans le système étudié. Cette tension induit un courant I_{in} , qui passe à travers le trans-impédance. Celui-ci retourne en sortie une tension U_{in} étant une image du courant circulant, avec un gain connu G_{TI} . Cette tension est renvoyée vers une entrée du *HF2IS* pour être mesurée. L'impédance du système est évaluée en calculant l'expression :

$$Z = \frac{U_{out}}{I_{in}} = \frac{U_{out}}{G_{TI} \cdot U_{in}}, \quad (3.1)$$

Ce type d'appareil est couramment utilisé en spectroscopie d'impédance électrique et possède la sensibilité requise pour la mesure d'impédance dans les conditions expérimentales spécifiées. Il permet également l'utilisation d'une large gamme de fréquences de signaux d'excitation.

Les mesures devant être à terme exploitées en ligne, il est souhaitable que l'appareil soit muni d'un dispositif de filtrage en temps-réel, et non en post-traitement. Le *HF2IS* est muni d'un amplificateur à détection synchrone (aussi connu sous sa dénomination anglophone « Lock-in amplifier »). Grâce à cette fonctionnalité, le signal est amplifié en entrée, puis multiplié avec celui de la porteuse d'un oscillateur interne. Un filtre passe-bas, de fréquence de coupure variable, permet alors de réaliser l'intégration. L'amplificateur à détection synchrone permet donc d'extraire des signaux de faible amplitude, mais à bande étroite, noyés dans du bruit important.

La constante de temps du filtre passe-bas de l'amplificateur à détection synchrone peut être réduite jusqu'à pouvoir obtenir une fréquence d'échantillonnage de 210×10^6 Hz. Il dispose également d'un module temps-réel pouvant lancer une boucle de calcul à la fréquence de 10 kHz, et de sorties analogiques qu'il est éventuellement possible de relier à un appareil pouvant effectuer un traitement plus rapide (carte PCI, dSPACE...). L'impédancemètre possède donc les spécificités requises pour la mesure temps-réel.

3.5.2.3/ La vision

Dans cette plateforme, la vision est utilisée afin de fournir des mesures servant de référence pour l'étalonnage de capteurs par impédancemétrie, ainsi que pour fournir une référence nécessaire à

l'évaluation des performances des capteurs développés. Deux étapes sont nécessaires pour fournir cette référence : étalonner la caméra et déterminer la position de l'objet dans l'image de la caméra. L'étalonnage de la caméra consiste à déterminer la matrice de passage entre un point dans le repère de la caméra (un pixel) et un point dans un référentiel défini au préalable dans la puce fluïdique. Une fois l'objet détecté dans le repère de la caméra, cette matrice de passage permet alors de connaître la position de l'objet dans le repère de la puce. Ces étapes sont réalisées à l'aide de bibliothèques de traitement d'image : OpenCV (Open source computer vision) et ViSP (Visual Servoing Platform), cette dernière exploitant elle-même OpenCV.

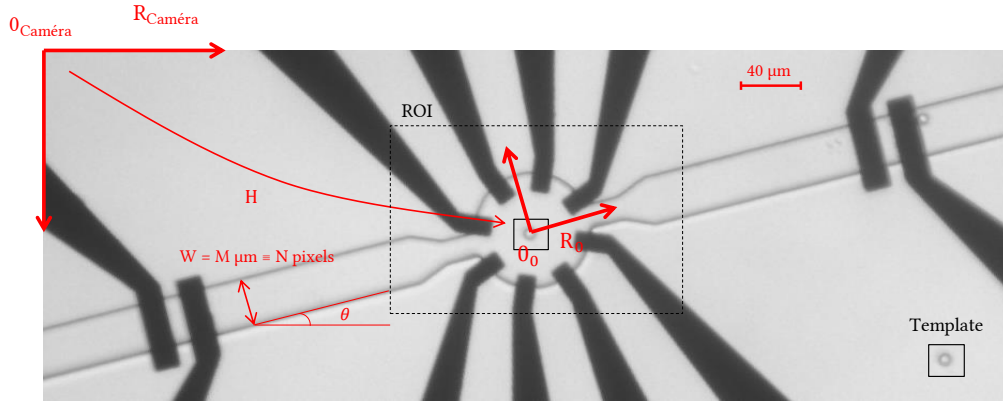


FIGURE 3.25 Visuel d'une puce associé à une illustration de la détection pour l'étalonnage (le défaut d'orientation sur l'image présentée a été volontairement exagéré).

La Figure 3.25 illustre le traitement effectué pour l'étalonnage de la caméra. Le repère objet est orthogonal et défini en unités métriques, il a pour centre le centre de la zone de détection (dans le cas présent, le centre du cercle de résine) et a pour vecteur des abscisses un vecteur parallèle à une bordure de canal. 3 mesures par vision permettent l'étalonnage de la caméra :

- La mesure de l'origine du repère bille, dans le cas présent le point au centre du cercle. Cela permet de connaître en pixel la translation entre les deux repères.
- La mesure de l'orientation du repère bille, ici de l'angle de l'axe du canal, θ . Elle permet de connaître la rotation entre les deux repères.
- La mesure d'une distance connue, par exemple la largeur du canal. Elle permet d'identifier le facteur d'échelle, c'est à dire le ratio entre une distance dans le système métrique et en nombre de pixels.

L'ensemble de ces données permet de définir la relation liant les coordonnées mesurées dans le repère caméra aux coordonnées dans le repère objet :

$$\begin{bmatrix} x_o \\ y_o \end{bmatrix} = SF \cdot \begin{bmatrix} \cos(\theta) & \sin(\theta) \\ -\sin(\theta) & \cos(\theta) \end{bmatrix} \cdot \left(\begin{bmatrix} x_{cam} \\ -y_{cam} \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} T_{cam}^x \\ T_{cam}^y \end{bmatrix} \right) \quad (3.2)$$

avec $SF = \frac{M}{N}$ le facteur d'échelle, et T_{cam}^x et T_{cam}^y les translations selon les deux axes en pixels vers l'origine du repère objet. $-y_{cam}$ est utilisé afin de rendre le repère caméra direct. Une fois l'étalonnage effectué, il faut déterminer la position des billes. Le tracking présente un temps d'initialisation important, ce qui présente un inconvénient en raison de la difficulté d'arrêter les billes. La détection sera donc privilégiée. Parmi les différentes méthodes existantes pouvant s'avérer

intéressantes, on peut notamment citer la détection de cercle précédée d'un traitement de l'image, ou encore la correspondance de modèle (template matching). Cette dernière consiste à utiliser une image de référence, en l'occurrence une photographie d'une bille, et de calculer dans l'image la corrélation entre une zone et l'image de référence. Le lieu sur lequel la correspondance est maximale est retenu comme étant la position de l'objet recherché. Cette dernière technique sera retenue et utilisée dans la région d'intérêt (ROI), notamment pour son efficacité malgré des contrastes assez faibles dans les images. Plus de détails sont disponibles dans la littérature concernant la correspondance de modèle, et la détection de manière générale¹³⁶.

3.5.2.4/ Le World-to-Chip : connexions électriques et fluidiques

Les puces étant fabriquées, les connexions entre la puce dédiée à la manipulation d'objets micrométriques et l'instrumentation de taille macroscopique décrite précédemment doivent être faites. Il s'agit du World-to-Chip. Un visuel CAO de la puce et du World-to-Chip, fortement inspiré du design développé à l'EPFL, est donné Figure 3.26.

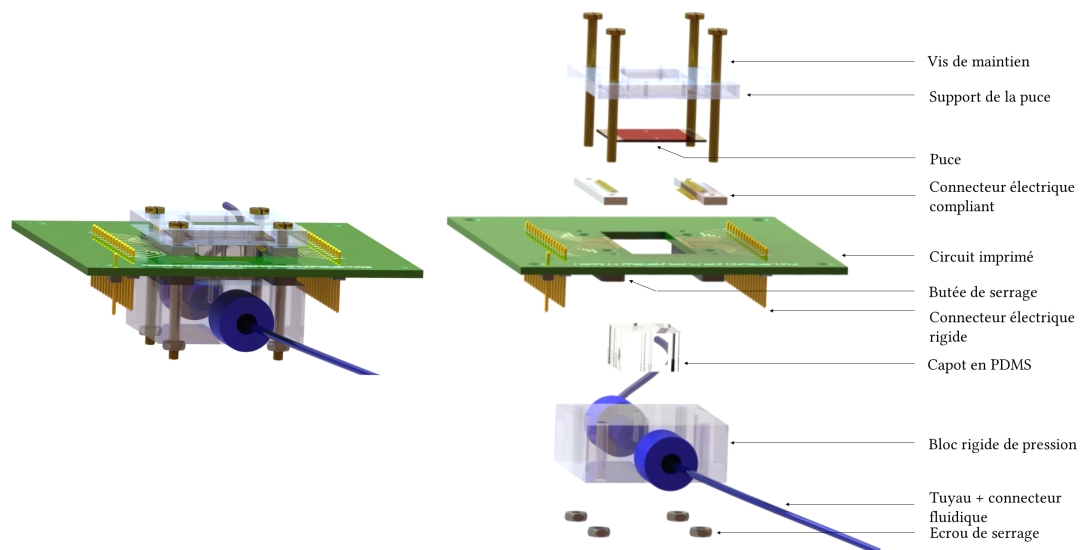


FIGURE 3.26 La puce et le World-to-Chip sous différentes perspectives. Différents éléments sont utilisés pour fixer la puce et la relier fluidiquement et électriquement à la partie instrumentation.

Au niveau du canal microfluidique, un cylindre de taille légèrement inférieure à la taille du cylindre dans le PDMS a été au préalable fabriqué en entrée et sortie du canal, couramment nommés inlet et outlet. La taille de ces cylindres, de l'ordre du millimètre, rend possible un positionnement manuel du capot sur la puce. Ceci permet de connecter le microcanal au monde extérieur. Une pièce de PMMA est montée ensuite sur le capot. Ce connecteur rigide est utilisé afin de pouvoir exercer une pression sur le capot à l'aide de simple vis. L'arrivée de fluide y est reliée par l'intermédiaire de connecteurs filetés. Enfin, les tuyaux sortant de ces connecteurs sont reliés aux seringues d'injection. Des butées sont placées entre le circuit imprimé et la pièce en PMMA, assurant ainsi une certaine répétabilité dans la pression de contact appliquée. Cette répétabilité est essentielle pour que le microcanal soit scellé correctement sans toutefois être bouché, et pour prévenir un éventuel endommagement de la puce.

Concernant la partie électrique, les microélectrodes présentes sur la puce possèdent une extrémité de taille millimétrique. Cette extrémité est mise en contact avec un connecteur électrique souple,

assurant un contact satisfaisant. Ce connecteur est lui-même monté sur un circuit imprimé, muni d'un bornier de connecteurs pouvant assurer la liaison avec la partie instrumentation.

3.6/ Acquisition temps-réel des signaux

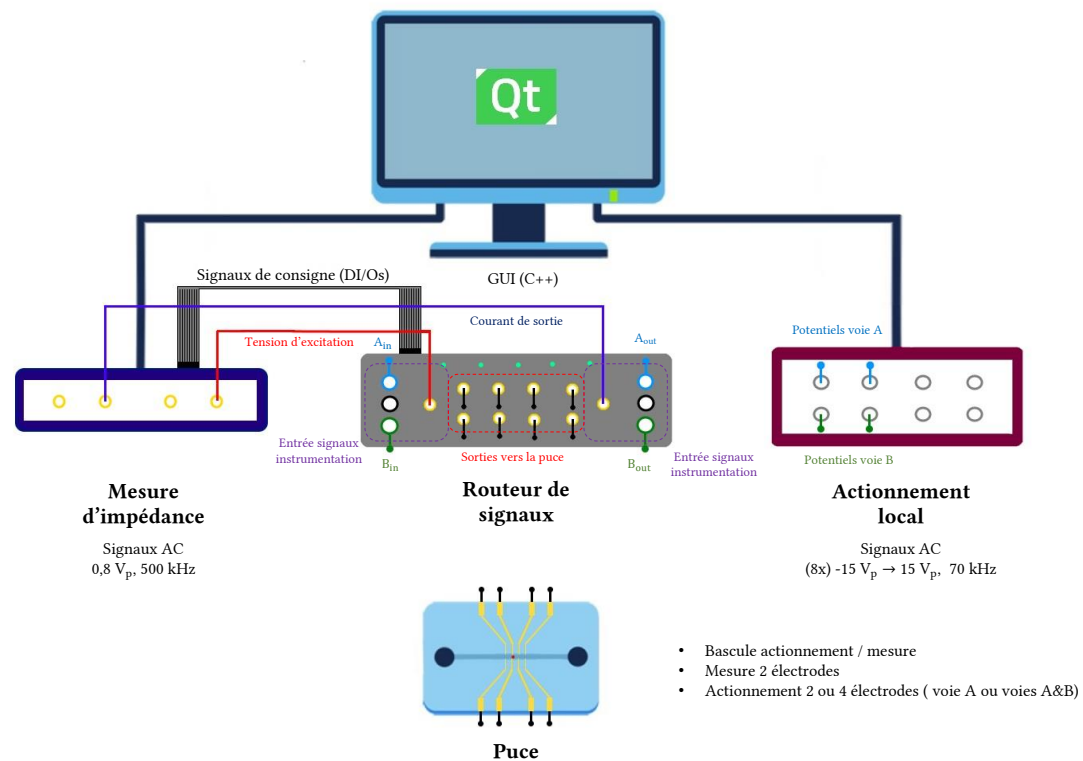
3.6.1/ Routage des signaux

Comme énoncé en introduction, l'objectif sur le long terme est de pouvoir utiliser les électrodes du dispositif à la fois pour l'actionnement par DEP, et pour la détection par impédancemétrie. Il a également été mentionné plus haut qu'utiliser plusieurs paires d'électrodes permettrait potentiellement d'obtenir une estimation de position plus robuste et sur une plage plus grande dans le cas de la détection de position dans le plan. Cela implique donc de se munir d'un appareil permettant à la fois le switch entre les électrodes et le switch entre les appareils pour la génération et la mesure des signaux. Les spécifications fonctionnelles pour une telle carte sont les suivantes :

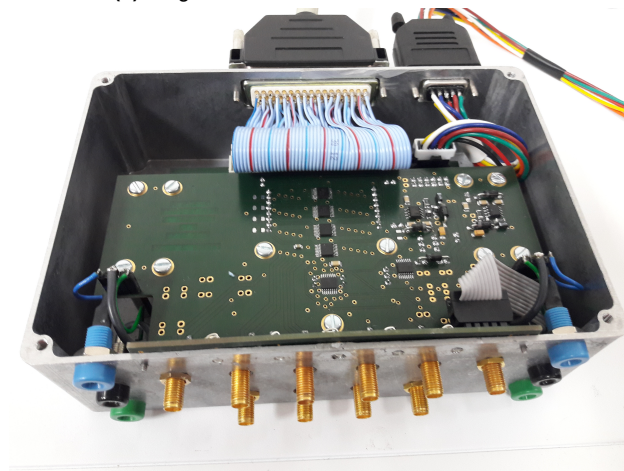
- Bascule actionnement/mesure
La carte doit séquentiellement permettre de passer en mode actionnement et mesure. Ces fonctions ne sont pas appliquées simultanément afin que l'actionnement ne perturbe pas la mesure (élévation de température et donc de conductivité) et ne risque pas d'endommager l'appareil de mesure (tension maximale de $10 V_p$ en entrée de l'impédancemètre). Les variations de température étant inhomogènes lors d'un actionnement par DEP, ce cas de figure présente une grande complexité pour la résolution, et ne sera pas étudié dans ces travaux. 4 voies sont nécessaires pour l'application des diverses fonctionnalités d'actionnement requises, et 2 pour la circulation des signaux de mesure d'impédance
- Bascule entre toutes les paires d'électrodes que l'on peut former à l'aide de 8 électrodes (28 paires)
Chaque paire pouvant potentiellement fournir une mesure d'intérêt, l'appareil doit être en mesure de basculer entre toutes les paires

Et les spécifications techniques sont :

- Nombre de voies réservées à l'instrumentation : 6
4 voies sont nécessaires pour l'application des diverses fonctionnalités d'actionnement requises, et 2 pour la circulation des signaux de mesure d'impédance
- Nombre de voies réservées pour le routage des signaux : 8
Le design proposé pour l'estimation de position dans le plan comprend 8 électrodes destinées à l'actionnement et la mesure dans la zone d'intérêt. Le routeur doit pouvoir adresser chacune de ces électrodes.
- Tension maximale acceptée par les composants : $15 V_p$ minimum
Les composants doivent pouvoir supporter les tensions d'actionnement. On souhaite afin d'obtenir une force de DEP suffisante que la tension admissible soit de au moins $15 V_p$. Il est à noter que les courants sont extrêmement faibles en raison de la forte impédance du milieu électrolytique, et ainsi qu'aucune spécification concernant le courant n'est requise.
- Temps de bascule : 1 ms maximum
Il est souhaité que le temps de bascule soit suffisamment faible pour effectuer un grand nombre de mesures dans un laps de temps relativement court. Cette valeur peut être discutée au besoin.
- Fréquences de signaux admissibles : jusqu'à 1 MHz



(a) Diagramme illustratif du fonctionnement.



(b) Photographie.

FIGURE 3.27 Présentation du routeur de signaux. (a) Illustration du fonctionnement : les signaux d'actionnement et de mesure peuvent être envoyés vers les électrodes désirées de la puce. (b) Photographie du dispositif.

Les signaux de mesure étant typiquement de 500 kHz, et d'actionnement de quelques dizaines ou centaines de kHz, des signaux de 1 MHz de fréquence doivent pouvoir transiter dans le routeur.

— Dispositif blindé

Les signaux doivent au mieux être isolés de toute forme de perturbation afin de garantir la fiabilité des mesures notamment.

Une carte répondant aux spécifications a été développée en interne (voir Figure 3.27) en raison de la spécificité du besoin (rapidité, fortes tensions, nombre important d'électrodes...), rendant le type de routage non générique introuvable dans le commerce. Celle-ci permet l'application de 2 ou 4 potentiels d'actionnement simultanés, et peut également être reliée à l'appareil de mesure. Les signaux d'actionnement et de mesure peuvent être placés sur 8 voies distinctes. Différents composants assurent qu'aucun signal ne puisse endommager l'appareil de mesure. Les composants ont été sélectionnés afin d'être compatibles temps-réel, et ont un temps de réponse inférieur à la microseconde. La carte est munie d'un CPLD (circuit logique programmable), permettant d'enclencher la bascule de multiplexeurs internes pour le basculement des voies de la carte. Le CPLD est piloté grâce à 16 bits de programmation. Les signaux de consigne de bascule sont envoyés depuis les DI/Os (entrées/sorties numériques) de l'impédancemètre. Les tensions qu'il est possible d'appliquer en mode actionnement sont de $\pm 22 V_p$. La fréquence des signaux admissible est de 20 MHz. Enfin, le boîtier et l'ensemble des câbles utilisés pour la mesure sont blindés. Les détails techniques concernant cette carte de routage sont donnés Annexe B.

3.6.2/ Acquisition

Afin d'estimer la position d'une bille, l'acquisition des signaux doit pouvoir se faire en temps-réel. Etudions en premier lieu la chaîne d'acquisition des signaux, présentée Figure 3.28.

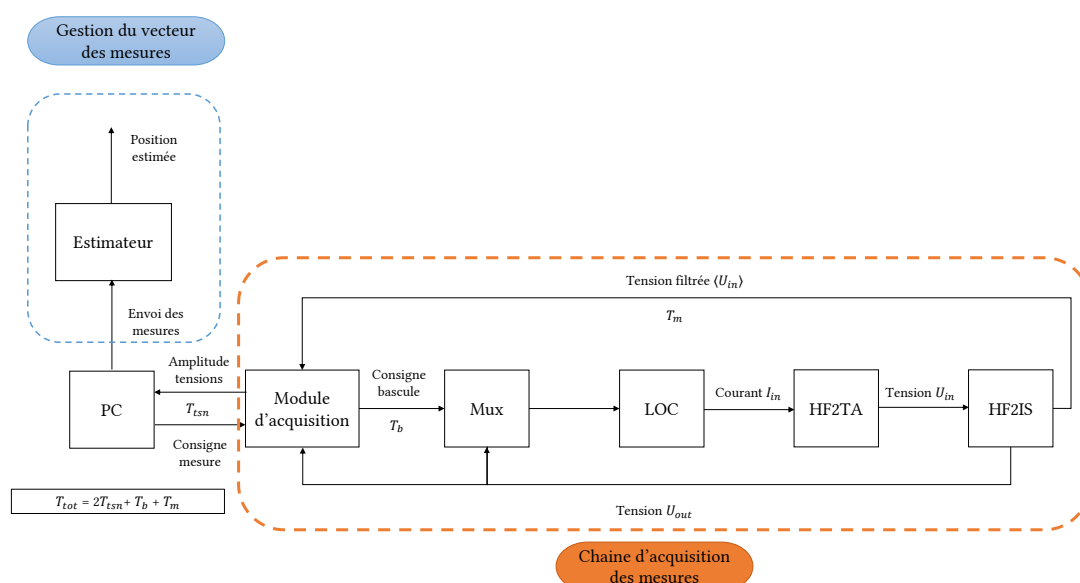


FIGURE 3.28 Diagramme descriptif de la chaîne d'acquisition des signaux de mesure d'impédance.

Le PC, par l'intermédiaire d'un module d'acquisition, envoie une consigne de bascule au multiplexeur, le signal d'excitation circule alors au niveau des deux électrodes choisies¹. Une tension image du courant mesuré est envoyée par le HF2TA vers le HF2IS. Celui-ci filtre le signal à l'aide de l'amplificateur à détection synchrone. La tension moyennée est alors retournée sous forme analogique vers la carte. Son amplitude est enfin envoyée sous forme numérique vers le PC, pouvant calculer à partir de cette donnée l'impédance Z entre les électrodes. Le temps de commutation du

1. Dans le cadre de ces travaux, le module d'acquisition est intégré dans le HF2IS. Une formulation plus générique est donnée ici car l'envoi des mesures vers le PC est lente et pourra être optimisée dans des travaux ultérieurs, à travers l'utilisation d'une carte de type PCI ou dSPACE par exemple.

multiplexeur est supposé négligeable. Deux actions à durée fixée par la technologie interviennent : la communication entre le PC et la carte T_{sn} et l'envoi de la consigne de bascule depuis la carte vers le multiplexeur T_b . La durée de mesure T_m est quant à elle fixée par l'opérateur. Celle-ci est égale à deux fois la période d'intégration du filtre T_i : $T_m = 2T_i$ afin de s'assurer que le signal intégré soit sur toute sa durée celui de la dernière voie sélectionnée.

Le fait que les mesures soient multiplexées peut poser un inconvénient notable qui est que l'impédance mesurée par chaque paire se fera pour des positions différentes si l'objet est en mouvement. Afin d'obtenir une estimation correcte, il faut que toutes les mesures d'un vecteur des mesures donné soient fournies pour une position que l'on peut considérer comme constante. Autrement dit, la dynamique d'acquisition des mesures doit être grande devant celle de l'objet². L'opérateur peut jouer sur la période d'intégration du filtre, comme illustré Figure 3.29, de façon à ce que le vecteur des mesures soit acquis dans une période suffisamment courte comparé à la dynamique de l'objet (temps total de transit T_{tot} négligeable), avec toutefois la limite imposée par la technologie pour le transit des signaux. La robustesse apportée par le nombre de mesures est toutefois diminuée par l'amplitude du bruit apportée par une période d'intégration du signal plus faible. Il est également possible d'utiliser une méthode d'estimation tenant compte du caractère séquentiel des mesures, ce point sera abordé dans le dernier chapitre.

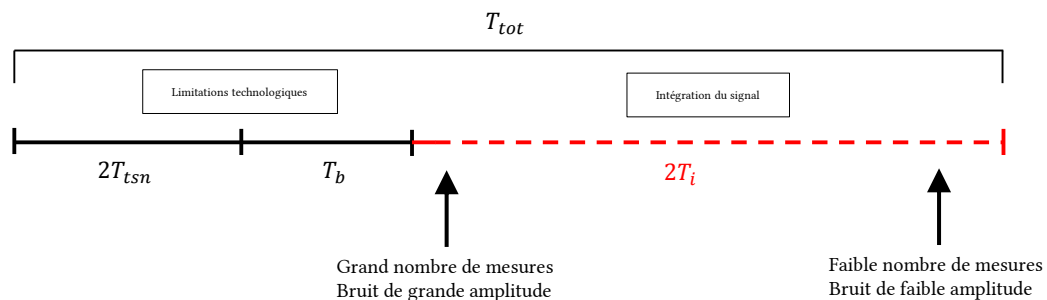


FIGURE 3.29 Illustration de la période d'acquisition d'un signal de mesure.

3.7/ Présentation de la plateforme finale

Les divers éléments de la plateforme, qu'il s'agisse de l'instrumentation, du World-to-Chip ou des puces fluidiques, ont été conçus, fabriqués et assemblés. La Figure 3.30 donne un visuel du développement de la partie macroscopique (le dispositif d'actionnement motorisé présenté section 3.3.3 n'y figure pas afin de faciliter la visualisation). La plateforme répond aux différentes fonctions spécifiées en début de ce chapitre, à savoir la possibilité de fournir un support matériel capable d'effectuer des mesures d'impédance reproductibles lorsqu'une bille microscopique se trouve dans la zone de détection.

Les puces ont été fabriquées et intégrées à la plateforme à l'aide du World-to-chip, comprenant les divers éléments électriques et fluidiques montrés Figure 3.30b, permettant la connexion entre le micromonde et l'instrumentation. La puce est montée sur le circuit imprimé. Lui-même est relié à l'instrumentation à travers 12 câbles pour l'envoi de signaux d'actionnement et de mesure. Le

2. Par exemple, pour un dispositif de détection 1D utilisé dans des expérimentations à l'EPFL, la dynamique d'acquisition de 10 kHz est suffisante pour un échantillon se déplaçant à une vitesse approximative de 800 $\mu\text{m/s}$ (voir Figure 4.9 dans le chapitre suivant). Le déplacement entre deux mesures est donc approximativement de 80 nm, soit 1 % du diamètre de l'objet. Pour un dispositif comprenant plusieurs paires de mesure, l'ensemble des mesures doit pouvoir être obtenu dans une période suffisamment faible pour que le déplacement de l'objet puisse être supposé négligeable.

capot de PDMS surplombé du connecteur en PMMA sont reliés à des seringues dans lesquelles sont placés les objets, mélangés au liquide. Elles-mêmes sont reliées au régulateur de pression.

Sur la Figure 3.30a, il est possible de distinguer la partie instrumentation. Un microscope sur lequel est montée une caméra permet la visualisation du dispositif ainsi que l'enregistrement d'images, pour l'étalonnage notamment. Des platines de positionnement (3 axes) permettent le positionnement de la zone d'intérêt du dispositif au niveau du focus du microscope. Le régulateur de pression, les générateurs de signaux et l'impédancemètre sont également présents pour l'actionnement et la mesure. Un PC (non visible sur l'image, processeur intel core i5) permet le traitement des données. L'ensemble de la plateforme est placé sur une table isolée afin qu'aucune vibration ne perturbe les mesures.

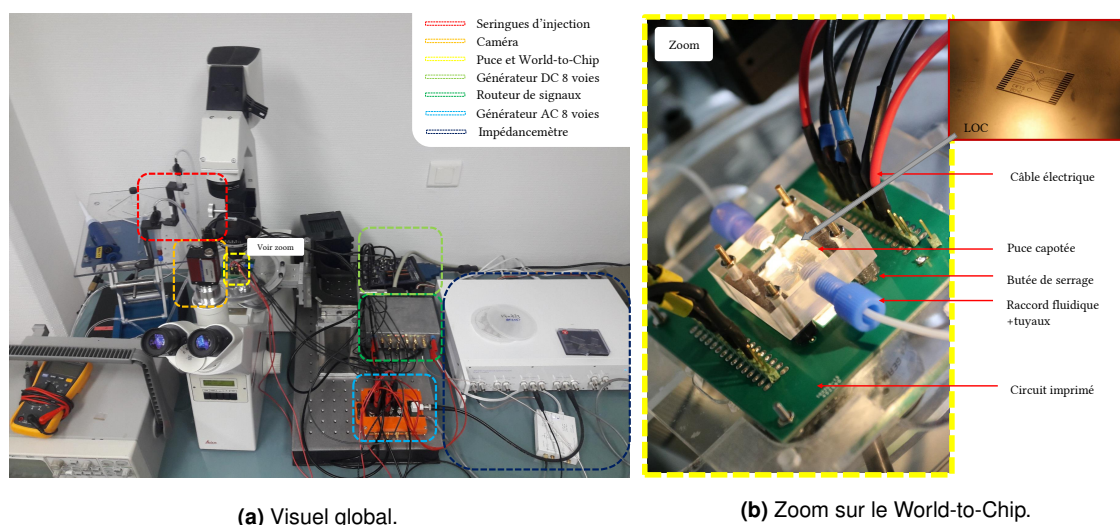


FIGURE 3.30 La plateforme expérimentale développée. **(a)** Visuel global de la plateforme : la puce et le World-to-Chip sont reliés à l'ensemble de l'instrumentation : caméra, microscope, régulateur de pression, générateurs de signaux, impédancemètre. **(b)** Zoom vers le World-to-Chip : la puce est reliée fluidiquement et électriquement à l'instrumentation en vue d'effectuer les expérimentations.

3.8/ Conclusion

Dans ce chapitre, la conception et la fabrication d'une plateforme de détection de position par impédancemétrie d'objets micrométriques dans une puce fluide ont été présentées. Les procédés de fabrication des puces ont été décrits. Celles-ci s'intègrent au reste de la plateforme à travers les interconnexions fluidiques et électriques du World-to-chip, et sont reliées à une instrumentation complète d'actionnement et de détection, qui peut être pilotée avec l'intermédiaire d'un PC. Grâce aux choix énoncés dans ce chapitre cette plateforme est capable de fournir des mesures d'impédance en temps réel. Un positionnement précis et reproductible des billes permettra de mener à bien l'étalonnage du capteur et d'évaluer la pertinence de cette approche de détection de position par impédancemétrie. Ce capteur doit maintenant être étalonné à l'aide de la mesure de position par vision, ce qui est l'objet du chapitre suivant.

Chapitre 4

Modèle de la variation d'impédance

Dans le chapitre précédent, la plateforme développée a été présentée. Cette plateforme comprend les puces dans lesquelles vont transiter les billes, ainsi que divers moyens d'actionnement et de détection nécessaires pour les expérimentations. Ce chapitre est dédié à l'obtention du modèle liant l'impédance à la position d'une bille dans la zone de détection, qui sera qualifié de *modèle direct* (voir Figure 4.1). La définition théorique du modèle direct y est formulée, celui-ci sera ensuite identifié pour plusieurs capteurs à l'aide de la plateforme et de simulations.

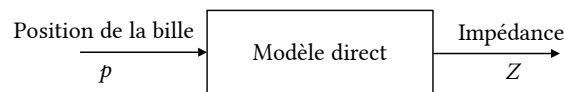


FIGURE 4.1 Objectif de ce chapitre : construction d'un modèle permettant le calcul de l'impédance en fonction de la position de la bille.

Ce modèle pourra, dans le chapitre suivant, être inversé (obtention du *modèle inverse*) dans le but de contribuer à l'estimation de la position de billes à partir de mesures d'impédance.

4.1/ Définition de l'impédance du système

Des puces fluidiques comprenant plusieurs géométries et configurations d'électrodes, dans lesquelles transiteront des billes en polymère, ont été développées. Par des mesures d'impédance, l'objectif est de déterminer la position d'une bille dans ces puces. Ces impédances sont déduites en fixant la tension entre deux électrodes, en mesurant le courant puis en calculant le quotient tension/intensité. La fréquence des signaux d'excitation est fixe et de $f = 500$ kHz afin de limiter les effets capacitifs de la double couche, comme décrit plus loin. La méthode reste compatible avec l'utilisation de cellules car celles-ci conservent un comportement électrique isolant à cette fréquence (membrane non court-circuitée).

4.1.1/ Hypothèses

On considère un dispositif composé d'un milieu salin conducteur purement résistif de paramètre (σ) , de N électrodes servant à la mesure et d'une bille dont la position doit être estimée, comme illustré Figure 4.2. Dans un premier temps, nous considérerons le cas général, pour lequel la

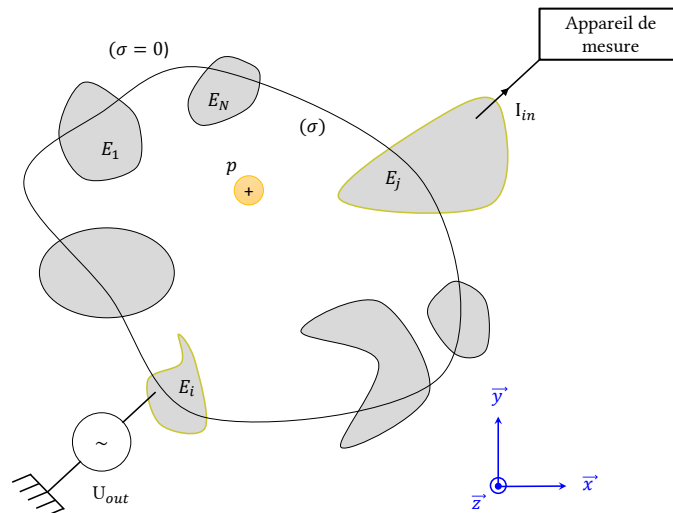


FIGURE 4.2 Illustration du système étudié. On considère un milieu fluide purement résistif dans lequel se trouvent une bille d'impédance infinie se déplaçant dans la zone de mesure et N électrodes.

géométrie et le positionnement des électrodes est quelconque. Différents éléments peuvent influencer sur l'impédance mesurée par l'instrumentation de mesure :

- Les propriétés électriques du milieu électrolytique : elles influent sur l'impédance mesurée, et présentent également une dépendance à la température, qui peut varier au cours des expérimentations.
- La position de la bille : la bille est un isolant électrique qui par définition a des propriétés électriques distinctes de celles du milieu électrolytique, et donc sa position a une influence sur l'impédance mesurée.
- L'impédance de la double couche : les effets de la double couche peuvent être modélisés par une résistance et une capacité en série par rapport au milieu de mesure (milieu électrolytique et bille). Les effets sont majoritairement capacitifs.
- Les pertes au niveau du circuit imprimé : l'impédance entre deux voies du circuit imprimé peut être représentée par une capacité et une résistance en parallèle entre deux voies du circuit (ou entre une voie et le plan de masse). La résistance entre deux voies du circuit imprimé étant grande (supérieure à 10 MΩ dans le cas présent), les pertes peuvent être modélisées par une capacité.
- Les pertes au niveau de la carte de routage : il s'agit de pertes par diaphonie (ou crosstalk), dont l'amplitude dépend des composants utilisés, et est fournie par le fabricant. Ces pertes augmentent entre autres lorsque la tension admissible du composant augmente.
- L'actionnement : les différentes formes d'actionnement comme la force de DEP ou l'actionnement fluide peuvent engendrer des variations de la température du milieu, ce qui a une influence sur la mesure.

Dans toute la suite les hypothèses suivantes seront faites :

- L'impédance de la double couche est négligeable : cela s'explique par le fait que la résistance de la double couche est faible devant celle du milieu électrolytique, et que sa capacité est supposée court-circuitée à la fréquence du signal d'excitation. Dans la réalité, ces valeurs ne sont pas strictement nulles. Etant en série par rapport au milieu de mesure, cette impédance peut être évaluée en se basant sur la littérature^{137,138} et soustraite à l'impédance mesurée.

- Le milieu électrolytique est purement résistif : les milieux électrolytiques utilisés en impédancemétrie présentent une forte conductivité. On considère qu'à 500 kHz les effets capacitifs dans la zone d'intérêt sont négligeables. L'impédance mesurée ne dépend donc pas de la permittivité diélectrique du milieu. A titre informatif, des simulations (non présentées ici) estiment le rapport entre la partie réelle et imaginaire de l'impédance de l'ordre de 500 pour le système étudié à la fréquence de signal d'excitation de 500 kHz.
- La conductivité est homogène dans la zone de détection : la dissipation de chaleur à l'échelle d'une puce fluide est importante, et cette hypothèse se vérifie en l'absence d'actionnement. Toutefois, la DEP crée un échauffement non homogène du milieu. Ce type d'actionnement est donc incompatible en simultané d'une mesure d'impédance.
- Les pertes au niveau du circuit imprimé sont négligeables : on suppose le circuit et les divers connecteurs dimensionnés pour se placer sous cette hypothèse. L'impédance entre deux voies peut être mesurée en l'absence de puce et de la carte de routage au préalable afin de vérifier la validité de cette hypothèse.
- Les pertes par diaphonie sont négligeables : les composants internes de la carte de routage sont supposés dimensionnés de manière à ce que les pertes soient faibles en comparaison du signal qui transite dans le circuit (haute impédance entre les voies). L'impédance entre deux voies peut être mesurée en l'absence de puce et du circuit imprimé au préalable afin de vérifier la validité de cette hypothèse.

Ces différentes hypothèses seront considérées pour le développement analytique, dans les simulations, et pour la validation de concept dans la partie expérimentale.

4.1.2/ Influence relative des paramètres sur l'impédance

Dans cette partie, l'objectif est de mettre en évidence l'influence du modèle de variation de conductivité vis-à-vis du modèle d'intérêt permettant de remonter à la position de l'objet. On se base pour cela sur des simulations numériques à l'aide d'un modèle éléments finis du capteur 2D développé dans le chapitre précédent (voir dessin Tableau 4.1). Trois simulations sont réalisées : la première consiste à faire une mesure de l'impédance en l'absence d'objet pour une conductivité donnée. Dans la seconde simulation, un objet isolant est introduit au centre de la zone de mesure (là où son influence est maximale sur la variation d'impédance). Enfin dans la dernière, la conductivité est modifiée de façon à modéliser une élévation de température de 5°C (avec une variation de conductivité de 2 %/°C), et l'impédance est mesurée en l'absence d'objet. On se base sur une simulation numérique (voir Tableau 4.1). Pour ce cas, la présence de l'objet modifie de 0,33 % la valeur de l'impédance, tandis que pour le changement de température la modification est de 17 %, soit un ratio de 50 environ.

En conclusion, le signal d'intérêt, c'est-à-dire la variation d'impédance induite par la présence d'une bille dans la zone de détection, présente des variations faibles en comparaison des variations induites par un changement de température extérieure. De surcroît, une variation locale de quelques dixièmes de degrés est suffisante pour fausser le modèle lié à la position dans une zone de détection de quelques dizaines de micromètres. La formulation du problème direct doit donc tenir compte de la dérive thermique. Cela est fait en définissant l'impédance entre deux électrodes comme étant dépendante de la position de l'objet et de la conductivité :

$$Z = Z(p, \sigma) \quad (4.1)$$

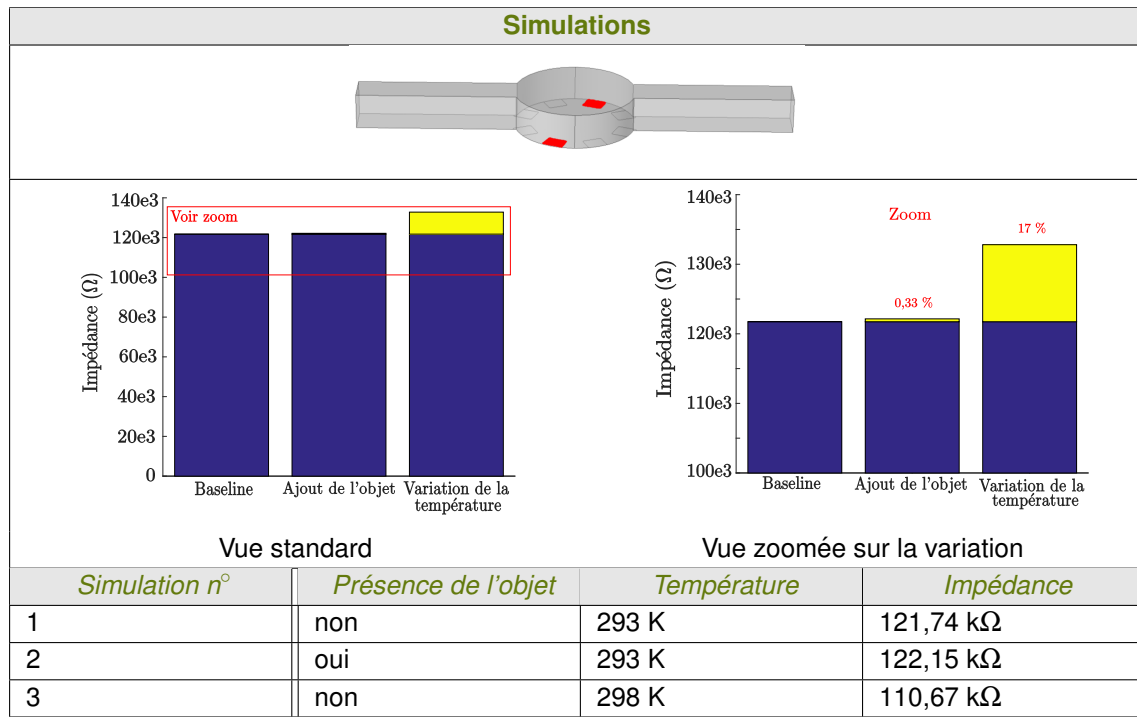


TABLE 4.1 Compte-rendu des simulations effectuées concernant l'influence relative des deux variables sur l'impédance du système.

4.1.3/ Formulation générale de l'impédance du système

L'impédance mesurée dépend donc de la conductivité du milieu σ et de la position de la bille dans la zone de détection p (voir illustration Figure 4.3). On considère deux électrodes E_i et E_j . On définit l'indice :

$$m = -\frac{1}{2}(i-1)^2 + (N - \frac{3}{2})(i-1) + j - 1 \quad (4.2)$$

avec N le nombre d'électrodes, i et j des entiers positifs distincts avec $j > i$, de sorte que l'ensemble des impédances entre les paires $Z^m(p, \sigma)$ soit ordonnée pour m entier appartenant à $\llbracket 1, M \rrbracket$. On obtient ainsi le vecteur de mesure suivant :

$$Z(p, \sigma) = \begin{bmatrix} Z^1(p, \sigma) \\ Z^2(p, \sigma) \\ \vdots \\ Z^{N-1}(p, \sigma) \\ Z^N(p, \sigma) \\ \vdots \\ Z^m(p, \sigma) \\ \vdots \\ Z^{\frac{N(N-1)}{2}}(p, \sigma) \end{bmatrix} \quad \begin{array}{ll} \leftarrow & \text{mesure des électrodes 1,2} \\ \leftarrow & \text{mesure des électrodes 1,3} \\ & \\ \leftarrow & \text{mesure des électrodes 1,N} \\ \leftarrow & \text{mesure des électrodes 2,3} \\ & \\ \leftarrow & \text{mesure des électrodes } i,j \\ & \\ \leftarrow & \text{mesure des électrodes (N-1),N} \end{array} \quad (4.3)$$

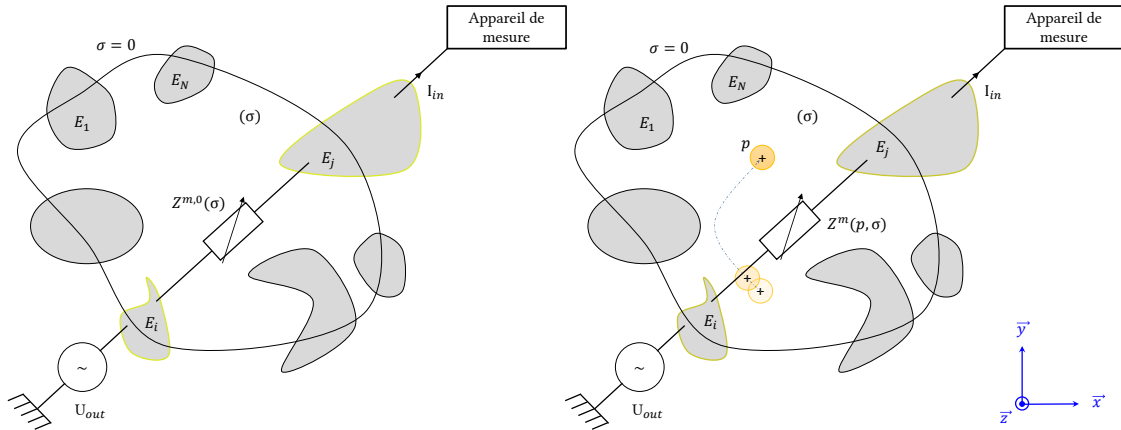


FIGURE 4.3 Schéma équivalent simplifié du système. L'impédance du milieu peut être modélisée par une résistance variable, dont la valeur dépend de la conductivité et de la position de la bille.

Dans toute la suite, la valeur de l'impédance en l'absence de bille $Z^{m,0}(p, \sigma)$ sera dénommée *baseline* :

$$Z^m(p = p_\infty, \sigma) = Z^{m,0}(\sigma) \quad (4.4)$$

où p_∞ désigne (abusivement, dans un souci de légèreté des notations) toutes les positions suffisamment éloignées de la zone de mesure de sorte que l'impact de l'objet sur la mesure peut être négligé.

Dans les parties suivantes, l'objectif est de déterminer l'influence relative de la position de la bille p et de la conductivité σ sur l'impédance.

4.1.4/ Formulation du modèle direct

Le milieu électrolytique étant supposé purement résistif, et la bille étant un isolant parfait, chaque impédance est inversement proportionnelle à la conductivité. Ainsi, il est possible de formuler les baselines et impédances mesurées en introduisant la conductivité normalisée $\frac{\sigma}{\sigma_0}$, permettant la séparation des variables position et conductivité :

$$Z^{m,0}(\sigma) = \frac{\sigma_0}{\sigma} Z^{m,0}(\sigma_0) \quad (4.5)$$

$$Z^m(p, \sigma) = \frac{\sigma_0}{\sigma} Z^m(p, \sigma_0) \quad (4.6)$$

avec σ_0 une conductivité quelconque fixe. S'agissant d'une hypothèse forte, celle-ci devra être vérifiée expérimentalement.

La méthode proposée ici afin de s'affranchir du signal non dépendant de la position et de la dépendance dans la conductivité est une extension de la méthode classique de mesure différentielle. La méthode classique propose d'utiliser deux paires d'électrodes, la première servant à recueillir un signal Z^m notamment lorsque l'objet est présent, la seconde servant de référence $Z^{m,0}$. Les deux signaux sont soustraits de manière à obtenir la variation d'impédance due à la bille

$Z^m - Z^{m,0}$. Ainsi le signal de sortie n'est plus soumis aux larges dérives induites par un changement de conductivité. Ainsi l'impédance mesurée $Z^m(p, \sigma)$ peut se mettre sous la forme suivante :

$$\begin{aligned} Z^m(p, \sigma) &= \frac{\sigma_0}{\sigma} Z^m(p, \sigma_0) \\ &= \frac{\sigma_0}{\sigma} Z^{m,0}(\sigma_0) \left[1 + \frac{Z^m(p, \sigma_0) - Z^{m,0}(\sigma_0)}{Z^{m,0}(\sigma_0)} \right] \\ Z^m(p, \sigma) &= Z^{m,0}(\sigma) [1 + \phi_m(p)] \end{aligned} \quad (4.7)$$

avec $\phi_m(p) = \frac{Z^m(p, \sigma_0) - Z^{m,0}(\sigma_0)}{Z^{m,0}(\sigma_0)}$. Une illustration des fonctions ϕ_m est donnée Figure 4.4. Ces fonctions représentent, pour chaque paire m d'électrodes, la variation relative de l'impédance en fonction de la position quelle que soit la conductivité du milieu électrolytique. Chaque paire possède son propre modèle en fonction de la géométrie et de la position des électrodes utilisées.

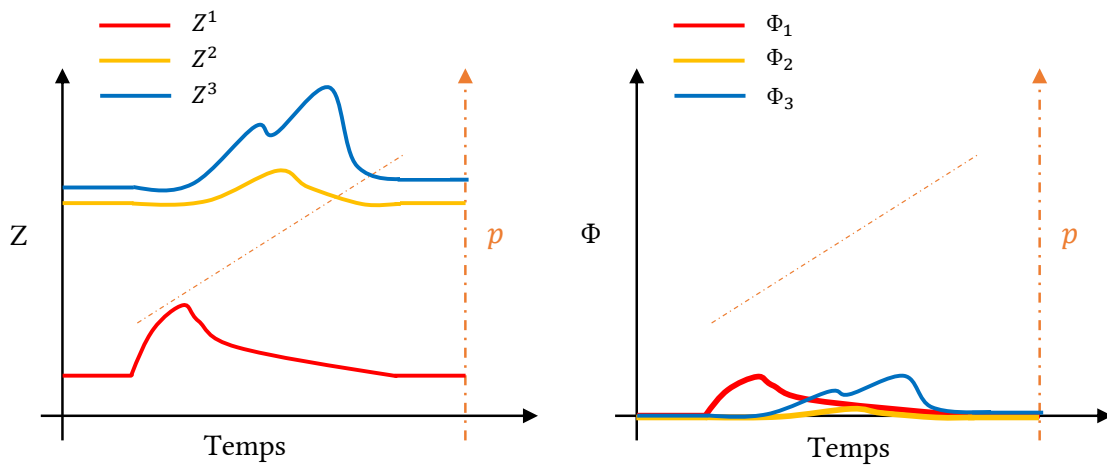


FIGURE 4.4 Illustration des variations temporelles d'impédance dues à la position de la bille pour plusieurs paires de mesures : impédance (à gauche) et variation relative d'impédance (à droite) à conductivité fixe.

Dans l'Equation 4.7, la formulation donnée est le produit d'une fonction dépendant uniquement de la position, et d'une autre dépendant uniquement de la conductivité. Grâce à cette séparation des variables, le modèle analytique lié à la conductivité est dissocié du modèle lié à la position. Ce dernier pourra ainsi être identifié expérimentalement et indépendamment de la conductivité d'étalonnage, ce qui sera fait dans les sections qui suivent.

4.2/ Identification du modèle direct de position pour un cas 1D

L'objectif de cette section est d'exploiter les méthodes d'estimation développées dans les sections précédentes afin de valider expérimentalement la possibilité de détecter la position par impédancemétrie en 1D. Le modèle de variation d'impédance est défini comme étant dépendant de deux variables : la conductivité et la position de l'objet, et est décrit par la fonction Equation 4.7. Le modèle de variation d'impédance en fonction de la conductivité, décrit par la fonction $Z^{m,0}(\sigma)$ (Equation 4.5), est défini comme linéaire en $\frac{1}{\sigma}$. On cherchera ici à mettre en évidence la dépendance à la position de l'impédance, définie par la fonction $1 + \phi_m(p)$.

Ces expérimentations ont été menées au département LMIS4 de l'EPFL, avec mise en commun du savoir-faire et du matériel. Le dispositif expérimental est composé d'une puce microfluidique (voir Figure 4.5), et de la plateforme comprenant les unités d'actionnement et de détection

décrites dans le chapitre précédent. Les canaux de la puce font respectivement $40\text{ }\mu\text{m}$ de largeur et $20\text{ }\mu\text{m}$ d'épaisseur. Les électrodes en croix présentées dans le chapitre précédent sont exploitées pour la détection. Les motifs terminaux des électrodes servant à la détection sont inclus dans un carré de $40\text{ }\mu\text{m}$ de côté, et ont un espacement de $80\text{ }\mu\text{m}$. Celles-ci sont alimentées avec un signal alternatif de $1,6\text{ Vpp}$ à une fréquence de 500 kHz . Des électrodes sont utilisées pour assurer le centrage des objets et ainsi la répétabilité des mesures. Les potentiels appliqués sur les électrodes sont des signaux sinusoïdaux en opposition de phase d'amplitude 23 Volts pic à pic, avec une fréquence de 70 kHz . L'unité de détection vise à détecter la position des billes.

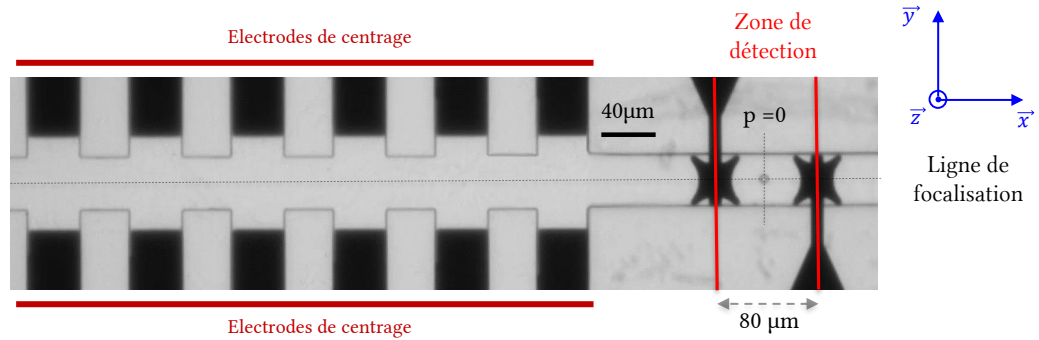


FIGURE 4.5 Photographie illustrée de la puce. L'actionnement fluide guide les billes dans le canal et les électrodes de centrage par DEP les centrent dans la section du canal. La position des billes est détectée par des mesures d'impédance (dans la zone de détection).

Dans cette expérience, on suppose que le temps de parcours des billes entre le centre de chaque électrode de détection est d'environ 100 ms . Ceci permet de fixer le taux d'échantillonnage à $10 \cdot 10^3\text{ Hz}$, et la constante de temps du filtre passe-bas du spectroscopie d'impédance à $70\text{ }\mu\text{s}$. Pour étalonner le capteur de position, la caméra sera utilisée. Une solution conductrice ($\sigma = 1\text{ S/m}$, $\epsilon = 80$) et des billes d'impédance supposée infinie (Estapor, $8,7\text{ }\mu\text{m}$ de diamètre) sont choisies. La puce est remplie de la solution de PBS dilué dans laquelle les billes sont injectées. La concentration en billes dans le milieu est d'environ 10^6 billes par millilitre. Celles-ci sont déplacées à l'intérieur de la puce par le liquide électrolytique.

En l'état, la plateforme est en mesure de fournir des mesures du milieu dans lequel les billes traversent, centrées dans la section du canal, la zone de mesure. La détection peut alors être effectuée.

4.2.1/ Extraction des signaux

L'impédance $Z^1(p, \sigma)$ entre les électrodes de détection est mesurée et le résultat est présenté Figure 4.6a. Deux phénomènes peuvent être observés sur cette figure : (i) il y a une dérive du signal mesuré et (ii) des pics de magnitude élevée, correspondant à la présence de billes ou d'impuretés entre les électrodes de mesure, sont présents. La dérive est principalement due à un changement de conductivité qui est, entre autres causes, dû au changement de température produit par les actionneurs. La chaleur modifie la conductivité du milieu, ce qui modifie la valeur de la baseline $Z^{1,0}(\sigma)$.

L'objectif de cette section est, à partir des mesures fournies par la paire d'électrode, d'identifier les grandeurs suivantes :

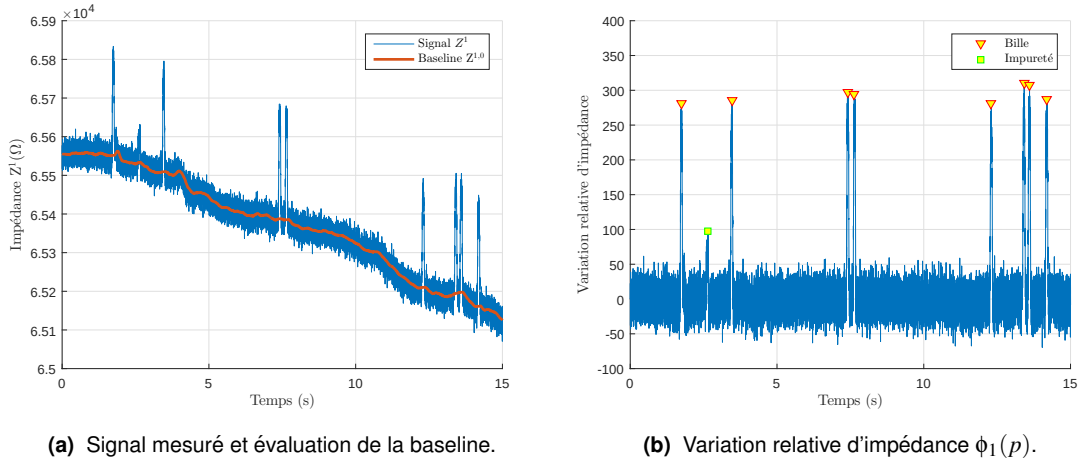


FIGURE 4.6 Extraction en temps réel du signal d'intérêt. (a) Le signal mesuré $Z^1(p, \sigma)$ est filtré et seuillé en temps-réel pour obtenir la baseline $Z^{1,0}(\sigma)$ en appliquant une médiane glissante. (b) La variation relative de l'impédance est évaluée en temps-réel.

- L'amplitude de la baseline $Z^{1,0}(\sigma)$: il s'agit de la partie du signal dépendante de la conductivité, qui doit être identifiée afin de déterminer la partie dépendante de la position. Comme mentionné précédemment, $Z^{1,0}(\sigma)$ sera ici évaluée par un simple filtrage. La valeur filtrée du signal $Z^1(p, \sigma)$ est égale à la baseline $Z^{1,0}(\sigma)$ en l'absence de bille. Lorsqu'une brusque variation est détectée, on considère qu'une bille est présente, et la dernière valeur connue de la baseline est enregistrée et considérée durant l'estimation de la position de la bille. Il s'agit d'une solution valide sous l'hypothèse que le temps de passage d'une bille est suffisamment faible pour que la dérive n'ait pas un impact notable, ce qui est vérifié ici (durée de passage de 100 ms environ) :

$$Z^1(\sigma, p) = Z^{1,0}(\sigma)(1 + \phi_1(p)) \simeq Z^{1,0}(\sigma_0)(1 + \phi_1(p)) = Z^1(p) \quad (4.8)$$

Le type de filtrage utilisé est une médiane glissante appliquée au signal $Z^1(p, \sigma)$. Cette méthode s'apparente à un filtrage passe-bas et résiste aux événements rares, à savoir la variation d'impédance induite par les passages de billes. De plus, la médiane glissante peut automatiquement être arrêtée pendant la détection d'un pic afin de minimiser les erreurs d'estimation. La période d'intégration de la médiane glissante doit être suffisamment faible pour que la dérive n'ait pas fait évoluer l'impédance de manière significative, et élevée par rapport au temps de passage des billes et du bruit. Une médiane glissante de 100 ms est appliquée sur le signal mesuré $Z^1(p, \sigma)$, permettant d'obtenir la baseline $Z^{1,0}(\sigma)$. Il est ainsi possible de reconstruire $\phi_1(p)$ grâce à l'Equation 4.8. On peut remarquer que ce filtrage ne nécessite que l'obtention d'informations sur les valeurs précédemment mesurées et qu'il est donc compatible avec le traitement du signal en temps réel.

- La variation relative de l'impédance $\phi_1(p)$ due à la présence d'une bille : à partir de ce signal à dérive compensée (Figure 4.6b), un seuil est défini sur $\phi_1(p)$ au-dessus duquel une bille est considérée comme présente. L'évaluation de la baseline à l'aide de la médiane mobile est ensuite arrêtée jusqu'à ce que la bille quitte la zone de détection (c'est-à-dire que Z^1 diminue en dessous du seuil donné). Les billes détectées sont indiquées Figure 4.6b par les triangles. On peut remarquer une petite déviation sur les amplitudes maximales pour deux billes différentes. Cela peut être dû à une erreur entre la baseline réelle et la baseline mesurée, à une variation de l'altitude des billes dans le canal ou à des impuretés.

En particulier, le pic de faible amplitude à $t=2,6$ s est dû au passage d'une impureté, visible sur l'enregistrement vidéo.

- Le bruit de mesure : le bruit de mesure est extrait pour son étude dans les zones où aucune bille ou impureté n'est détectée.

Les signaux étant extraits, il est maintenant possible d'utiliser des données expérimentales pour l'identification de différents paramètres.

4.2.2/ Analyse du bruit de mesure

Les caractéristiques du bruit de mesure dépendent de nombreux paramètres tels que l'environnement extérieur, le câblage... et tout particulièrement de la période d'intégration de l'amplificateur à détection synchrone pour cette plateforme particulière. On en donne ici les caractéristiques pour notre système, avec les réglages de l'amplificateur mentionnés plus haut. Pour identifier expérimentalement le bruit, l'impédance du milieu est mesurée pendant une période supposée suffisamment longue pour obtenir des données statistiques fiables, dans notre cas cette valeur est de 30 s. La valeur moyenne du bruit est calculée et soustraite du signal (voir encadré de la Figure 4.7). À partir de ce bruit de mesure, l'écart type est évalué comme présenté Figure 4.7. Il s'avère que le bruit a une distribution gaussienne avec un écart type de $S_Z = 14,5 \Omega$.

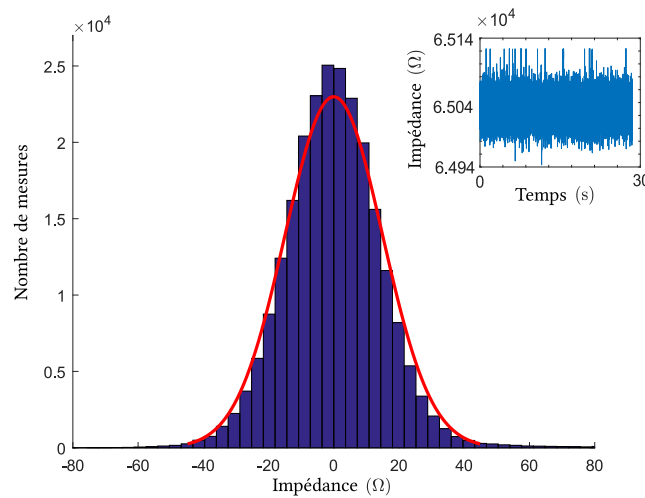


FIGURE 4.7 Distribution du bruit de mesure pour les expérimentations menées à l'EPFL sur le dispositif 1D. La moyenne du signal mesuré a été soustraite, et l'écart-type calculé est de $14,5 \Omega$. Amplitude du signal d'excitation : $1.6 V_{pp}$, vitesse d'échantillonnage : $10 \cdot 10^3$ Hz, constante de temps du filtre passe-bas du spectroscopie d'impédance : $70 \mu s$.

4.2.3/ Analyse de la dérive

La dérive du signal est quantifiée par le calcul de la variation d'impédance de la baseline en fonction du temps, et présenté Figure 4.8. La forme de la courbe ne présente pas de comportement prédictible. La dérive moyenne est importante est de $-29 \Omega \cdot s^{-1}$. Cette valeur négative conséquente s'explique notamment par les deux sources d'actionnement : la DEP et la vitesse du fluide, créant un échauffement global du milieu électrolytique. La DEP crée un échauffement local important par effet Joule. Les mouvements du fluide quant à eux créent un échauffement par frottement sur

l'intégralité des parois. Enfin, l'amplitude de la dérive de quelques dizaines de ohms par seconde, comparativement au temps de passage d'une bille de 100 ms environ, est acceptable pour la fiabilité des mesures, comme indiqué dans les protocoles d'étalonnage.

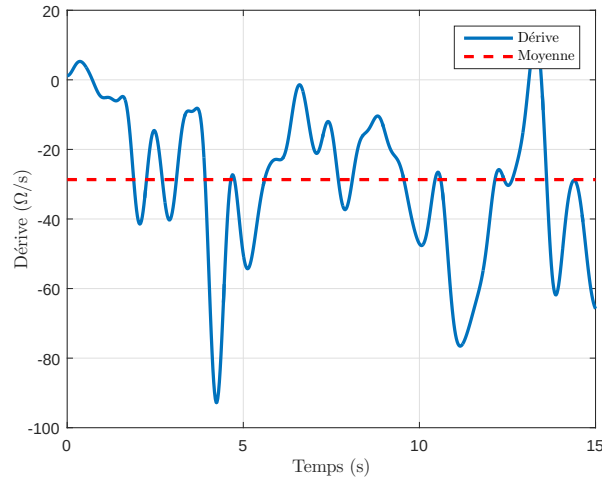


FIGURE 4.8 Quantification de la dérive thermique au cours de l'expérimentation pour le cas 1D (un filtrage passe bas a été appliqué à la baseline dont cette courbe présente la dérivée). La présence de plusieurs sources d'actionnement, d'amplitudes élevées, crée une forte dérive thermique induisant une variation moyenne de l'impédance mesurée de $-29 \Omega.s^{-1}$.

4.2.4/ Modèle direct

On définit la fonction ϕ_1^e , correspondant à la variation relative d'impédance par rapport à la position de la bille obtenue par étalonnage. Il s'agit de l'étalon qui servira de référence. Pour identifier la fonction ϕ_1^e , le capteur proposé est étalonné. L'étalonnage consiste à déterminer la dépendance entre l'impédance mesurée et la position d'une bille. Le spectromètre d'impédance fournit une mesure d'impédance en fonction du temps. La position d'une bille en fonction du temps est estimée par un capteur de position externe supplémentaire (dans ce cas : une caméra). Cette caméra n'est nécessaire que pour la phase d'étalonnage, qui est effectuée une seule fois, hors ligne. La période d'échantillonnage de la caméra étant inférieure à celle du spectroscopie, les positions obtenues de la caméra sont interpolées de manière à ce que la période entre deux mesures d'impédance et deux mesures de position avec la caméra soient égales. Les positions en fonction du temps fournies par la caméra et les mesures d'impédance en fonction du temps fournies par le spectroscopie sont ensuite corrélées pour obtenir l'impédance en fonction de la position, comme présenté Figure 4.9. La variation d'impédance obtenue expérimentalement est lissée à l'aide d'un filtre passe-bas à phase zéro et les valeurs sont interpolées. Ces données servent à définir la fonction ϕ_1^e du modèle direct, qui est enregistré et sera réutilisé pour l'estimation.

Il est à noter que la forme de la courbe est semblable à celles obtenues en simulation. En revanche, la courbe filtrée n'est pas parfaitement symétrique. Cela peut s'expliquer par une légère erreur de filtrage, d'estimation de la baseline, par une force de DEP exercée lors de la mesure ou encore par une sédimentation de la bille.

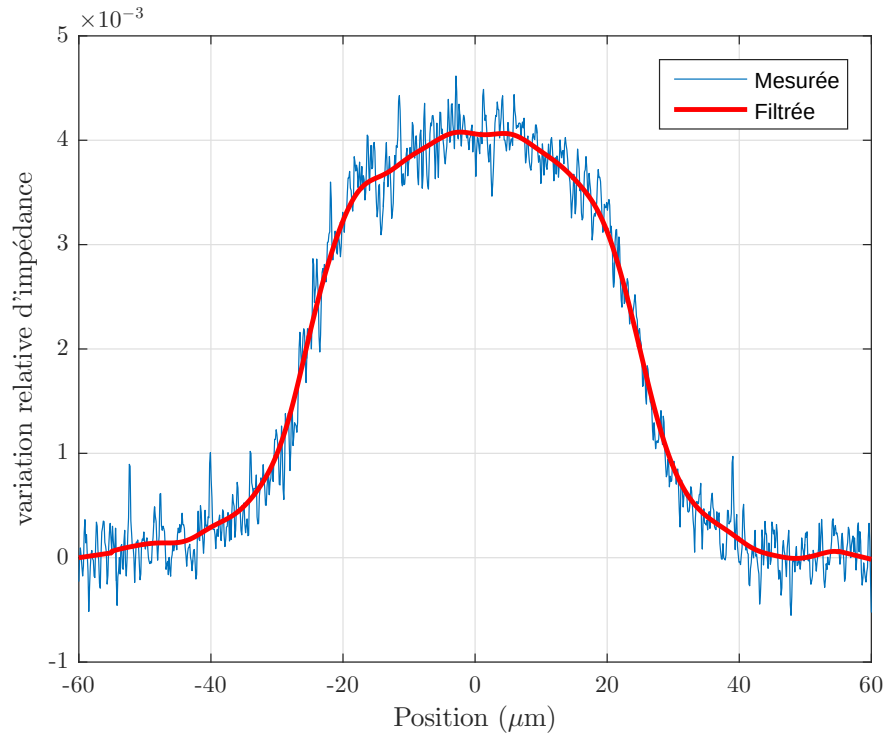


FIGURE 4.9 Définition de la fonction ϕ_1^e , modèle de variation relative d'impédance en fonction de la position, par étalonnage. Les données fournies par l'impédancemètre et la caméra sont corrélées, puis filtrées et interpolées pour la définition de la fonction.

4.3/ Identification du modèle direct de position pour un cas 2D

Dans la section précédente, la possibilité de détecter expérimentalement une variation d'impédance lors du passage d'une microbille a été démontrée. Le modèle de la variation relative d'impédance, indépendant de la conductivité, a de plus été identifié, ainsi que d'autres paramètres tels que le niveau de bruit et de dérive. Cette preuve étant établie, l'objectif de cette section est de décrire un travail visant à se rapprocher d'un capteur de position, pour lequel la connaissance du modèle de variation d'impédance doit être connu selon les deux axes du plan. Cette partie a été exclusivement effectuée au laboratoire FEMTO-ST.

L'objectif de cette section est de mettre en évidence la réponse du capteur selon deux axes, à altitude constante. Obtenir le modèle de cette variation en fonction de la position, puis tester la réponse pour une trajectoire donnée nécessite une évolution de la méthode d'actionnement par rapport au cas 1D. Pour le dispositif 2D, un bassin microfluidique de 70 μm de diamètre et de 20 μm de hauteur dans lequel se trouvent 8 électrodes (cercle inscrit aux électrodes de 50 μm), un milieu liquide de conductivité $\sigma = 1 \text{ S/m}$ et un objet sphérique isolant de 8 μm de diamètre sont considérés. Figure 4.10, on rappelle le design du dispositif 2D développé dans le chapitre précédent. On rappelle également que deux dispositifs ont été développés pour le cas 2D : un banc d'essai à actionnement motorisé et un dispositif fermé avec actionnement par DEP. La procédure d'identification sera décrite pour chacun d'eux.

Comme mentionné dans le chapitre précédent, on utilise pour cette étape des moteurs afin de déplacer une bille fixée au préalable au bout d'une pointe. L'objectif est, pour la première campagne de mesures, de s'affranchir d'éventuels bruits liés à l'utilisation de la DEP associée à la procédure

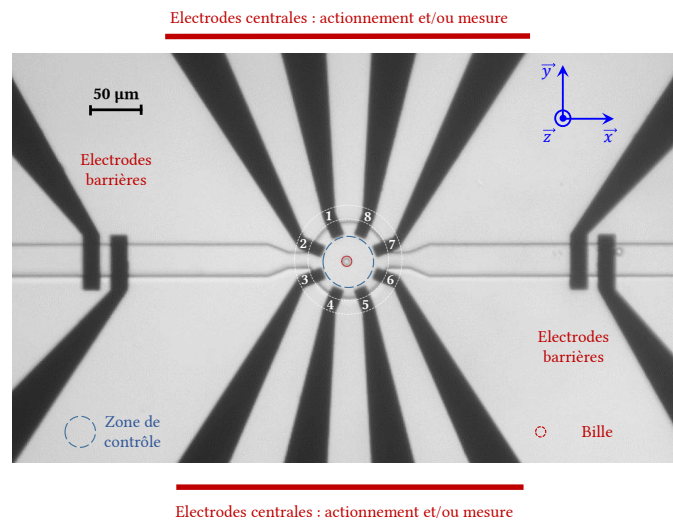


FIGURE 4.10 Visuel du dispositif de détection 2D.

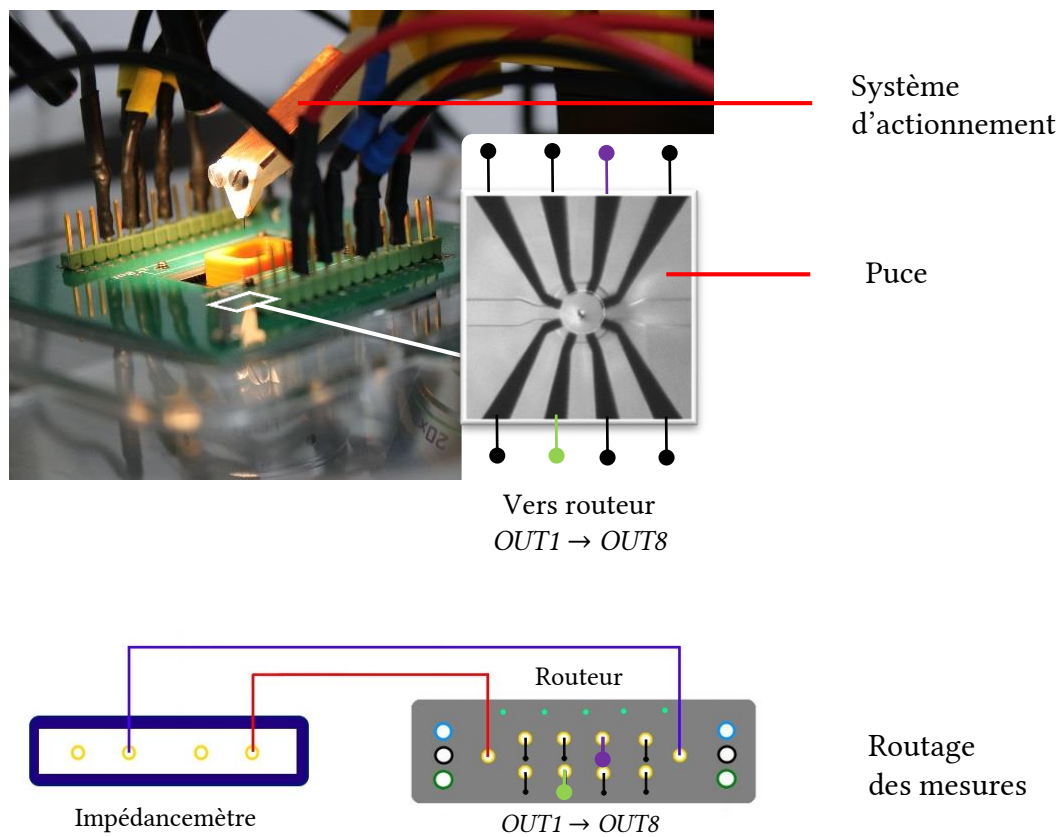


FIGURE 4.11 Visuel de la plateforme avec zoom sur la puce et illustration des connections avec la partie instrumentation de mesure.

d'étalonnage proposée en milieu fermé. La puce est cette fois-ci ouverte afin de rendre possible l'approche de la pointe. Le principe d'utilisation des moteurs est présenté Figure 4.11. Les moteurs, permettent le déplacement de la bille selon les trois axes jusqu'à la zone de détection. Le même échantillonnage que pour le cas 1D est utilisé (taux d'échantillonnage à $10 \cdot 10^3$ Hz, et la constante de temps du filtre passe-bas du spectroscopie d'impédance à $70 \mu s$) afin de pouvoir comparer la dérive et le bruit.

Comme pour le dispositif 1D, le banc d'essai pour la détection en 2D avec actionnement par DEP se fait en milieu fermé. Cette configuration tend à se rapprocher d'un dispositif microfluidique fonctionnel dans lequel les billes transitent par le biais des canaux. Des électrodes barrière sont placées en amont et aval de la zone de détection située au centre de l'image, et servent à isoler une bille. A l'aide du générateur de signaux électrique conçu pour l'actionnement local, le potentiel sur les électrodes barrière est fixé à $\pm 5 V_p$ à partir du moment une bille est en approche de la zone de détection à l'aide du fluide. A compter de ce moment, plus aucune bille ne peut traverser les électrodes barrière. Lorsque le fluide a déplacé la bille jusqu'aux électrodes centrales, le mode piège est activé afin que celle-ci soit piégée au centre de la zone de détection. Le potentiel fixé sur les quatre électrodes servant au piège est alternativement de $\pm 5 V_p$. La force de DEP générée est ainsi suffisante pour maintenir la bille en lévitation et empêcher son adhésion aux parois. L'inertie du fluide, induisant un débit constant, est enfin compensée par l'application d'une pression depuis la sortie du dispositif.

4.3.1/ Analyse du bruit de mesure

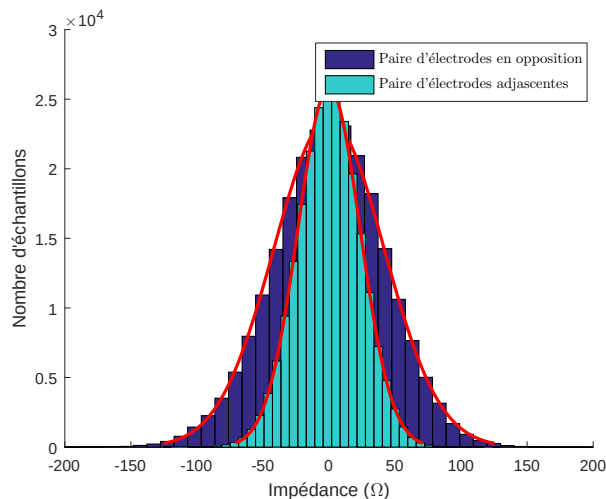


FIGURE 4.12 Distribution du bruit de mesure pour les expérimentations menées à FEMTO-ST sur le dispositif 2D. La moyenne du signal mesuré a été soustraite, et l'écart-type calculé est de $41,5 \Omega$. Amplitude du signal d'excitation : $1.6 V_{pp}$, vitesse d'échantillonnage : $10 \cdot 10^3$ Hz, constante de temps du filtre passe-bas du spectroscopie d'impédance : $70 \mu s$. L'écart-type du bruit montre une dépendance à la paire d'électrode utilisée.

Le bruit de mesure est caractérisé de manière identique que pour le cas 1D, et les résultats sont présentés Figure 4.12. Deux cas sont présentés, le cas de deux électrodes proches, adjacentes et le cas de deux électrodes éloignées, en opposition. On constate que l'écart-type de la distribution du bruit diffère entre les deux paires d'électrodes. Sa valeur est en effet de $S_Z = 23,4 \Omega$ pour les électrodes adjacentes, et $S_Z = 41,4 \Omega$ pour les électrodes en opposition.

Cette variabilité s'explique par le fait que le signal d'entrée de l'appareil de mesure est l'intensité du courant électrique. Si l'on considère une perturbation aléatoire d'amplitude moyenne fixe dans le temps δI venant s'ajouter au signal d'entrée, cette perturbation aura plus d'importance vis-à-vis de l'impédance calculée étant donnée la relation $Z = \frac{U}{I}$. Il est également intéressant de noter que le bruit mesuré sur l'intensité du courant est supérieur à celui qui avait été mesuré pour le cas du dispositif 1D lors des expérimentations à l'EPFL. Bien que les causes de ce bruit ne soient pas clairement identifiées, cela met en évidence que le lieu des expérimentations et notamment son isolation face aux ondes électromagnétiques est un critère important.

4.3.2/ Analyse de la dérive

Comme précédemment, le signal est mesuré afin de caractériser la dérive. Les courbes sont données Figure 4.13. Figure 4.13a, la baseline $Z^{4,0}(\sigma)$, correspondant au signal filtré par médiane glissante de période 100 ms, est déduite. On constate que comme pour le cas 1D, malgré le filtrage du bruit de mesure, la baseline présente des variations basse fréquence non négligeables. La variation de la baseline, permettant de quantifier la dérive, est donnée Figure 4.13b. On constate sur cette courbe que comme précédemment, la dérive présente des pics d'amplitude dont l'ordre de grandeur est de quelques dizaines de ohms par seconde, à une fréquence de quelques dixièmes de Hertz. La dérive moyenne est ici de $6 \Omega \cdot s^{-1}$.

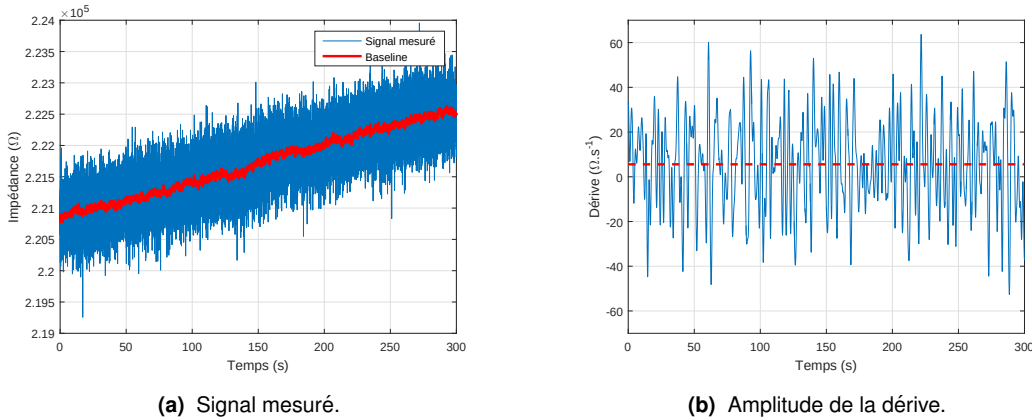


FIGURE 4.13 Quantification de la baseline $Z^{4,0}(\sigma)$ au cours de l'expérimentation pour le cas 2D pour une mesure entre les électrodes 1 et 5.

Il est probable que la variation moyenne de l'impédance mesurée soit plus faible que pour le dispositif 1D en raison de l'absence d'actionnement. Toutefois, les caractéristiques de la dérive mesurée présentent une réelle difficulté pour l'estimation de la baseline pour l'étalonnage. En effet, les variations basse fréquence de la baseline ne peuvent être compensées par filtrage. Si le temps d'étalonnage d'une paire d'électrodes est grand, il est donc nécessaire de réévaluer la baseline durant le processus.

4.3.3/ Etalonnage du capteur

4.3.3.1/ Le problème de l'isolation des voies

L'isolation des voies est un problème identifié durant la phase de développement de la plateforme. Les effets de ce défaut d'isolation sont qu'une partie du courant parvient à transiter entre les

différentes voies. Ce courant de fuite n'étant pas négligeable devant le courant transitant directement dans la puce, les mesures s'en trouvent faussées. Il intervient à deux niveaux :

- La diaphonie au niveau du circuit imprimé
La diaphonie est le couplage non désiré de signaux entre les lignes voisines. Dans le cas présent, l'impédance du circuit imprimé entre deux pistes est modélisable par un condensateur dont la capacité n'est pas suffisamment faible pour fournir une isolation suffisante face aux signaux haute fréquence qui transitent. Une solution pour surmonter cette difficulté serait de modifier le design des puces et du circuit imprimé afin d'éloigner les pistes des électrodes de mesure les unes des autres afin de diminuer la capacité du circuit. Un usinage mécanique du circuit peut également être envisagé afin de diminuer localement la permittivité diélectrique du circuit.
- Le défaut d'isolation des voies des multiplexeurs
Les multiplexeurs qui composent la carte de multiplexage développée en interne doivent à la fois faire transiter les signaux d'actionnement par DEP et les signaux de mesure d'impédance. Il s'avère cependant que l'isolation des voies décroît lorsque la tension admissible des composants augmente. Le choix initial d'une tension de $22 V_p$ s'avère proposer une isolation insuffisante. Une version de la carte composée de multiplexeurs dont la tension admissible est de $15 V_p$, dont l'isolation est meilleure, est à l'étude.

En raison de ces défauts d'isolation, les essais ont été suspendus pour le dispositif 2D. Un protocole a cependant été mis en place pour l'étalonnage et pourra être utilisé une fois l'isolation des voies mise à niveau.

4.3.3.2/ Protocole

1. Actionnement

L'actionnement est effectué de manière à acheminer la bille sur chaque point du quadrillage présenté précédemment Figure 4.14a pendant une durée suffisante pour mener à bien les mesures d'impédance. Pour le banc d'essai motorisé, le positionnement se fait en boucle ouverte. Dans le dispositif fermé, il est effectué à l'aide d'un actionnement en boucle fermée par DEP/vision. Comme décrit en annexe (Annexe C.1 et Annexe C.2), l'augmentation de température peut être significative lors de l'application d'une tension électrique en raison de la conductivité importante du milieu, nécessaire à l'obtention de mesures sensibles en impédancemétrie. Ce type d'échauffement intervient dans le dispositif fermé où les billes sont déplacées par DEP vers les différents points du quadrillage. Il modifie la conductivité du milieu, et donc un délai doit être appliqué entre chaque déplacement de la bille.

2. Mesure

2.1 Estimation de baseline en temps-réel pendant l'étalonnage.

L'ensemble des mesures, même en négligeant la durée nécessaire au déplacement de la bille, est de plusieurs minutes. Comme déterminé dans la section précédente (Section 4.3.2), la dérive thermique présente des variations importantes au-delà de quelques secondes. Ces pics ont une amplitude de l'ordre de quelques dizaines à centaines de Ohms. La valeur des baselines doit donc être actualisée afin d'identifier la variation d'impédance due à la présence de la bille. Autrement dit, dans la relation :

$$Z^m(\sigma, p) = Z^{m,0}(\sigma)(1 + \phi_m(p)), \quad (4.9)$$

les baselines $Z^{m,0}(\sigma)$ doivent être réévaluées durant le processus. Or leur valeur ne peut être mesurée directement du fait de la présence de la bille ; il faut donc reformuler l'équation des impédances.

On définit le ratio k^{ml} tel que :

$$k^{ml} = \frac{Z^{m,0}(\sigma) - Z^{m,0}(\sigma')}{Z^{m,0}(\sigma) - Z^{m,0}(\sigma')} \quad (4.10)$$

avec σ la conductivité à la date t et σ' la conductivité à la date t' . A partir de l'Equation 4.5, on peut montrer que

$$\begin{aligned} k^{ml} &= \frac{Z^{m,0}(\sigma_0) \left(\frac{\sigma_0}{\sigma} - \frac{\sigma_0}{\sigma'} \right)}{Z^{l,0}(\sigma_0) \left(\frac{\sigma_0}{\sigma} - \frac{\sigma_0}{\sigma'} \right)} \\ k^{ml} &= \frac{Z^{m,0}(\sigma_0)}{Z^{l,0}(\sigma_0)} \end{aligned}$$

Ce ratio des impédances des baselines de la paire m et de la paire l est constant quelles que soient les conductivités σ et σ' considérées. On peut alors décrire la baseline de la paire m en fonction de paramètres de la paire l :

$$Z^{m,0}(\sigma) = k^{ml} \left(Z^{l,0}(\sigma) - Z^{l,0}(\sigma') \right) + Z^{m,0}(\sigma') \quad (4.11)$$

Ainsi, si l'on considère deux paires d'électrodes m et l pour lesquelles à l'instant t' la bille n'influe pas la mesure d'impédance, il est possible de mesurer les deux valeurs $Z^{l,0}(\sigma')$ et $Z^{m,0}(\sigma')$. Lorsque la bille se trouve dans le champ de mesure de la paire m , il n'est plus possible de mesurer la baseline. La formule 4.11 permet alors de la reconstruire à partir de la baseline de la paire l non perturbée par la bille. Cette formulation minimise par ailleurs l'impact d'une erreur sur le coefficient k^{ml} dans la mesure où celui-ci n'est multiplié qu'à la variation de la baseline et non à la baseline elle-même. Au niveau de la plateforme, le multiplexeur doit basculer entre toutes les paires d'électrodes afin que la mesure soit récupérée pour chaque capteur. Ce processus est réitéré pendant une durée suffisante (quelques dizaines de secondes par exemple) pour que le bruit puisse être filtré. Les k^{ml} sont déterminés au préalable en divisant les valeurs filtrées les unes aux autres.

2.2 Prise en compte des variations de conductivité par effet Joule

L'échauffement dû à l'application de tensions est un facteur qui doit être considéré. L'actionnement lors de l'application d'une force de DEP représente la principale source de chaleur. Bien que de moindre amplitude, les signaux de mesure peuvent également avoir un impact sur les mesures. De plus, contrairement à une mesure classique où une seule paire est utilisée, le multiplexage des voies fait que pour chaque bascule de voie, la paire utilisée étant différente, la source de chaleur est déplacée. Le système va alors chercher un nouvel état d'équilibre.

Une solution pour limiter la variation des effets thermiques durant la bascule des mesures peut être de jouer sur deux paramètres, l'amplitude des signaux et la fréquence des bascules. D'une part, des signaux de très faible amplitude (typiquement, $< 100 \text{ mV}_p$) limite l'amplitude des effets thermiques. D'autre part, utiliser une fréquence de bascule très élevée (10 kHz pour la plateforme développée), permet de limiter leur évolution, les constantes de temps étant de plusieurs dizaines de millisecondes.

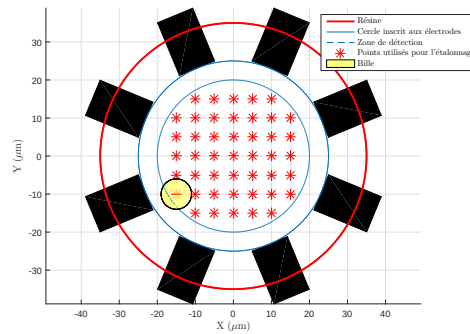
2.3 Récupération des mesures

La récupération des mesures se fait à l'aide de l'instrumentation de mesure développée et décrite dans le chapitre précédent. L'intégration du signal doit être suffisamment

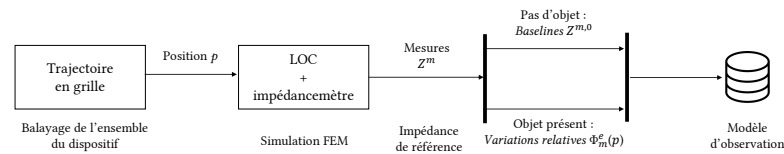
grande afin de minimiser l'influence du bruit lors de l'étalonnage. Comme évoqué dans le chapitre précédent, deux périodes d'échantillonnage sont nécessaires pour chaque mesure afin que le signal de la paire précédente n'influe pas sur le signal courant. En revanche, la période d'intégration est limitée par la fréquence de bascule du multiplexeur. Le choix de l'amplitude des signaux de mesure doit être un compromis permettant de limiter les effets thermiques tout en conservant un signal le moins bruité possible. D'une part, augmenter l'amplitude du signal et diminuer la fréquence de bascule permettent de diminuer le bruit. A l'inverse, diminuer l'amplitude du signal et augmenter la fréquence de bascule diminuent les effets thermiques. Le défaut d'isolation du circuit mentionné plus haut nécessite d'être résolu pour obtenir des mesures fiables. En conséquence, un jeu de paramètres amplitude/fréquence de bascule devra être déterminé dans des travaux ultérieurs.

2.4 Traitement des mesures

Le traitement des données permet de déterminer la variation d'impédance due à la présence de l'objet en tenant compte de la dérive. Une référence est déterminée en se basant sur les simulations (voir Figure 4.16) afin d'orienter le choix d'une paire non impactée par la présence de l'objet. Le modèle corrigé à l'aide des k^{ml} est utilisé (voir Equation 4.11).



(a) Quadrillage de la zone de détection.



(b) Stratégie.

FIGURE 4.14 (a) Quadrillage de la zone de détection en un nombre fini de points sur lesquels la bille est déplacée dans le but d'effectuer des mesures d'impédance pour l'étalonnage du capteur. (b) Illustration de la stratégie globale de récupération du modèle de variation d'impédance pour chaque paire d'électrode.

4.3.3.3/ Modèle direct de simulation

Comme pour le cas 1D, il est prévu d'obtenir la fonction définissant la variation relative d'impédance due au passage d'une bille par étalonnage. Pour l'étalonnage du capteur il est choisi de quadriller la zone de détection en un nombre fini de points, comme illustré Figure 4.14a. La stratégie,

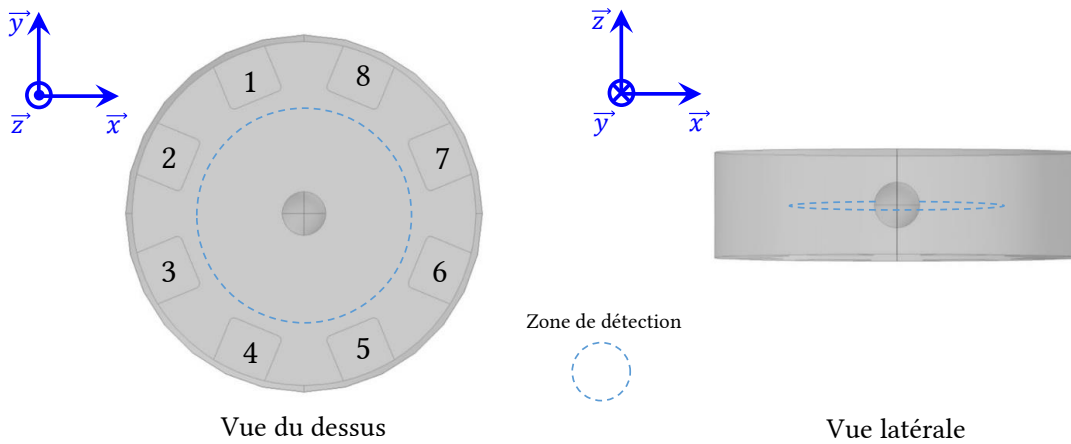


FIGURE 4.15 Représentation de la zone de détection pour les simulations FEM.

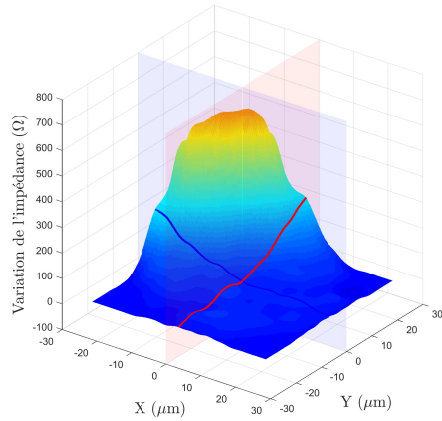
comme illustré Figure 4.14b, est de récupérer la valeur de l'impédance $Z^m(p, \sigma_0)$ pour chaque paire d'électrodes et en chaque point du quadrillage, à une conductivité fixe σ_0 . Dans la configuration présente du dispositif :

- 45 points sont utilisés : pour définir le modèle de variation d'impédance en fonction de la position de chaque paire d'électrode,
- Les 8 électrodes peuvent potentiellement former 28 paires, chacune ayant son propre modèle.

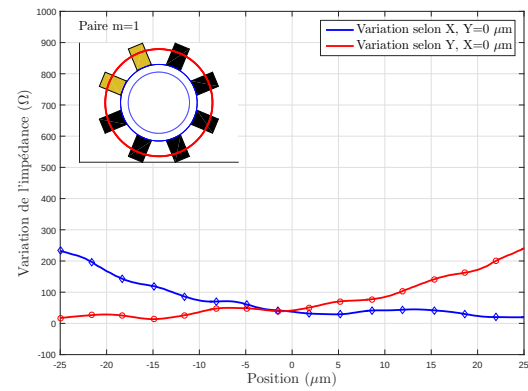
De plus, la valeur de l'impédance doit être connue en l'absence de bille afin de connaître la valeur des baselines $Z^{m,0}(\sigma_0)$. Les baselines sont ensuite utilisées afin de calculer la variation relative de l'impédance en chacun des points $\frac{Z^m(p, \sigma_0) - Z^{m,0}(\sigma_0)}{Z^{m,0}(\sigma_0)}$. Ces données, après interpolation, permettent la définition des fonctions étalons de variation relative d'impédance ϕ_m^e . Cette stratégie sera adoptée dans le protocole d'identification expérimental, et ci-dessous pour les simulations par éléments finis.

Afin de connaître le modèle théorique de variation d'impédance, des simulations éléments finis sont menées à bien. Le modèle Comsol utilisé précédemment pour les simulations, composé d'un canal et de 8 électrodes en cercle est repris (représentation donnée Table 4.1, page 78). Une vue axée sur la zone de détection est donnée Figure 4.15. Une numérotation des électrodes a été ajoutée afin de rendre explicite les paires d'électrodes utilisées. Le quadrillage et le changement de paire de mesure est effectué par balayage paramétrique. Les trois paramètres à balayer (position dans le plan et numéro d'électrode) induisent une charge de calcul importante. Le *Livelink for Matlab* de Comsol est en conséquence utilisé. Il permet de piloter les simulations à l'aide de Matlab. Au-delà de son ergonomie, le Livelink permet notamment, à chaque nouvelle simulation, de récupérer les données d'intérêt puis de supprimer la simulation numérique courante, ce qui empêche la saturation de la mémoire vive. Dans le cas présent, seule la valeur de l'impédance est stockée dans un tableau à la fin de chaque simulation. La réponse pour 7 des 28 paires d'électrodes est donnée Figure 4.16, la réponse pour les autres paires pouvant être déduite en raison de la symétrie du problème. Il est notamment intéressant de noter que chaque paire d'électrodes présente une sensibilité à la position de la bille sur une partie de la plage de détection, et possède également des zones qui y sont très peu sensibles. On peut également noter que la sensibilité du capteur dépend de l'axe de déplacement. La diversité des modèles obtenus présente l'avantage que pour chaque position de la bille dans la zone de détection, il existe un capteur dont la réponse est sensible à une variation de la

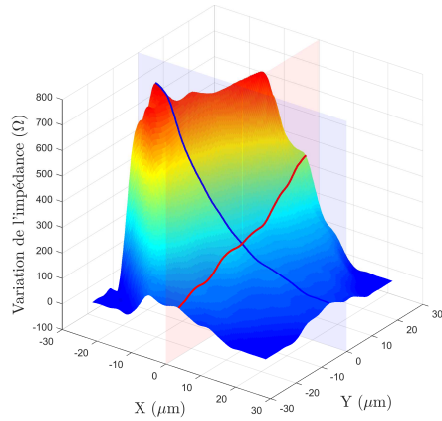
position. Cette dualité concernant la sensibilité des électrodes pourra également être exploitée pour l'étalonnage comme expliqué précédemment. Enfin, il est à noter que la présence du canal utilisé dans les simulations implique que les modèles ne sont pas parfaitement identiques par rotation des électrodes de mesure. Ceci est visible par exemple pour les paires $m=1$ et $m=7$, cette dernière présentant un pic entre les électrodes non présent sur la première.



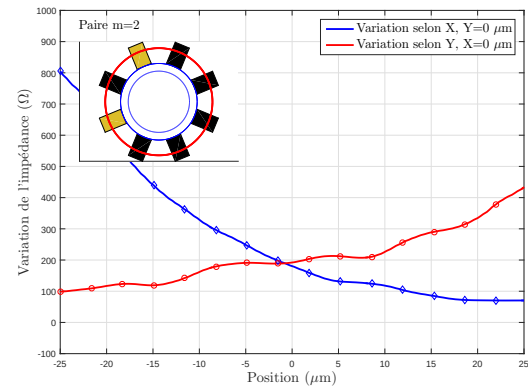
Paire $m=1$, variation de l'impédance dans le plan XY.



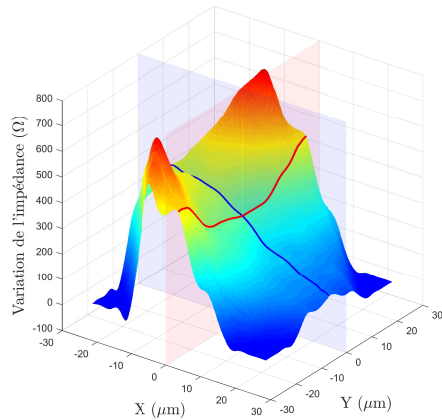
Paire $m=1$, projection de la variation sur $X=0$ et $Y=0$.



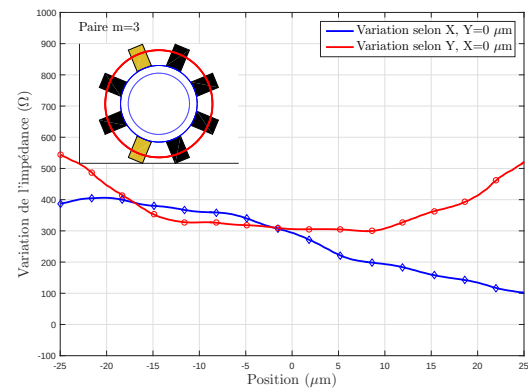
Paire $m=2$, variation de l'impédance dans le plan XY.



Paire $m=2$, projection de la variation sur $X=0$ et $Y=0$.

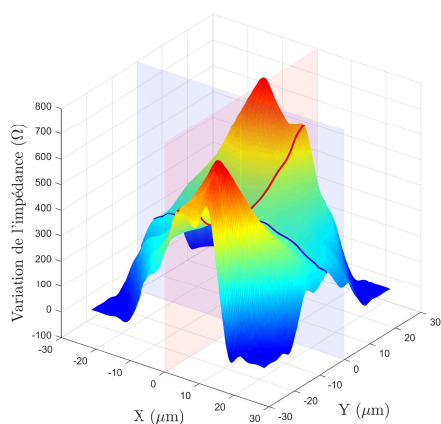


Paire $m=3$, variation de l'impédance dans le plan XY.

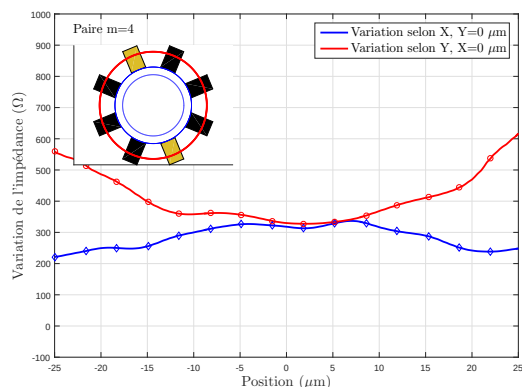


Paire $m=3$, projection de la variation sur $X=0$ et $Y=0$.

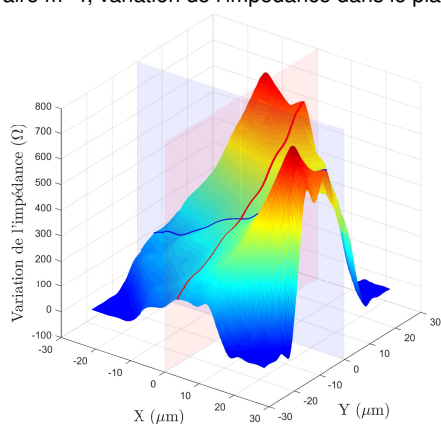
FIGURE 4.16 Simulation par éléments finis de la variation d'impédance en fonction de la position induite par la présence de la bille pour les 7 paires formées avec la première des 8 électrodes (paire $m=1$ à $m=7$). La différence de localisation des électrodes induit pour chaque capteur une sensibilité qui lui est propre.



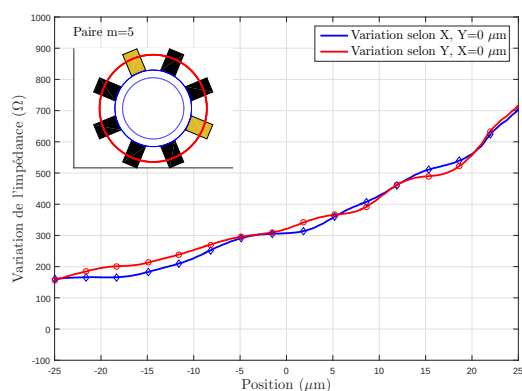
Paire m=4, variation de l'impédance dans le plan XY.



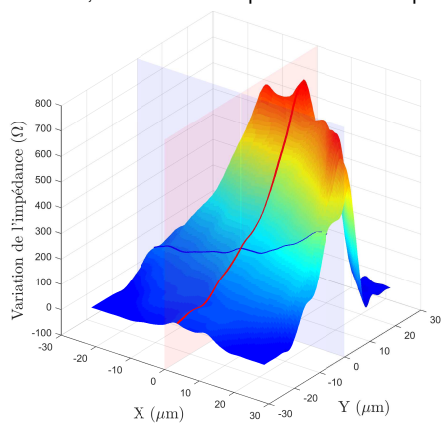
Paire m=4, projection de la variation sur X=0 et Y=0.



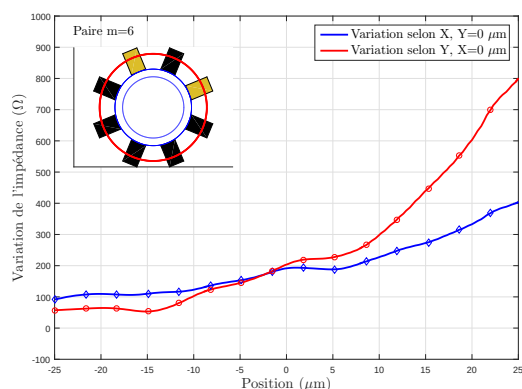
Paire m=5, variation de l'impédance dans le plan XY.



Paire m=5, projection de la variation sur X=0 et Y=0.

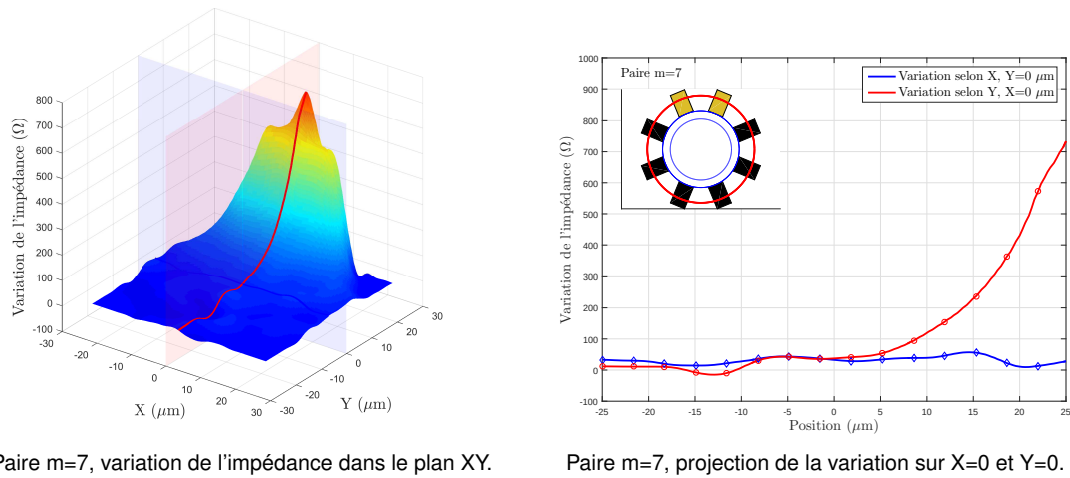


Paire m=6, variation de l'impédance dans le plan XY.



Paire m=6, projection de la variation sur X=0 et Y=0.

FIGURE 4.16 Simulation par éléments finis de la variation d'impédance en fonction de la position induite par la présence de la bille pour les 7 paires formées avec la première des 8 électrodes (paire m=1 à m=7). La différence de localisation des électrodes induit pour chaque capteur une sensibilité qui lui est propre.



Paire m=7, variation de l'impédance dans le plan XY.

Paire m=7, projection de la variation sur X=0 et Y=0.

FIGURE 4.16 Simulation par éléments finis de la variation d'impédance en fonction de la position induite par la présence de la bille pour les 7 paires formées avec la première des 8 électrodes (paire m=1 à m=7). La différence de localisation des électrodes induit pour chaque capteur une sensibilité qui lui est propre.

4.4/ Conclusion

Ce chapitre a été consacré à la caractérisation du capteur de position par impédancemétrie proposé, ainsi qu'à l'obtention de son modèle direct, liant la variation d'impédance à la position de l'objet dans la puce.

Il a été montré que plusieurs facteurs pouvaient venir perturber la mesure d'impédance, comme notamment les variations de conductivité liées à un échauffement du liquide. Une formulation analytique séparant la dépendance en la position et en la conductivité a été proposée afin de faciliter la compréhension du problème et sa résolution, à l'aide notamment d'un modèle linéaire entre conductivité du milieu liquide et admittance du système. Le capteur a également été caractérisé et différents paramètres clefs, tels que l'amplitude du bruit et la dérive des mesures ont été identifiés. Le modèle direct du capteur a été identifié expérimentalement pour le cas à une dimension. Une méthodologie permettant l'identification expérimentale dans le cas 2D a été proposée. Cependant, différents problèmes technologiques liés à l'isolation entre les voies de la carte électronique nécessite des développements supplémentaires pour mener à bien cette étape. Une solution alternative a donc été proposée, basée sur l'utilisation de la simulation éléments finis, pour obtenir le modèle direct dans ce cas. Cette caractérisation du système et ce modèle direct serviront de base dans le chapitre suivant pour définir le modèle inverse, liant la position de l'objet à la variation d'impédance, qui sera nécessaire pour implémenter l'estimation de position d'un objet dans une puce fluide.

Chapitre 5

Estimation de position par impédancemétrie

Le chapitre précédent était consacré à l'obtention de modèles liant la variation d'impédance à la position d'un objet dans une zone de détection, c'est à dire à l'étalonnage de capteurs. Ces modèles ont été obtenus expérimentalement pour un capteur selon une dimension, et en simulation pour un capteur selon deux dimensions.

Dans ce chapitre, une méthode théorique d'estimation de position exploitant les variations d'impédance et basée sur l'utilisation d'un filtre de Kalman est développée. Les mesures étalon sont utilisées en tant que *modèle d'observation* du filtre. Le filtre de Kalman a été retenu dans le cadre de ces travaux car il présente de bonnes performances théoriques, notamment en présence de signaux bruités. Ce choix pourra être revu ultérieurement à des fins d'optimisation.

5.1/ Utilité d'un observateur de Kalman pour l'estimation de position

L'obtention de modèles de variations d'impédance en fonction de la position d'un objet, effectuée dans le chapitre précédent, a notamment permis d'identifier plusieurs difficultés liées à la détermination de la position de l'objet. Pour les capteurs étudiés :

- La réponse des capteurs est une surjection : il existe plusieurs positions distinctes d'objet pour lesquelles la variation d'impédance induite est identique dans la plage de détection d'un capteur donné. Cela s'explique par les propriétés de symétrie des capteurs. L'inversion du modèle de variation d'impédance, permettant de remonter à la position de l'objet, nécessite donc un supplément d'information.
- Les signaux de mesure sont fortement bruités : en particulier lorsque la dynamique d'échantillonnage est élevée, induisant une période d'intégration du signal réduite. L'estimation de la position doit pouvoir se faire en temps-réel malgré ce bruit.
- Les informations provenant de plusieurs capteurs (plusieurs paires d'électrodes de mesure) doivent pouvoir être fusionnées : pour le capteur présenté destiné à la localisation en deux dimensions, la stratégie de détection retenue est de fusionner les informations provenant de différents capteurs. Un outil permettant cette fusion doit être utilisé.

Les filtres de Kalman étendus sont couramment utilisés pour des applications de localisation en temps réel, et ont déjà été appliqués à des mesures d'impédance pour extraire des informations d'un signal bruité. Ce type de filtre permet d'estimer un ou plusieurs paramètres en se basant sur

l'état précédent et associe aux mesures un modèle d'état, permettant ainsi son bon fonctionnement même lorsque le modèle d'observation est surjectif. Les réglages du filtre sont également basés sur des données statistiques concernant le bruit. Enfin, ils permettent d'intégrer plusieurs équations liant mesures et états que l'on souhaite estimer, ce qui en fait un outil adapté y compris pour le cas à deux dimensions où la fusion de données est envisagée.

5.2/ Equations et modèles

5.2.1/ Définition du problème d'estimation d'état

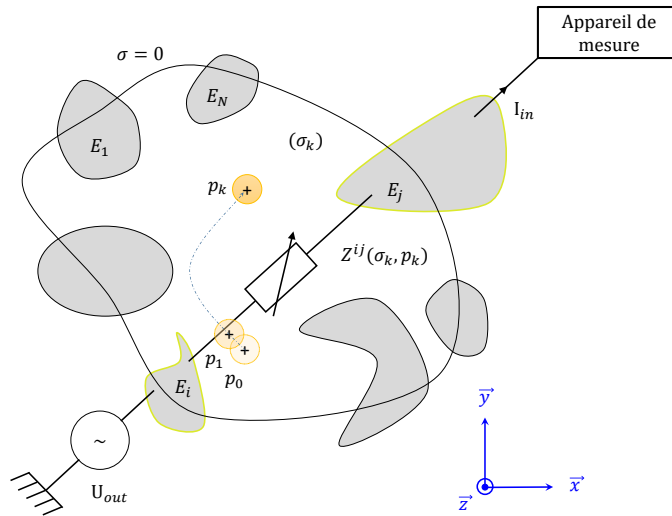


FIGURE 5.1 Schéma de principe illustrant un système de détection par impédancemétrie composé de N électrodes.

Dans cette section, l'objectif est de formuler des équations concernant le système étudié précédemment afin de pouvoir implémenter l'estimateur de Kalman en se basant sur un ensemble de mesures d'impédance fournies par un système composé de N électrodes permettant la mesure avec M paires d'électrodes. On reprend ici le schéma présenté dans le Chapitre 4 lors de la définition du problème (Figure 4.2, page 76).

Dans la Figure 5.1, la configuration quelconque d'électrodes est réutilisée, et les paramètres de position et de conductivité sont cette fois-ci discrétisés. Comme décrit dans le Chapitre 3 décrivant les filtres de Kalman, pour le fonctionnement du filtre, il est nécessaire de définir le modèle d'état, le modèle d'observation, la matrice de covariance du bruit d'état et la matrice de covariance concernant les perturbations sur le modèle dynamique. Ces éléments, une fois implémentés dans le filtre, permettent de donner une estimation $\hat{x}_k$ d'un état en se basant sur un vecteur de mesures y_k . On modélise le système comme suit :

$$\begin{cases} x_k = f(x_{k-1}, u_{k-1}) + \alpha_{k-1} \\ y_k = h(x_k) + \beta_k \end{cases} \quad (5.1)$$

$$(5.2)$$

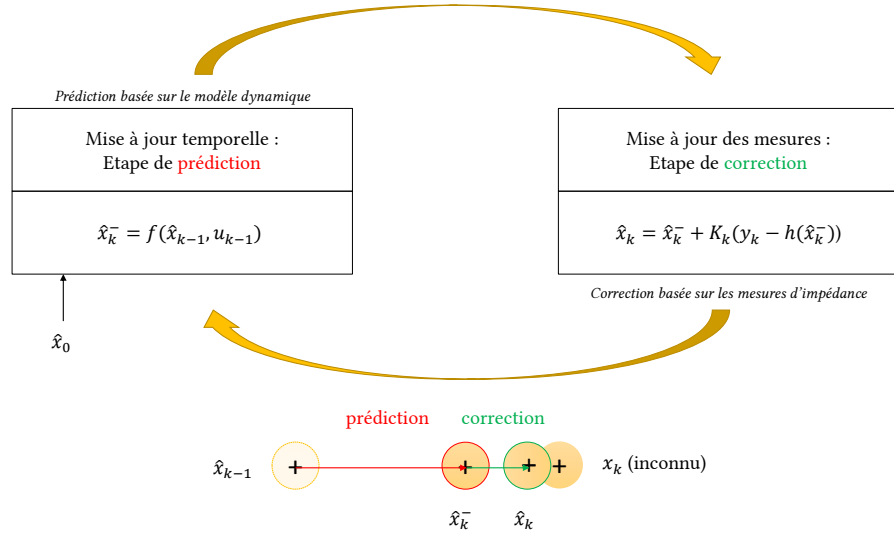


FIGURE 5.2 Schéma simplifié illustrant le principe général de fonctionnement du filtre utilisé.

où β représente le bruit de mesure et α les perturbations qui affectent la dynamique du système. Le vecteur d'entrée du modèle d'état u_k est lié à l'actionnement. f représente la dynamique de l'objet et h est le modèle d'observation. Le filtre de Kalman aura pour fonction de donner une estimation de la position d'objets dans la zone de détection suivant le schéma classique récursif dont un rappel est donné Figure 5.2. Le vecteur d'état discrétisé d'un système quelconque de détection est défini pour le cas général à l'aide de 7 variables :

$$x_k = [p_k^x \quad p_k^y \quad p_k^z \quad \theta_k^x \quad \theta_k^y \quad \theta_k^z \quad \sigma_k]^T, \quad (5.3)$$

avec p_k^x , p_k^y et p_k^z respectivement la position de l'objet selon l'axe x , y et z , θ_k^x , θ_k^y , θ_k^z les rotations autour de ces mêmes axes, et σ_k la conductivité du milieu à l'itération k . Les six premiers membres du vecteur d'état représentent les six degrés de liberté de l'objet. La conductivité du milieu est quant à elle une variable influant sur l'impédance mesurée, devant de ce fait être considérée. Dans le cadre de ces travaux, on souhaite estimer la position d'une cellule qui sera supposée sphérique, c'est à dire invariante par rotation. En conséquence, on ne s'intéressera pas aux rotations de l'objet. Ainsi, seuls trois paramètres concernant la position de l'objet sont à estimer : sa position translationnelle selon les trois axes de l'espace de la zone de mesure. Le vecteur d'état pour le cas d'une cellule sphérique est donc défini à l'aide de 4 variables :

$$x_k = [p_k^x \quad p_k^y \quad p_k^z \quad \sigma_k]^T. \quad (5.4)$$

L'hypothèse de sphéricité est satisfaisante pour de nombreuses cellules dont la géométrie est très proche de celle de la sphère. Pour des cellules non sphériques, il sera possible d'intégrer les positions angulaires dans le vecteur d'état. Cela est cependant hors du cadre de ces travaux. Le vecteur des mesures y_k contiendra la partie du signal mesurée par l'impédancemètre sensible à la position de l'objet, c'est à dire les $Z^m(p_k^x, p_k^y, p_k^z, \sigma_k)$. Le choix de la ou les paires d'électrodes choisies pour intégrer le vecteur des mesures sera décrit dans la suite de ce chapitre.

5.2.2/ Modèle d'état

Le modèle d'état est le modèle dynamique utilisé lors de l'étape de prédiction du filtre. Il sert ici à donner une première approximation de la position notamment des objets que l'on souhaite détecter en se basant sur la connaissance du système, en particulier des forces d'actionnement.

5.2.2.1/ Forme complète

Le modèle d'état peut être obtenu en appliquant le principe fondamental de la statique (PFS) à l'objet :

$$\sum \vec{F}_{ext} = \vec{0} \quad (5.5)$$

Ce modèle suppose que la masse des objets à l'étude est infiniment faible, et ainsi que chaque itération est une succession d'états quasi-statiques. On se limitera ici à un actionnement par diélectrophorèse selon les trois axes du plan, et un actionnement fluide dans le plan horizontal (0xy). Il s'agit là des principales méthodes d'actionnement utilisées dans les LOCs sur des cellules. L'action de l'actionnement fluide sera caractérisée par ses vitesses $v^{f,x}$ et $v^{f,y}$ selon les axes x et y respectivement. Ces vitesses peuvent être estimées à partir de la connaissance du débit ou de la pression en sortie des actionneurs, et de la résistance fluide des canaux. La force de diélectrophorèse appliquée dépend de plusieurs paramètres tels que la taille de l'objet, ses propriétés électriques, de la géométrie du système et également du positionnement de l'objet par rapport aux électrodes d'actionnement, c'est à dire des variables d'état p_k^x , p_k^y et p_k^z . Les composantes de cette force seront notées $F_k^{DEP,x}$, $F_k^{DEP,y}$ et $F_k^{DEP,z}$, et dépendent des paramètres d'état de manière non linéaire et des tensions d'actionnement. Elles peuvent être déterminées analytiquement ou par une méthode par éléments finis notamment. Le système d'équations régissant la dynamique est donc non linéaire et défini comme suit en considérant l'actionnement :

$$\begin{cases} F_k^{DEP,x} + 6\pi\eta r v_k^{f,x} - 6\pi\eta r v_k^x = 0 \end{cases} \quad (5.6)$$

$$\begin{cases} F_k^{DEP,y} + 6\pi\eta r v_k^{f,y} - 6\pi\eta r v_k^y = 0 \end{cases} \quad (5.7)$$

$$\begin{cases} F_k^{DEP,z} - 6\pi\eta r v_k^z - \rho^* V g = 0 \end{cases} \quad (5.8)$$

$$\begin{cases} \sigma = C(\sigma_{k-1}, u_{k-1}) \end{cases} \quad (5.9)$$

où η est la viscosité dynamique du fluide, r de rayon de l'objet, V son volume, ρ^* sa densité relative par rapport au milieu liquide, g l'intensité de la pesanteur, C la fonction de transition d'état de la conductivité, $v^{f,x}$, $v^{f,y}$, $v^{f,z}$ et v^x , v^y , v^z respectivement la vitesse de fluide et de l'objet selon x , y et z . Des modèles particuliers, comme par exemple une dérive thermique constante en l'absence d'actionnement, pourront également être implémentés en fonction du cas. Les équations du modèle d'état sont obtenues en considérant que la dérivée de la position est la vitesse, supposée constante entre deux états. Le modèle d'état (la fonction f) est donc, après discrétisation :

$$x_k = \begin{bmatrix} p_k^x \\ p_k^y \\ p_k^z \\ \sigma_k \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} p_{k-1}^x + \Delta t \left(\frac{F_{k-1}^{DEP,x}}{6\pi\eta r} + v_{k-1}^{f,x} \right) \\ p_{k-1}^y + \Delta t \left(\frac{F_{k-1}^{DEP,y}}{6\pi\eta r} + v_{k-1}^{f,y} \right) \\ p_{k-1}^z + \Delta t \left(\frac{F_{k-1}^{DEP,z}}{6\pi\eta r} - \rho^* V g \right) \\ C(\sigma_{k-1}, u_{k-1}) \end{bmatrix} + \alpha_{k-1} = f(x_{k-1}, u_{k-1}) + \alpha_{k-1} \quad (5.10)$$

La matrice de covariance du bruit d'état est :

$$Q = \begin{bmatrix} a_{11} & \dots & a_{14} \\ \vdots & \ddots & \\ a_{41} & \dots & a_{44} \end{bmatrix} \quad (5.11)$$

Dans ces travaux, on supposera que les variables d'état sont décorréllées. Il s'agit là d'une hypothèse forte qui a pour but de simplifier les équations, et qui pourra être revue à des fins d'optimisation. La matrice de covariance du bruit d'état est donc :

$$Q = \begin{bmatrix} a_{11} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & a_{22} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & a_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & a_{44} \end{bmatrix} \quad (5.12)$$

Les paramètres de Q sont complexes à déterminer analytiquement. Un jeu de 'bons' paramètres pourra être déterminé empiriquement ou à l'aide de méthodes adaptatives.

5.2.2.2/ Forme réduite

Une difficulté importante de la forme complète du modèle d'état est liée à la présence de la conductivité dans les variables d'état. Estimer une baseline $Z^{m,0}(\sigma)$ en temps-réel est en effet complexe car les variations de conductivité sont peu prédictibles. Autrement dit, dans la majorité des cas, la fonction C , représentative de la conductivité (Equation 5.9), est partiellement voire totalement inconnue.

Comme énoncé dans le chapitre précédent, l'impédance du milieu peut être exprimée comme le produit d'une fonction dépendante de la position et d'une fonction dépendante de la conductivité :

$$Z^m = Z^{m,0}(\sigma)(1 + \phi_m(p)) \quad (5.13)$$

Une alternative utilisée dans le cas 1D permettant de s'affranchir de la dérive est de réduire le modèle sans intégrer la conductivité dans le modèle d'état comme suit :

$$x_k = \begin{bmatrix} p_k^x \\ p_k^y \\ p_k^z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} p_{k-1}^x + \Delta t \left(\frac{F_{k-1}^{DEP,x}}{6\pi\eta r} + v_{k-1}^{f,x} \right) \\ p_{k-1}^y + \Delta t \left(\frac{F_{k-1}^{DEP,y}}{6\pi\eta r} + v_{k-1}^{f,y} \right) \\ p_{k-1}^z + \Delta t \left(\frac{F_{k-1}^{DEP,z}}{6\pi\eta r} - \rho^* V g \right) \end{bmatrix} + \alpha_{k-1} = f(x_{k-1}, u_{k-1}) + \alpha_{k-1} \quad (5.14)$$

$$Q = \begin{bmatrix} a_{11} & 0 & 0 \\ 0 & a_{22} & 0 \\ 0 & 0 & a_{33} \end{bmatrix} \quad (5.15)$$

L'amplitude de la baseline, c'est à dire de l'impédance du milieu en l'absence d'objet, peut alors être estimée à l'aide d'une paire d'électrodes de référence, ou encore supposée constante si le temps de passage d'un objet est faible. La variable de conductivité peut sous cette condition être retirée du modèle.

5.2.3/ Modèle d'observation

Le modèle d'observation est de manière générale le modèle qui relie les variables d'état aux mesures et qui est utilisé dans l'étape de correction du filtre. Dans le cas présent, les mesures d'impédance, dont on définit au préalable le modèle de variation en fonction de la position et de la conductivité, permettent d'affiner l'estimation fournie par le modèle dynamique qui lui est purement prédictif.

L'identification de modèles d'observation a été effectuée dans le chapitre précédent (Chapitre 4). La dépendance à la position a été identifiée de manière expérimentale pour un cas 1D et en simulation pour un cas 2D. La dépendance à la conductivité suit quant à elle un modèle analytique de milieu purement résistif.

Dans cette section, les modèles d'observation sont contextualisés dans le cadre de l'implémentation de filtres de Kalman dédiés à l'estimation de position, qui pourront par la suite être testés.

5.2.3.1/ Forme complète

La forme complète du modèle d'observation comprend un modèle de la variation d'impédance pour toutes les paires d'électrodes disponibles pour la mesure du système. Le vecteur des mesures peut ainsi être repris du chapitre précédent :

$$y_k = \begin{bmatrix} Z^1(p, \sigma) \\ Z^2(p, \sigma) \\ \vdots \\ Z^m(p, \sigma) \\ \vdots \\ Z^M(p, \sigma) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} Z^{1,0}(\sigma)(1 + \phi_1(p)) \\ Z^{2,0}(\sigma)(1 + \phi_2(p)) \\ \vdots \\ Z^{m,0}(\sigma)(1 + \phi_m(p)) \\ \vdots \\ Z^{M,0}(\sigma)(1 + \phi_M(p)) \end{bmatrix} = h(x_k) + \beta_k \quad (5.16)$$

On définit la matrice de covariance du bruit de mesure :

$$R = \begin{bmatrix} b_{11} & \dots & b_{1M} \\ \vdots & \ddots & \\ b_{M1} & \dots & b_{MM} \end{bmatrix} \quad (5.17)$$

Comme pour le modèle d'état, on considère que les perturbations sont décorréllées. Sous cette hypothèse :

$$R = \begin{bmatrix} b_{11} & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \ddots & & \vdots \\ \vdots & & \ddots & 0 \\ 0 & \dots & 0 & b_{MM} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} S_{Z1}^2 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \ddots & & \vdots \\ \vdots & & \ddots & 0 \\ 0 & \dots & 0 & S_{ZM}^2 \end{bmatrix} \quad (5.18)$$

avec où $S_{Z1} \dots S_{ZM}$ sont les écarts-types du bruit de mesure, calculés à partir de données fournies par l'instrumentation de mesure.

5.2.3.2/ Forme réduite

Minimiser le temps de calcul est essentiel étant donnée la contrainte temps-réel inhérente à un capteur de position pour le contrôle d'une trajectoire. Dans sa forme complète, le modèle d'observation intègre les mesures provenant des 28 paires de mesure qu'il est possible de former ; le vecteur des mesures est donc de dimension 28, ce qui peut rendre le temps de calcul relativement important. Par ailleurs, toutes les paires d'électrodes ne fournissent pas à un instant donné une mesure sensible à l'état que l'on souhaite identifier. Il faut donc sélectionner les paires d'intérêt pour la mesure :

- Critère de sensibilité des paires de mesure
La matrice jacobienne J_h du modèle d'observation (voir Chapitre 2, page 39), aussi nommée matrice de sensibilité, caractérise la sensibilité des mesures vis-à-vis des différents états. A partir de la connaissance des états que l'on souhaite estimer de manière prioritaire, les coefficients des matrices J_h peuvent être comparés afin de sélectionner le ou les capteurs présentant la plus grande sensibilité.
- Critère de sélection du nombre de mesures
La méthode consiste à sélectionner les mesures qui seront utilisées pour l'estimation. Il est possible de sélectionner les paires selon deux principaux critères : robustesse ou rapidité de l'estimation. Si la robustesse est préférée, il est possible de sélectionner toutes les mesures provenant des paires dont la sensibilité est supérieure à un seuil fixé par l'utilisateur. Si la rapidité est préférée, un nombre fixe de mesures provenant des paires ayant la plus grande sensibilité peut être utilisé.

Une fois les paires sélectionnées, il est possible de modifier à chaque pas de temps le filtre de façon à n'intégrer que les mesures provenant de celles-ci dans le modèle. Pour cela, il suffit de n'utiliser que les équations relatives aux paires utilisées dans modèle d'observation, et de procéder de même avec la matrice R .

Les outils de base pour le fonctionnement du filtre de Kalman sont maintenant déterminés. Dans les sections suivantes, des expérimentations et simulations valident son fonctionnement.

5.3/ Estimation de position en temps-réel : cas 1D

5.3.1/ Mise en place du suivi des billes

Un bref rappel concernant le design du dispositif 1D est donné Figure 5.3. Des électrodes de guidage permettent le centrage dans la section du canal de l'ensemble des billes le traversant. Elles atteignent enfin la zone de détection entre les électrodes en croix. C'est dans cette zone que la position des billes est estimée par mesure d'impédance. La fréquence du signal de mesure est fixée à 500 kHz. On rappelle qu'à cette fréquence, le comportement électrique des billes artificielles et d'une cellule sont équivalents, ce qui assure la transposabilité de la méthode à des échantillons biologiques.

Dans cette section, la détection se fait sur un seul axe mais pour plusieurs billes. Le temps de passage d'une bille entre les électrodes est supposé suffisamment court pour que la valeur de la baseline soit supposée constante durant son passage. Le Tableau 5.1 donne un récapitulatif des notations pour cette section afin d'éviter toute confusion avec les notations des sections à suivre. La Figure 5.4 présente les différentes étapes du traitement du signal et de l'estimation de la position.

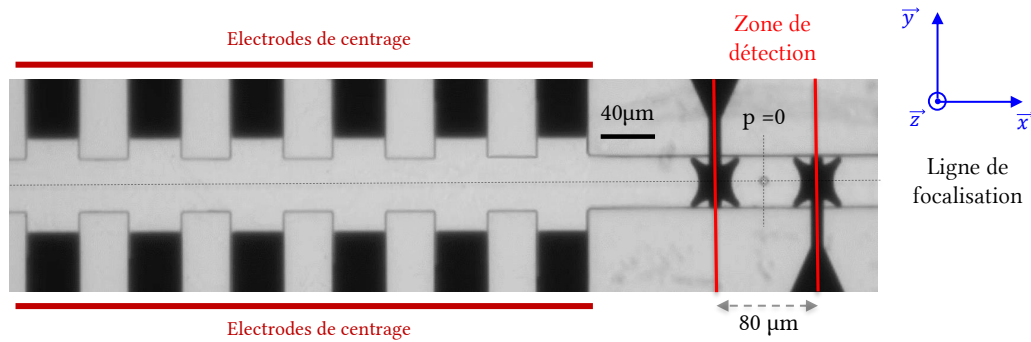


FIGURE 5.3 Dispositif de détection 1D. Les billes traversent la zone de détection, comprise entre les centres des électrodes en étoile, centrées dans la section du canal.

Récapitulatif de notations		
Notation	Paramètre	Description
Z_k	Signal de mesure	Impédance mesurée par l'impédancemètre à l'itération k
Z_k^0	Baseline	Impédance du milieu en l'absence de bille
$x_k^q, \hat{x}_k^q$	Vecteur d'état courant	Vecteur d'état pour la bille n° q à l'itération k (réel et estimé)
$p_k^q, \hat{p}_k^q$	Position courante	Position de la bille n° q à l'itération k (réelle et estimée)
v_k^f	Vitesse courante estimée du fluide	Estimation de la vitesse longitudinale du fluide au centre du canal
Δt	Intervalle de temps entre deux mesures	Période d'échantillonnage de l'impédancemètre

TABLE 5.1 Récapitulatif des notations pour le cas 1D.

Le premier bloc de ce diagramme est destiné à la détection des billes et son fonctionnement a été détaillé dans le chapitre précédent. Il permet d'identifier la baseline et, dans le cas où un objet est présent, la variation relative d'impédance due à la présence de cet objet. Cette variation d'impédance est utilisée comme vecteur des mesures en entrée du filtre de Kalman.

Le second bloc contient le filtre lui-même.

Modèles Le filtre de Kalman contient une étape de prédiction basée sur le modèle dynamique et une étape de correction basée sur le modèle d'observation. Le temps de passage d'une bille étant considéré comme faible, la forme réduite du modèle d'observation sera utilisée. Dans le cas présent, ces modèles sont réduits à une unique équation car le vecteur d'état et des mesures sont monodimensionnels (la position selon l'axe du canal est estimée à l'aide d'une seule paire de mesure).

Durant la prédiction, le modèle utilisé pour calculer le vecteur d'état est calculé à partir de l'équation 5.14 :

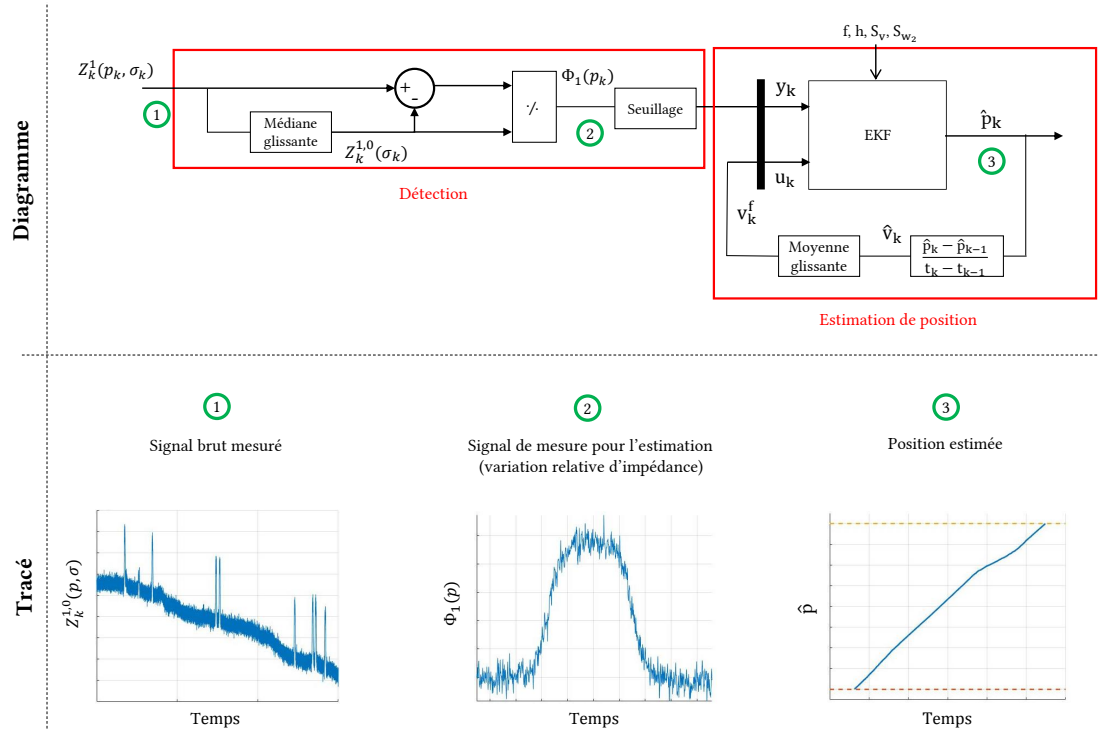


FIGURE 5.4 Descriptif de la méthode d'estimation de la position d'un objet par filtrage de Kalman. Le calcul en temps-réel de la baseline $Z^{1,0}$ permet d'en déduire la variation relative d'impédance due à la présence de l'objet $\phi_1(p_k)$, introduite dans le filtre de Kalman. Associée au modèle d'état, cette mesure permet au filtre d'estimer la position de l'objet.

$$x_k = [p_k^q] = [p_{k-1}^q + \Delta t v_{k-1}^f] + \alpha_{k-1} \quad (5.19)$$

avec Δt la période d'échantillonnage. Durant la seconde étape, le modèle d'observation est déterminé à partir de l'équation 5.16 :

$$y_k = [Z^{1,0}(\sigma)(1 + \phi_1^e(p_k))] + \beta_k \quad (5.20)$$

où ϕ_1^e est la variation relative d'impédance déterminée par étalonnage dans le chapitre précédent (voir page 85).

Etat initial Pour chaque nouvelle bille détectée, un vecteur d'état initial $\hat{x}_0^q$ doit être défini. En ce qui concerne la position initiale de la bille, on suppose que $\hat{p}_0^q = -40 \mu m$. Cela correspond à la position au centre de la première électrode de mesure. Comme illustré Figure 5.4, il s'agit de la première position à laquelle la bille est détectée. La vitesse initiale supposée de la première bille est supposée de $1200 \mu m \cdot s^{-1}$. Les paramètres initiaux estimés sont donc :

$$\hat{p}_0^q = -40 \mu m \quad (5.21)$$

$$\hat{v}_0^f = 1200 \mu\text{m.s}^{-1} \quad (5.22)$$

Réglages du filtre L'estimation initiale de la vitesse du fluide est volontairement biaisée (environ 30% d'erreur). Sur la base des vecteurs d'état initiaux $\hat{x}_0^q$, le filtre fournit à chaque itération une estimation $\hat{x}_k^q$ du vecteur d'état exploitant les modèles d'état et d'observation, et de leur confiance associée définie par les matrices Q et R . Pour améliorer l'estimation de la position de la $q^{\text{ième}}$ bille, le modèle d'état est constamment mis à jour. Comme précédemment présenté, il est supposé que la vitesse de la bille est égale à la vitesse du fluide. Ainsi, à chaque pas de temps, la vitesse du fluide v^f est mise à jour en fonction de la valeur de la vitesse de la bille estimée à partir des positions fournies par le filtre de Kalman (voir la boucle de rétroaction de la Figure 5.4). Pour éliminer l'influence du bruit, on suppose que la vitesse du fluide v^f est égale aux 1000 dernières vitesses estimées de la bille. Cela correspond à une moyenne mobile de $\tau = 100$ ms. Cela consiste, à l'instant t , à faire la moyenne de la vitesse estimée entre $t - \tau$ et t pour mettre à jour le modèle. Cette méthode augmente le temps de convergence du filtre, mais stabilise l'estimation concernant les erreurs de modèle d'observation ponctuelles. Enfin, les réglages du filtre à l'aide des matrices Q et R sont effectués. Comme précédemment, les vecteurs d'état et d'observation étant monodimensionnels, ces matrices le sont également. L'écart-type de l'erreur de mesure S_Z a été déterminé dans le chapitre précédent après analyse statistique du bruit de mesure : $S_Z = 14,5 \Omega$. La matrice Q est réglée empiriquement de manière à minimiser l'erreur d'estimation : $S_p = 1,5 \cdot 10^{-8}$ m. Les matrices de covariance sont donc définies comme suit :

$$Q = [S_p^2] = [(1,5 \cdot 10^{-8})^2] \quad (5.23)$$

$$R = [S_Z^2] = [14,5^2] \quad (5.24)$$

La méthode d'estimation est maintenant établie, la validation expérimentale peut être effectuée.

5.3.2/ Mise en œuvre expérimentale de l'estimation de position d'une bille

Cette section a pour objectif de discuter de l'estimation de la position obtenue à partir des mesures d'impédance présentées dans les sections précédentes. Elles sont comparées aux positions obtenues à partir d'images fournies par une caméra. La caméra n'est utilisée ici qu'à des fins de comparaison et non pour la détection de position basée sur l'impédance, à l'exception de l'étalonnage qui peut être effectué hors ligne.

Les résultats sont donnés Figure 5.5. La Figure 5.5a présente la vitesse des billes dans le canal. Les vitesses obtenues à partir des mesures d'impédance et des images obtenues par la caméra sont comparées. En ce qui concerne la vitesse obtenue à partir des mesures d'impédance, elle est obtenue en faisant la moyenne des vitesses de bille estimées obtenues par le filtre de Kalman (temps d'intégration de 100 ms). Comme décrit dans la section précédente, la moyenne des vitesses estimées des billes permet d'obtenir une valeur d'actionnement du fluide stable et corrigée en permanence pour le modèle d'état. L'estimation de la vitesse commence à 1200 μm . Ensuite, le retour corrige cette valeur, à l'aide du vecteur unitaire des mesures :

$$y_k = \left[Z^{1,0} \left(1 + \frac{Z_k^1 - Z_k^{1,0}}{Z_k^{1,0}} \right) \right]. \quad (5.25)$$

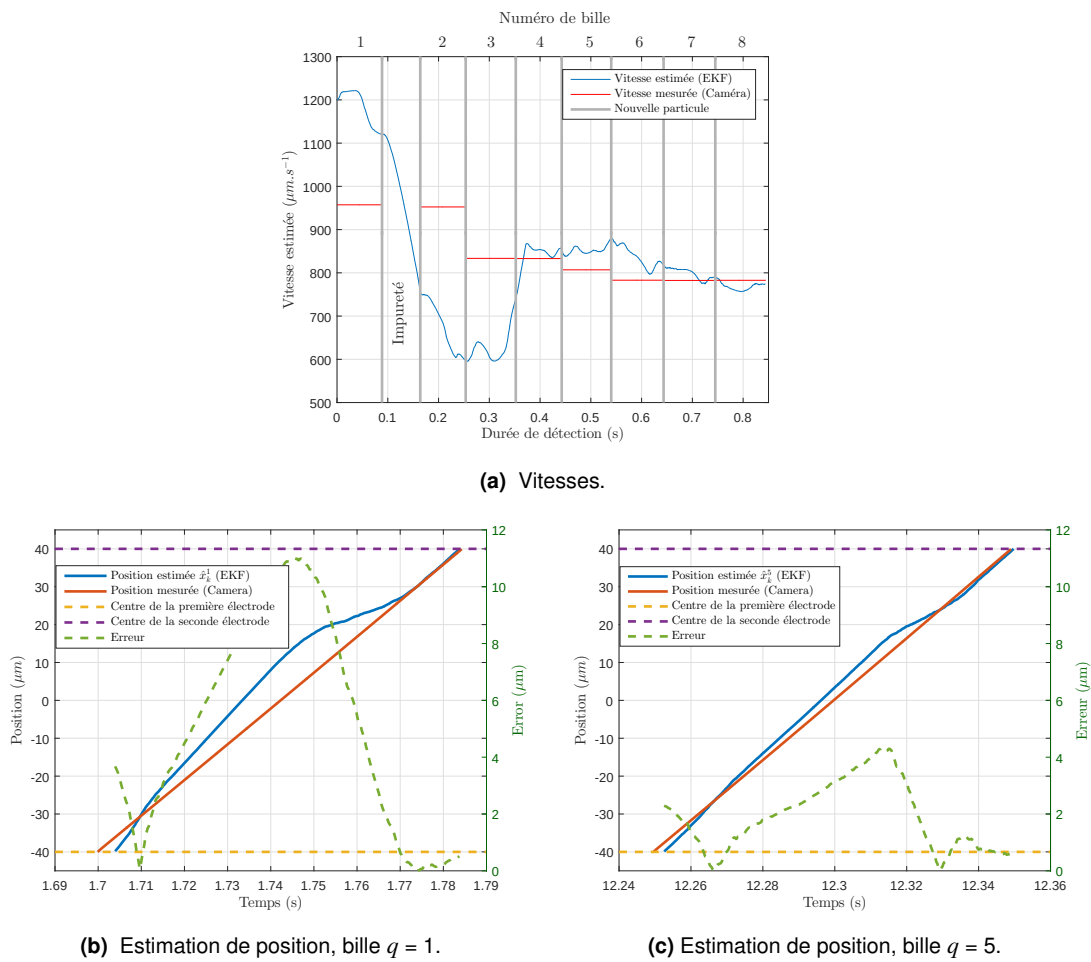


FIGURE 5.5 Estimation en temps-réel de la position et de la vitesse en utilisant à la fois les retours d'impédance et de vision et les différences associées. (a) La vitesse des premières billes est fortement surestimée en utilisant l'approche proposée basée sur des mesures d'impédance comparées à une vision en raison de la valeur de vitesse initiale définie sur le filtre de Kalman (v_0^0). (b) Il en résulte une différence d'environ 10 μm dans l'estimation de la position de la bille $q = 1$. (c) Lorsque le filtre de Kalman corrige la valeur de la vitesse, l'estimation converge vers les valeurs de vitesse obtenues de la caméra. La différence d'estimation de position entre les techniques basées sur l'impédance et la vision reste inférieure à 4 μm pour la bille $q = 5$.

Malgré la grande erreur initiale sur la vitesse, l'estimation du filtre converge vers la valeur obtenue à partir de la caméra. Comme prévu, la moyenne mobile, associée au modèle dynamique, induit un temps de convergence important (600 ms environ) mais évite les fortes variations dues au bruit. Ce temps de convergence peut être défini en ajustant la moyenne mobile dans la Figure 5.4.

La Figure 5.5b (respectivement la Figure 5.5c) présente l'estimation de la position de la première (resp. cinquième) bille obtenue à la fois à partir des mesures d'impédance et par la caméra. Pour l'estimation basée sur la mesure de l'impédance, la détection des billes commence à $p = -40 \mu\text{m}$, ce qui correspond au centre de la première électrode et se termine à $p = 40 \mu\text{m}$, ce qui correspond au centre de la seconde électrode. Pour une bille donnée, l'estimation de la position tend initialement à présenter de grandes différences avec la détection visuelle. Cela peut être dû à plusieurs problèmes tels qu'un retard dans la détection de la bille puisque l'impédance doit atteindre un seuil donné pour que la bille soit détectée. De plus, l'amplitude de la différence avec la détection visuelle dépend de

la précision du modèle d'état. Pour la première bille, cette différence est d'environ $10\text{ }\mu\text{m}$, alors que cette valeur est d'environ $4\text{ }\mu\text{m}$ et moins après quelques billes.

Ces résultats validant la détection de position par impédancemétrie en association à un filtrage de Kalman, il s'agit donc d'une méthode viable permettant de remplacer la vision pour fournir une détection de position intégrée en temps réel à l'intérieur de puces fluidiques. La plateforme expérimentale n'étant pas à ce stade pleinement fonctionnelle, notamment en ce qui concerne le multiplexage des mesures, la partie suivante décrivant l'estimation de position en deux dimensions par fusion de données sera exclusivement effectuée à partir de données de simulation.

5.4/ Simulations d'estimation de position en temps-réel : cas 2D

Dans ces simulations, la variation de conductivité est intégrée au modèle. Contrairement au cas 1D ou seule la variation relative d'impédance est considérée par le filtre de Kalman, c'est l'impédance du système qui est utilisée comme entrée, en tenant compte de sa dépendance en la conductivité du milieu électrolytique. Cette approche permet de donner une formulation plus générique du problème, afin notamment de tenir compte de la dérive de conductivité. Les notations spécifiques à cette section sont résumées dans le tableau 5.2.

5.4.1/ Présentation du cas d'étude

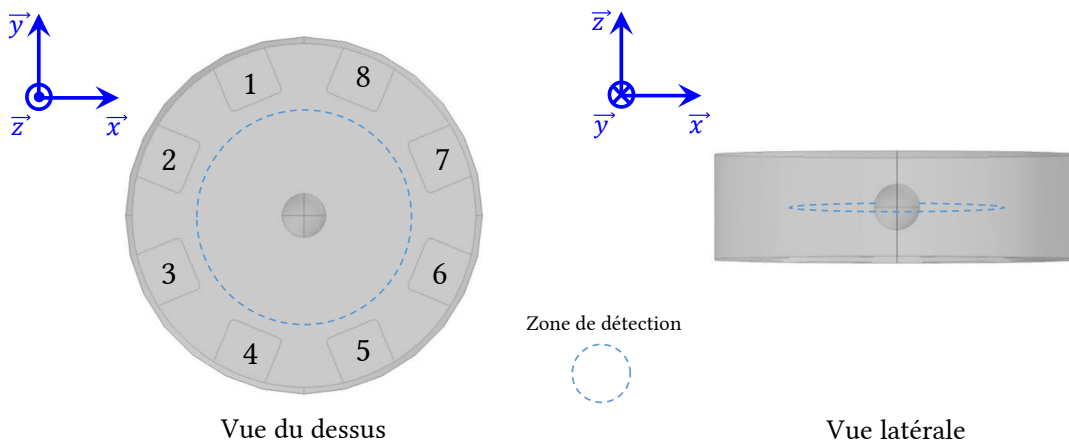


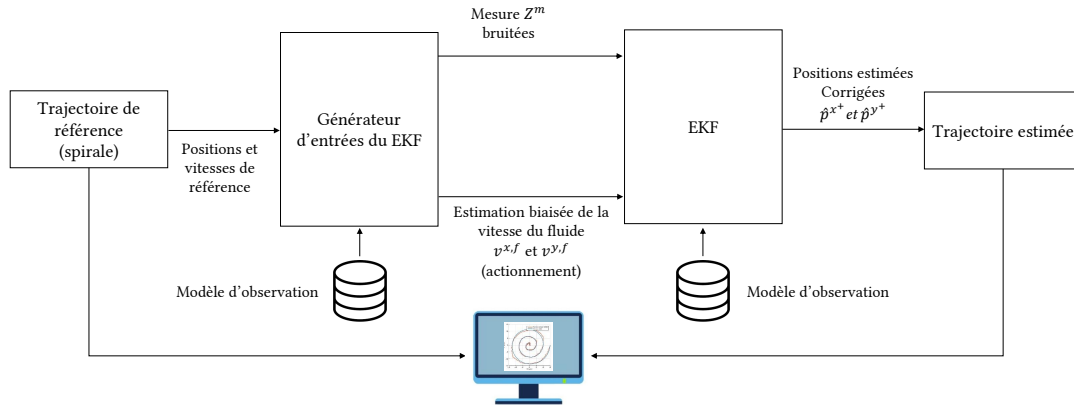
FIGURE 5.6 Modèle Comsol utilisé pour les simulations FEM.

Afin de mener à bien les simulations pour le cas 2D, le logiciel Matlab est utilisé. Il exploite notamment les simulations numériques effectuées dans le chapitre précédent à l'aide du logiciel Comsol. Un rappel du design utilisé pour l'obtention des modèles de la variation d'impédance en simulation (voir page 92) est donné Figure 5.6. Un bassin microfluidique de $70\text{ }\mu\text{m}$ de diamètre et de $20\text{ }\mu\text{m}$ de hauteur dans lequel se trouvent 8 électrodes (cercle inscrit aux électrodes de $50\text{ }\mu\text{m}$), un milieu liquide de conductivité $\sigma = 1\text{ S/m}$ et un objet sphérique isolant de $8\text{ }\mu\text{m}$ de diamètre sont dessinés. La méthodologie suivie pour effectuer les simulations a été présentée Figure 4.14 (page 91). Comme présenté dans le Chapitre 4, le logiciel Comsol permet de simuler une tension entre les paires d'électrodes souhaitées et de récupérer la valeur de l'impédance entre ces deux électrodes. Ces simulations ont permis d'obtenir le modèle de variation d'impédance en fonction de

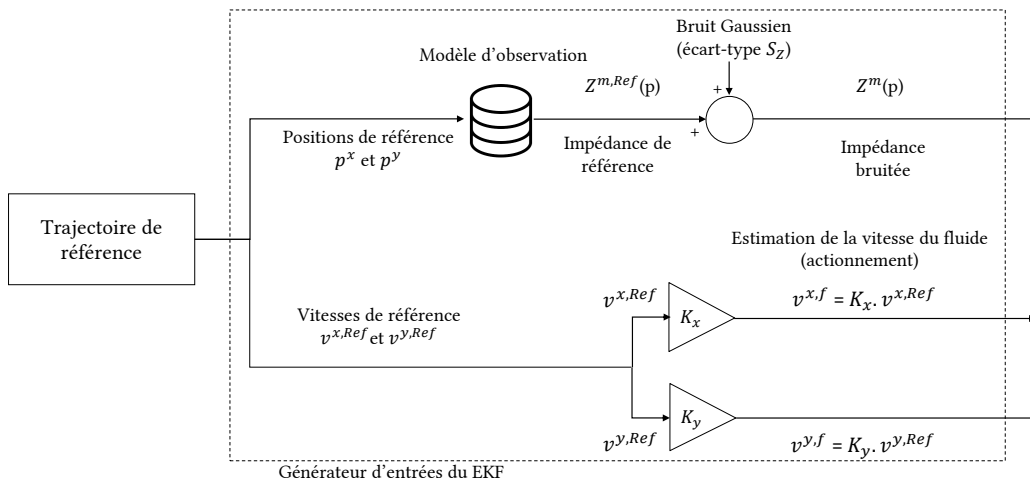
Récapitulatif de notations		
Notation	Paramètre	Description
Z_k^m	Signal de mesure	Impédance mesurée pour la paire n° m à l'itération k
$Z_k^{m,0}$	Baseline	Impédance du milieu en l'absence de bille pour la paire n° m à l'itération k
$Z_k^{m,Ref}$	Impédance de référence	Impédance pour la paire n° m à l'itération k associée à la trajectoire de référence
$x_k, \hat{x}_k$	Vecteur d'état courant	Vecteur d'état à l'itération k (réel et estimation)
$p_k^x, \hat{p}_k^x, p_k^y, \hat{p}_k^y$	Position courante selon x et y	Position de la bille selon les axes x et y à l'itération k (réelle et estimation)
$\sigma_k, \hat{\sigma}_k$	Conductivité courante	Conductivité du milieu à l'itération k (réelle et estimation)
$p_k^{x,Ref}, p_k^{y,Ref}, \sigma^{Ref}$	Position de référence selon x et y et conductivité de référence	Position de la bille selon les axes x et y à l'itération k pour la trajectoire de référence
$v_k^{x,Ref}, v_k^{y,Ref}$	Vitesse de référence selon x et y	Vitesse de la bille selon les axes x et y à l'itération k pour la trajectoire de référence
$v_k^f, v_k^{x,f}, v_k^{y,f}$	Vitesse du fluide vectorielle, selon x et selon y	Vitesse du fluide selon les axes x et y à l'itération k
Δt	Intervalle de temps entre deux mesures	Période d'échantillonnage de l'impédancemètre
K_x, K_y	Coefficients de biais selon x et y	Coefficients multipliés aux vitesses de référence pour obtenir le modèle d'état biaisé introduit dans le EKF
S_Z, S_p, S_σ	Ecart-type du bruit sur l'impédance, la position et la conductivité	Données statistiques concernant le bruit de mesure d'état servant aux réglages du EKF.
S_e^x, S_e^y, S_e^σ	Ecart-type de l'erreur d'estimation selon x, y et sur l'estimation de la conductivité du milieu	Critères de performance de l'estimation.

TABLE 5.2 Récapitulatif des notations pour le cas 2D.

la position de l'objet dans la zone de détection (lien figure chap 4). En association avec le modèle résistif liant l'impédance du milieu électrolytique à sa conductivité, cela définit le modèle d'observation nécessaire pour les simulations. Il s'agit du modèle étalon. Le principe global des simulations est le suivant : afin de simuler un cas expérimental, une trajectoire sera générée. Les données relatives à cette trajectoire (dynamique, impédances) seront soumises à des perturbations fictives et introduites dans le filtre de Kalman. Enfin, la trajectoire générée et la trajectoire estimée par le filtre pourront être comparées afin de tester les performances de ce dernier. Une illustration du fonctionnement du simulateur est donnée Figure 5.7a.



(a) Principe global des simulations.



(b) Principe de fonctionnement du générateur de signaux introduits dans le filtre.

FIGURE 5.7 Diagramme illustratif de la procédure suivie pour effectuer les simulations. Une trajectoire de référence de la bille est générée. Celle-ci est inconnue par l'estimateur. Un générateur de signaux vient ensuite appliquer des perturbations aux mesures et au modèle d'état, qui sont ensuite introduits dans le Filtre de Kalman. Enfin, le filtre retourne une estimation de la trajectoire.

La première étape consiste à générer la trajectoire qui sera dite *trajectoire de référence*, c'est à dire la trajectoire originale, inconnue du filtre. Cette trajectoire est une simulation de la trajectoire réelle d'un objet. Pour l'ensemble des simulations, cette trajectoire est arbitrairement choisie comme étant une spirale (voir Figure 5.8a). On considère que la trajectoire met 20 s pour être effectuée, la période entre 2 points de la spirale est uniforme : $\Delta t = 10$ ms. De cette trajectoire est extraite la vitesse de l'objet, nommée vitesse de référence : $v^{Ref} = [v^{x,Ref} \ v^{y,Ref}]^T$. Les impédances associées à la trajectoire de référence seront nommées *impédances de référence*. La deuxième étape, illustrée Figure 5.7b, consiste en le développement d'un générateur d'entrées du filtre de Kalman. L'objectif est de simuler les signaux de mesure et l'estimation du modèle dynamique qui seraient obtenus pour un système expérimental.

On simule une méconnaissance concernant les actionneurs, se traduisant par un coefficient multiplié à la vitesse du fluide en chaque point de la trajectoire de référence. L'actionnement étant fluide uniquement, en supposant les forces inertielles négligeables, la vitesse d'une bille est égale

à celle du fluide en chaque instant. L'erreur concernant la vitesse du fluide peut donc être exprimée en fonction des vitesses de référence : $v_k^{f,x} = v_k^x = K_x \cdot v_k^{x,Ref}$ et $v_k^{f,y} = v_k^y = K_y \cdot v_k^{y,Ref}$. Un biais au niveau du modèle d'état est maintenant simulé. Aux impédances de référence sont ajoutées un bruit blanc gaussien de moyenne nulle et d'écart-type S_Z . Ces impédances seront dénommées *impédances bruitées*. L'ensemble des 28 paires d'électrodes sont intégrées au modèle d'observation (Equation 5.28).

5.4.2/ Simulation de référence : cas idéal du milieu à conductivité constante et période d'échantillonnage des mesures nulle

On suppose dans un premier temps que la conductivité du milieu est fixée. Cette hypothèse suppose l'absence de changement des propriétés du milieu comme notamment sa température. On suppose également que toutes les mesures sont disponibles simultanément. L'objectif est ici d'étudier la réponse du filtre en fonction de ses réglages et des perturbations environnantes, afin de trouver de bons réglages et de savoir si les estimations peuvent être satisfaisantes pour le cas le plus favorable. La sensibilité à la conductivité du milieu électrolytique sera abordée dans les sections qui suivent. Dans les conditions présentes, seule la partie du signal dépendante de la position de l'objet, $\phi_m(p)$ sera exploitée. On se restreint à un problème 2D.

La Figure 5.8 donne une illustration des données de simulation. Figure 5.8a, la trajectoire de référence en spirale est tracée. Les vitesses associées à la trajectoire de référence selon les deux axes sont tracées Figure 5.8b. Les vitesses biaisées, introduites dans le filtre, y sont également représentées. Le coefficient de biais est de $K_x = 1,3$ pour la vitesse selon l'axe x et $K_y = 0.7$ selon l'axe y, l'erreur sur le modèle dynamique est donc de 30%. Les vitesses estimées sont les valeurs biaisées qui sont introduites dans le modèle dynamique. Le modèle d'état est donc linéaire et défini comme suit :

$$x_k = \begin{bmatrix} p_k^x \\ p_k^y \\ p_k^z \\ \sigma_k \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} p_{k-1}^x + \Delta t v_{k-1}^{f,x} \\ p_{k-1}^y + \Delta t v_{k-1}^{f,y} \\ p_{k-1}^z \\ \sigma_{k-1} \end{bmatrix} + \alpha_k = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} p_{k-1}^x \\ p_{k-1}^y \\ p_{k-1}^z \\ \sigma_{k-1} \end{bmatrix} + \Delta t \begin{bmatrix} v_{k-1}^{f,x} \\ v_{k-1}^{f,y} \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} + \alpha_k \quad (5.26)$$

La matrice de covariance d'état prend la forme suivante :

$$Q = \begin{bmatrix} a_{11} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & a_{22} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (5.27)$$

où a_{11} et a_{22} devront être déterminés empiriquement.

L'impédance bruitée qui sera introduite dans le filtre, présentée Figure 5.8c, est superposée à l'impédance de référence, associée à la trajectoire de référence. La variation d'impédance de référence obtenue à l'aide de la trajectoire de référence est extraite en se basant sur le modèle d'observation. A la variation d'impédance réelle est ajouté un bruit gaussien d'écart type $S_Z = 40 \Omega$. Le modèle d'observation, incluant le vecteur des 28 mesures, est défini ci-dessous :

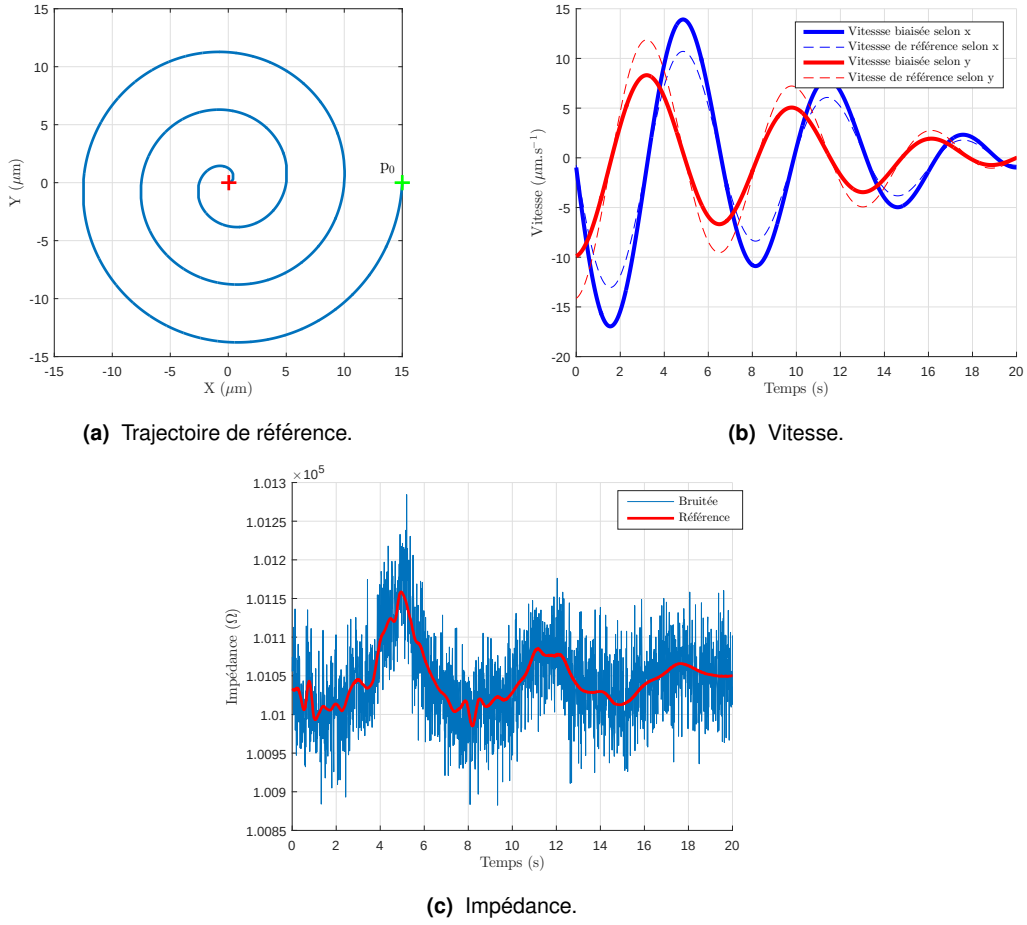


FIGURE 5.8 (a) Trajectoire de référence, considérée comme étant la trajectoire réelle de la bille. (b) Vitesses de référence et biaisées de la bille selon les deux axes du plan. La vitesse biaisée est le modèle introduit dans le filtre. (c) Tracé de l'impédance bruitée pour la paire m=1 d'électrodes (en bleu) et des mesures de référence (en rouge).

$$y_k = \begin{bmatrix} Z_k^1(p, \sigma) \\ Z_k^2(p, \sigma) \\ \vdots \\ Z_k^{28}(p, \sigma) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\sigma_0}{\sigma} Z^{1,0}(\sigma_0)(1 + \phi_1(p_k)) \\ \frac{\sigma_0}{\sigma} Z^{2,0}(\sigma_0)(1 + \phi_2(p_k)) \\ \vdots \\ \frac{\sigma_0}{\sigma} Z^{28,0}(\sigma_0)(1 + \phi_{28}(p_k)) \end{bmatrix} = h(x_k) + \beta_k \quad (5.28)$$

avec $\phi_i(p_k)$ la variation relative d'impédance à la position p_k .

Pour un cas expérimental réel, la déviation du bruit de mesure peut être déterminée, comme cela a été montré pour le cas 1D notamment. En conséquence, aucune erreur concernant la valeur de S_Z ne sera introduite. La déviation standard du bruit, ici $S_Z = 40 \Omega$ sera donc utilisée pour les réglages :

$$R = \begin{bmatrix} 40^2 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \ddots & & \vdots \\ \vdots & & \ddots & 0 \\ 0 & \dots & 0 & 40^2 \end{bmatrix} \quad (5.29)$$

Dans toute la suite, on supposera une absence d'erreur sur l'état initial afin de tester la stabilité du filtre en fonction de ses réglages au niveau des matrices de covariance. A l'exception de l'estimation de l'état initial, la matrice de covariance des perturbations est le seul objet devant à ce stade être réglé. Afin de limiter le nombre de possibilités, on prendra $a_{11} = a_{22} = S_p^2$. Cette hypothèse est réaliste dans la mesure où les erreurs sur la dynamique des deux axes sont du même ordre de grandeur. La matrice Q a donc la forme suivante :

$$Q = \begin{bmatrix} S_p^2 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & S_p^2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}, \quad (5.30)$$

Le filtre est maintenant implémenté, et sa réponse peut être testée pour différents réglages du coefficient S_p . La réponse du filtre pour différentes valeurs de S_p est représentée sur la Figure 5.9.

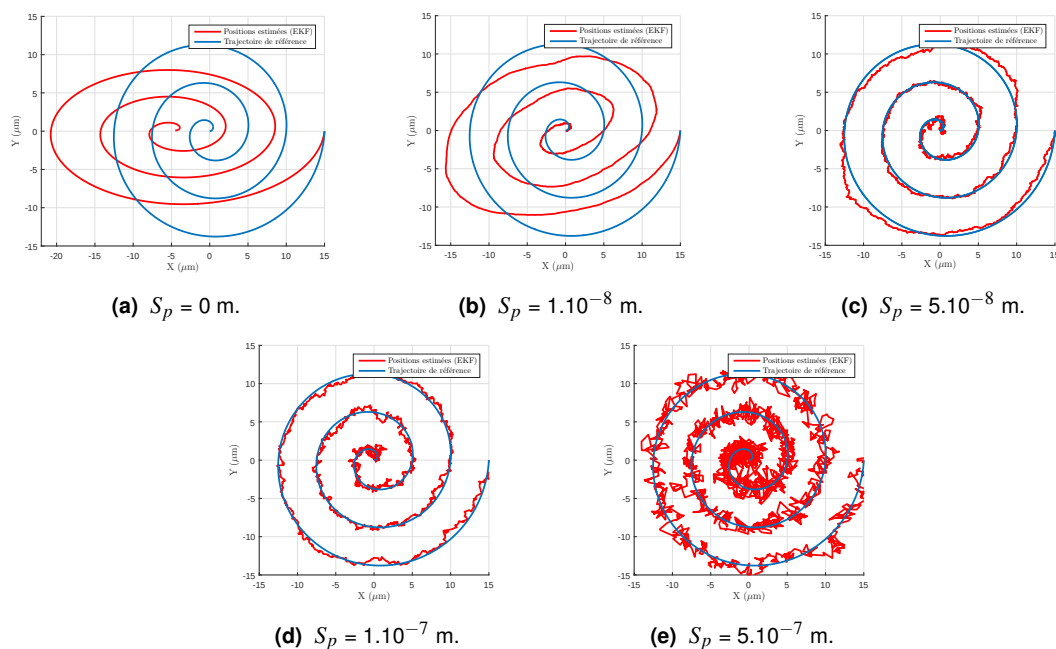


FIGURE 5.9 Tracé des positions de référence (en bleu) et estimées par le filtre (en rouge) pour différents réglages du paramètre S_p de la matrice de covariance Q . Les tracés montrent une confiance décroissante dans le modèle dynamique, partant d'une confiance totale et terminant par une confiance très faible.

La première courbe correspond au cas où $S_p = 0 \text{ m.}$ Le filtre donne donc une confiance totale au modèle dynamique, et la courbe est celle qui serait obtenue à partir du modèle dynamique sans l'utilisation du filtre, à des fins de comparaison. La deuxième courbe trace la cas où $S_p = 1.10^{-8} \text{ m.}$ La confiance dans le modèle dynamique est toujours trop importante, et le filtre a du mal à converger vers la valeur réelle de position. Les troisième et quatrième courbes donnent la réponse respectivement pour $S_p = 5.10^{-8} \text{ m}$ et $S_p = 1.10^{-7} \text{ m.}$ Les deux réglages sont satisfaisants, le premier

étant plus stable et moins rapide que le second. Enfin, la dernière courbe présente le cas extrême pour lequel très peu de confiance est donnée dans la dynamique, avec $S_p = 5.10^{-7}$ m. Le système est particulièrement instable et les estimations sont mauvaises.

La confiance dans le modèle dynamique est ici stabilisatrice mais ralentit la convergence du filtre. Pour cet exemple, un réglage de $S_p = 5.10^{-8}$ m donne de bons résultats. Cette valeur peut être ajustée afin de satisfaire à d'autres critères de convergence plus spécifiques (précision, rapidité,...).

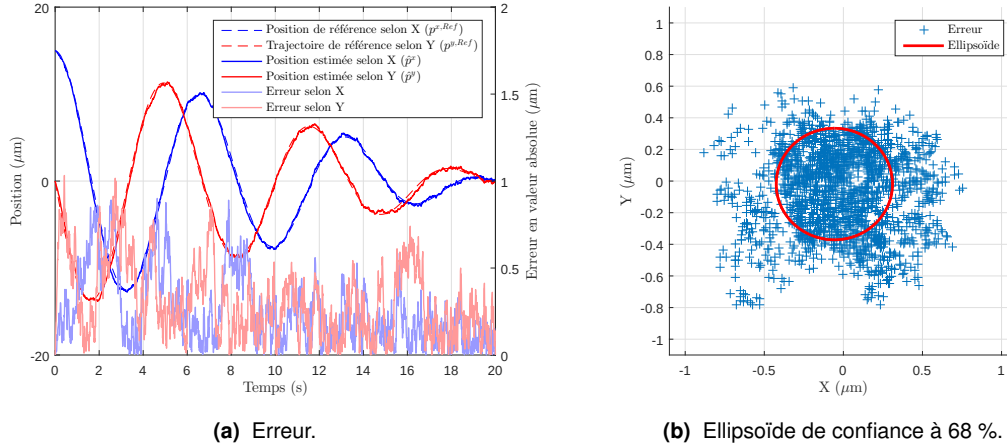


FIGURE 5.10 Performances du filtre pour $S_p = 5.10^{-8}$ m pour le cas de référence.

Afin de chiffrer l'erreur, les courbes d'estimation selon les deux axes, l'erreur associée et enfin l'ellipsoïde de confiance à 68 % pour $S_p = 5.10^{-8}$ m sont représentées sur la Figure 5.10. L'ellipsoïde de confiance à 68 % est une représentation graphique de la zone dans laquelle l'erreur, à chaque itération, a 68 % d'être incluse. On constate sur la courbe que l'erreur moyenne est faible (0,1 μm environ), et que les déviations standard de l'erreur selon les deux axes sont de l'ordre de 0,3 μm sur l'estimation de la position : $S_e^x \simeq S_e^y \simeq 0,3 \mu\text{m}$. Ce tracé permet donc de conclure positivement cette simulation : en l'absence d'erreur moyenne par rapport au modèle d'observation, il semble possible d'estimer la position d'un objet par fusion de mesures d'impédance, avec précision, malgré un fort bruit gaussien de mesure et une large erreur (de l'ordre de 30 %) sur l'actionnement.

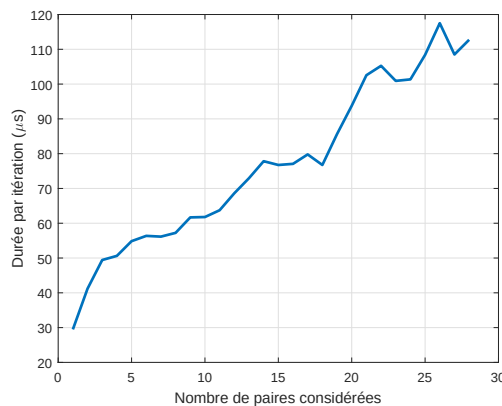


FIGURE 5.11 Temps de calcul en fonction du nombre de paires de mesure utilisées par le filtre.

Temps de calcul On étudie la rapidité du calcul en calculant la durée moyenne d'une itération, c'est à dire d'une estimation de position, en fonction du nombre de paires d'électrodes utilisées pour l'estimation¹ (Figure 5.11). L'évolution du temps de calcul montre une grande dépendance dans le nombre de paires utilisées, avec une tendance plus ou moins linéaire. Cela s'explique par le fait que l'étape d'inversion dans le calcul du gain de Kalman est l'étape déterminante concernant le temps de calcul, et l'inversion d'une matrice présente une grande dépendance dans la dimension de cette dernière. En raison de l'absence d'erreur statique par rapport au modèle, le nombre de paires utilisées ici a peu d'influence sur la précision de la reconstruction. Ce point est abordé dans la section qui suit.

5.4.3/ Influence des erreurs de modèle

Le cas précédent conclut positivement les simulations en l'absence d'erreur moyenne par rapport au modèle d'observation. Dans la réalité, un défaut de modèle peut invalider cette hypothèse. Les causes possibles de défauts de modèles sont multiples :

- Un défaut d'étalonnage : les signaux mesurés expérimentalement sont soumis à du bruit et de la dérive thermique. Malgré les différentes étapes de filtrage du signal, une erreur peut subsister concernant la variation d'impédance due à la présence de l'objet. Un défaut concernant la mesure de position, ou durant l'interpolation des données, peut également être présent.
- Une inexactitude concernant le modèle purement résistif : le modèle purement résistif introduit dans le chapitre précédent et utilisé ici suppose une absence totale d'effets capacitifs, et une résistance des pistes métalliques nulle. Malgré la prise en compte possible de ces effets (soustraction de la résistance des pistes, utilisation de la partie réelle du signal de mesure...) des erreurs peuvent subsister.
- Un endommagement de capteur
Les électrodes de mesure sont soumises à des contraintes lorsqu'une tension électrique leur est appliquée, particulièrement dans le cas de hautes tensions pour l'actionnement. Ceci peut créer un endommagement partiel ou total des électrodes, ce qui aura pour conséquence une modification du modèle d'observation.

L'objectif est ici de tester la robustesse du filtre à ces erreurs, et d'estimer l'apport de l'utilisation de plusieurs paires d'électrodes.

Impact du nombre de capteurs défectueux Dans cette partie, l'impact d'une erreur de modèle due à un capteur défectueux est étudiée. Afin de simuler ce défaut, une erreur statique de $e_z = 100 \Omega$ est ajoutée aux mesures bruitées. Pour information, la variation d'impédance obtenue, en prenant deux électrodes en opposition, et en ajoutant une bille de $8 \mu m$ au centre est de l'ordre de 400Ω . Une erreur de 100Ω est donc une erreur importante, les mesures provenant du capteur défectueux ne sont plus du tout représentatives de la position réelle de l'objet si l'on s'en réfère au modèle.

Il est possible d'observer les conséquences de ce type de défaut Figure 5.12. Pour ce faire, l'écart-type de l'erreur tracé est la moyenne des écart-types selon les deux axes ($S_e = \frac{S_e^x + S_e^y}{2}$). On constate que l'écart type de l'erreur suit une tendance relativement linéaire jusqu'à ce que 18 capteurs (18 parmi les 28 combinaisons possibles) fournissent une mesure erronée. L'erreur se stabilise ensuite.

1. A noter que les calculs sont effectués sous Matlab à l'aide de classes. L'accès aux paramètres est très lent avec ce logiciel, alors que cela représente une durée négligeable à l'aide d'un logiciel de programmation en C++. Les temps d'accès aux paramètres des classes ont donc été retirés afin de donner un ordre de grandeur des temps de calculs si le filtre était implémenté dans un logiciel dédié à une application temps-réel, et afin de faciliter leur comparaison.

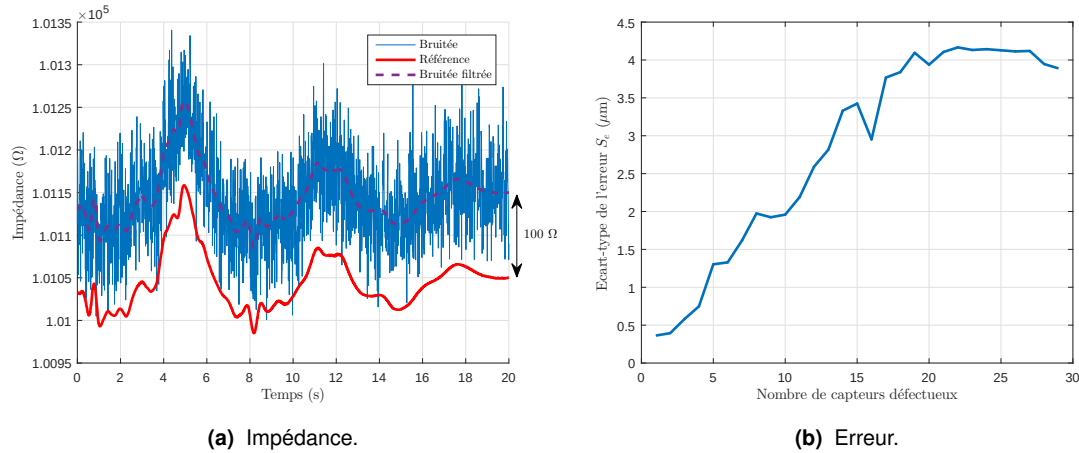


FIGURE 5.12 Erreur en fonction du nombre de capteurs défectueux. L'erreur statique est de 100Ω par rapport à la référence pour un capteur défectueux. **(a)** Évolution de la mesure bruitée en comparaison de la référence pour une paire d'électrodes. **(b)** Impact sur l'écart-type de l'erreur du nombre de capteurs défectueux pour la trajectoire de référence.

Cela correspond pour ce cas à l'erreur maximale, c'est à dire que le filtre converge rapidement vers une estimation erronée et ne s'en déplace plus significativement en raison de l'absence de mesures cohérentes avec le modèle. En conclusion, le fait qu'une multitude de capteurs soient présents limite l'impact d'erreurs par rapport au modèle d'observation, même importantes, au niveau d'un capteur isolé.

Impact de l'amplitude de l'erreur de modélisation Dans cette partie, nous étudions l'impact d'une erreur de modèle sur l'ensemble des capteurs. Afin de simuler ce défaut, une erreur de $e_z \Omega$ est ajoutée à la totalité des mesures. L'impact de l'amplitude de l'erreur sur l'estimation de position est donné Figure 5.13.

On constate qu'il existe une relation croissante entre l'amplitude de l'erreur constante ajoutée au modèle et l'écart-type de l'erreur d'estimation S_e , jusqu'à une amplitude d'erreur ajoutée de 64Ω . Au-delà de cette valeur critique, l'erreur de modélisation est trop importante, et la position de l'objet est perdue au cours de la simulation (voir Figure 5.13d). Cette perte de suivi est marquée par une discontinuité de la courbe.

En conclusion, les erreurs de modélisation induisent une erreur d'estimation avec une relation affine, jusqu'à une discontinuité signifiant la perte de suivi marquée par une discontinuité de la déviation de l'erreur. Il convient de se positionner en-dessous de ce seuil en limitant les erreurs de mesure.

5.4.4/ Etude de l'impact de la dérive thermique

Dans cette section, l'objectif est de tenir compte dans les simulations de la dérive de la conductivité dans le temps. Cela peut par exemple correspondre à un échauffement ou refroidissement du liquide en raison de mouvements d'air au contact du dispositif. Pour cela, la conductivité du milieu liquide au cours du temps est rendue variable, comme présenté Figure 5.14a. La variation d'impédance due à la dérive de conductivité (voir Figure 5.14b) est de l'ordre de 30 fois supérieure à celle due à la présence de l'objet.

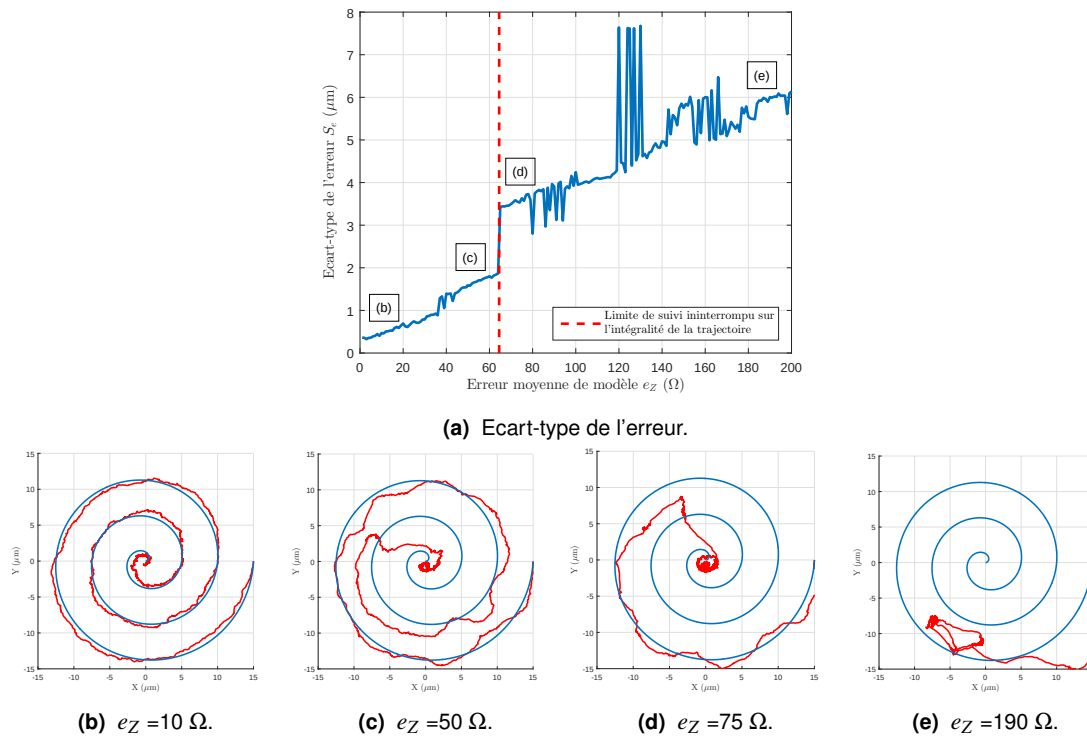


FIGURE 5.13 Quantification de l'erreur d'estimation en fonction de l'erreur statique de modèle appliquée sur chaque capteur. **(a)** Ecart-type de l'erreur S_e en fonction de l'erreur de modèle e_Z . **(b)→(e)** Tracé de la trajectoire pour $e_Z = 10, 50, 75$ et 190Ω . Comme précédemment, la trajectoire de référence est représentée en bleu et l'estimation en rouge.

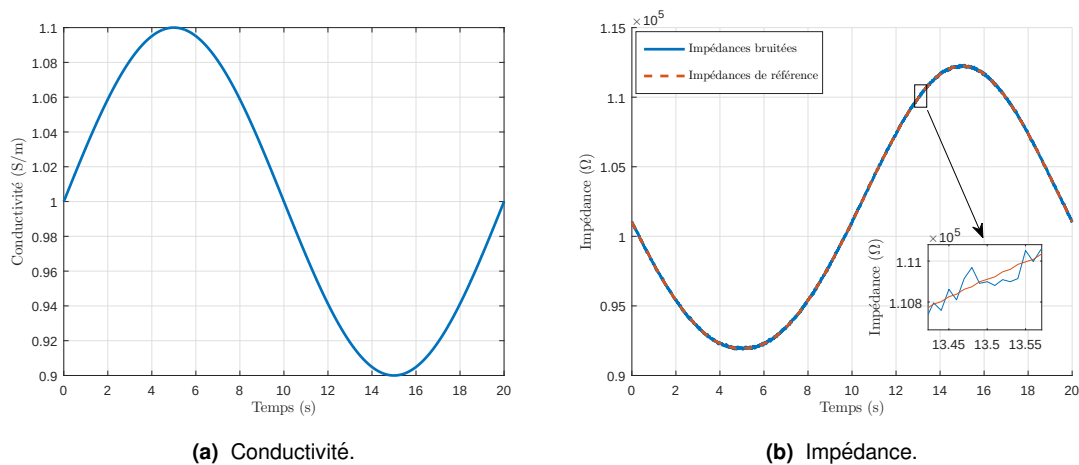


FIGURE 5.14 Évolution des mesures dans un milieu à conductivité variable. **(a)** Mise en évidence de la variation de conductivité. **(b)** Evolution de l'impédance bruitée au cours du temps pour une paire d'électrodes adjacentes.

La dérive est supposée totalement inconnue. En conséquence, aucune information concernant l'évolution de la conductivité n'est fournie au filtre. Cependant, la connaissance de la conductivité à

l'itération précédente permet de donner une première approximation de la conductivité courante, et donc le filtre suppose la conductivité comme constante², ce qui ne change pas le modèle d'état :

$$x_k = \begin{bmatrix} p_k^x \\ p_k^y \\ p_k^z \\ \sigma_k \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} p_{k-1}^x + \Delta t v_{k-1}^{f,x} \\ p_{k-1}^y + \Delta t v_{k-1}^{f,y} \\ p_{k-1}^z \\ \sigma_{k-1} \end{bmatrix} + \alpha_k = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} p_{k-1}^x \\ p_{k-1}^y \\ p_{k-1}^z \\ \sigma_{k-1} \end{bmatrix} + \Delta t \begin{bmatrix} v_{k-1}^{f,x} \\ v_{k-1}^{f,y} \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} + \alpha_k. \quad (5.31)$$

L'incertitude sur la conductivité doit être introduite dans Q :

$$Q = \begin{bmatrix} S_p^2 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & S_p^2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & S_\sigma^2 \end{bmatrix}, \quad (5.32)$$

On garde les précédents réglages pour la position : $S_p = 5 \cdot 10^{-7}$ m, $\Delta t = 10$ ms, erreur nulle sur l'état initial et on pose $S_\sigma = 1$ S/m. On a donc :

$$Q = \begin{bmatrix} 40^2 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 40^2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1^2 \end{bmatrix}, \quad (5.33)$$

Le filtre converge, comme présenté sur la courbe Figure 5.15a. La présence d'une forte dérive thermique, sous l'hypothèse que son évolution suit un modèle parfaitement résistif, n'est donc pas un verrou à l'estimation de position. Les résultats de simulation montrent des performances sensiblement égales à celles du cas de référence malgré la dérive, comme l'atteste l'ellipsoïde de confiance pour ce cas donnée Figure 5.15b. L'écart-type de l'erreur sur la conductivité est $S_\sigma \simeq 0,09$ mS/m, et sur la position $S_e^x \simeq S_e^y \simeq 0,35$ μ m.

5.4.5/ Prise en compte des contraintes technologiques de séquentialité

Dans les parties précédentes, nous avons fait l'hypothèse que le vecteur des mesures était fourni instantanément pour une position que l'on peut considérer comme constante. Or concrètement, les mesures sont réalisées de manière séquentielle et la dynamique d'acquisition n'est pas suffisamment grande pour que la position de l'objet puisse être considérée comme constante. Ainsi, le fait que les mesures soient multiplexées peut poser un inconvénient notable qui est que l'impédance mesurée par chaque paire d'électrodes se fera pour des positions différentes de l'objet. Nous proposons d'enrichir le filtre de Kalman étendu à travers l'utilisation du filtre de Kalman étendu dit *séquentiel* (SEKF, Sequential Extended Kalman Filter) appliqué à l'étude précédente.

La variante séquentielle du EKF est généralement utilisée dans les systèmes embarqués afin de minimiser le temps de calcul. L'étape de correction, lorsque M capteurs sont utilisés, est subdivisée en M étapes (voir les équations données plus bas) afin d'éviter l'inversion d'une matrice de dimension M^2 dont le coût en calcul peut être important si le nombre de capteurs M est grand. Dans le cas présent, cette méthode est utilisée, et le modèle d'état est de plus mis à jour à travers l'étape de prédiction à chaque itération. Nous n'avons pas à ce jour trouvé de mention de cette adaptation dans la littérature. L'adaptation du SEKF que nous proposons doit permettre d'améliorer la

2. Pour information, le terme utilisé dans la littérature lorsque l'identité est utilisée dans le modèle d'observation en l'absence d'information sur celui-ci est *random-walk model*.

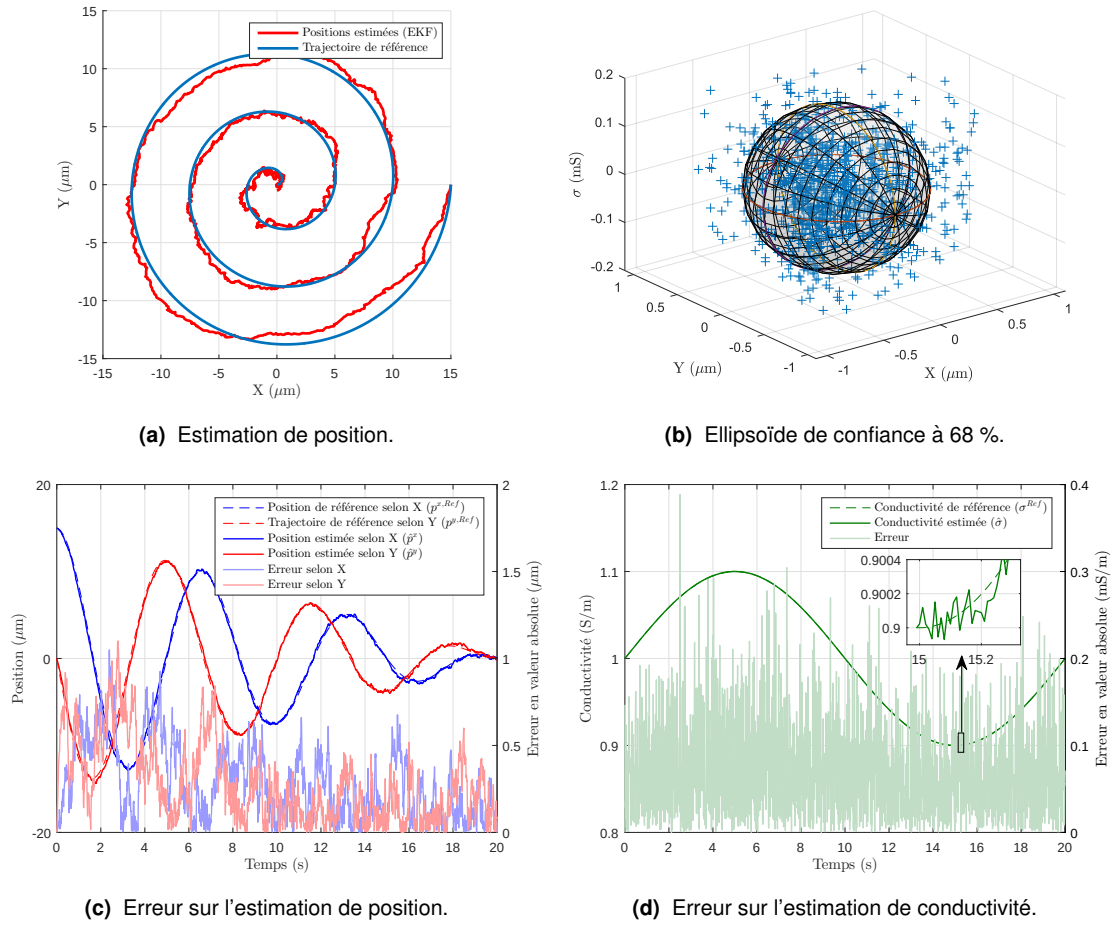


FIGURE 5.15 Estimation de position pour le cas à conductivité variable. **(a)** Superposition de l'estimation de position à la position de référence pour une trajectoire en spirale. **(b)** Ellipsoïde de confiance associée. **(c), (d)** Erreur d'estimation de position et de conductivité calculée à partir de l'écart par rapport à la trajectoire de référence.

précision des estimations de position dans la mesure où elle permet de tenir compte de la variation de la position de la bille entre deux mesures.

Le principe du filtre implémenté est similaire à celui du EKF conventionnel. Si la covariance du bruit de processus Q est diagonale, la formulation est simple et se fait comme précédemment pour le choix des mesures, en n'utilisant qu'une seule mesure à chaque fois. Si Q n'est pas diagonale, il faut la diagonaliser (cas non étudié ici). Afin de tenir compte séquentiellement des mesures provenant de chaque capteur, on introduit un nouvel indice l , avec $(1 \leq l \leq M)$, où M est le nombre de capteurs utilisés. Le vecteur d'état corrigé $\hat{x}_{lk}$ est réévalué pour l allant de 1 à M afin de tenir compte de chaque mesure :

$$\hat{x}_{0k} = \hat{x}_k^- \quad (5.34)$$

$$\hat{x}_k = \hat{x}_{Mk} \quad (5.35)$$

Les équations du filtre sont alors modifiées comme suit :

$$\hat{x}_{lk}^- = f(\hat{x}_{(l-1)k}) \quad (5.36)$$

$$K_{lk} = \frac{P_{lk}^- J_h(x_{lk}^-)^T}{R_l} \quad (5.37)$$

$$\hat{x}_{lk} = \hat{x}_{lk}^- + K_{lk}(y_{lk} - h(x_{lk}^-)) \quad (5.38)$$

$$P_{lk} = (I - K_{lk} J_h(x_{lk}^-)) P_{lk}^- \quad (5.39)$$

où $y_{lk} = [y_k(l)]$ est un vecteur unitaire contenant la mesure provenant de la paire l et $R_l = [R(l)]$ la matrice de dimension 1 contenant la covariance de l'erreur associée à la mesure l .

Afin d'illustrer l'intérêt du SEKF, on se fixe ici pour objectif de comparer les performances des filtres SEKF et EKF en termes de précision d'estimation dans le cas d'acquisition séquentielle de mesures. On se place dans le cas applicatif de la plateforme expérimentale développée³. Un multiplexeur est utilisé afin de séquentiellement sélectionner l'ensemble des paires d'électrodes. Le module temps-réel (RTK) envoie les consignes au multiplexeur et récupère les impédances mesurées. Le PC récupère ces données par USB. On supposera que le temps nécessaire pour récupérer ces données est fixe et de 10 ms. Différentes périodes d'intégration des mesures seront utilisées. Le diagramme Figure 5.16 illustre les hypothèses vis-à-vis de l'échantillonnage pour le EKF et pour le SEKF. Le EKF considère les mesures comme instantanées et assimile le temps de mesure au temps nécessaire à la réception des signaux tandis que le SEKF tient compte de la période entre chaque mesure. Les réglages de la matrice Q étant dépendants de la période d'échantillonnage, on s'affranchit de la dérive thermique en se plaçant dans les conditions du cas de référence (5.4.2) afin de n'avoir qu'un seul paramètre à optimiser : S_p .

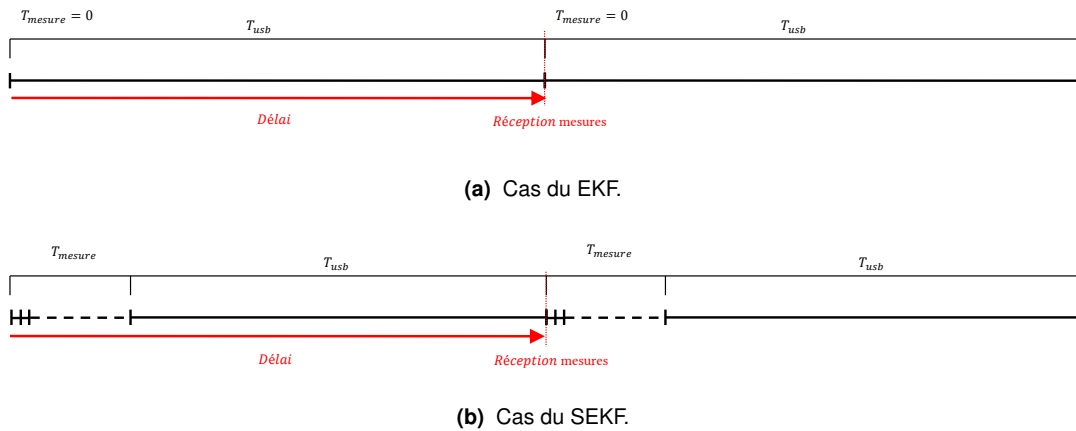


FIGURE 5.16 Illustration des périodes caractéristiques pour l'acquisition des mesures. **(a)** : Cas approximé du EKF pour lequel les mesures sont acquises et traitées simultanément. **(b)** : Cas du SEKF où la séquentialité des mesures est prise en compte.

Réponse en présence d'un fort bruit de mesure On se place pour la première étude dans le cas où le bruit de mesure est important (comme pour les cas précédents, 5.4.2) : $S_Z = 40 \Omega$. La trajectoire en spirale est effectuée, avec le EKF puis le SEKF, avec différents réglages de S_p . Les courbes d'erreur sont données Figure 5.17.

Ces graphes montrent que lorsque le bruit de mesure est important, quelle que soit la période d'échantillonnage, le filtre séquentiel n'apporte pas d'amélioration des performances. La courbe Figure 5.17a trace à titre indicatif l'impédance bruitée pour la paire $m=1$ afin de rendre compte de

3. A noter qu'il ne s'agit pas des performances maximales théoriques, l'objectif est ici d'être cohérent vis-à-vis de la plateforme développée.

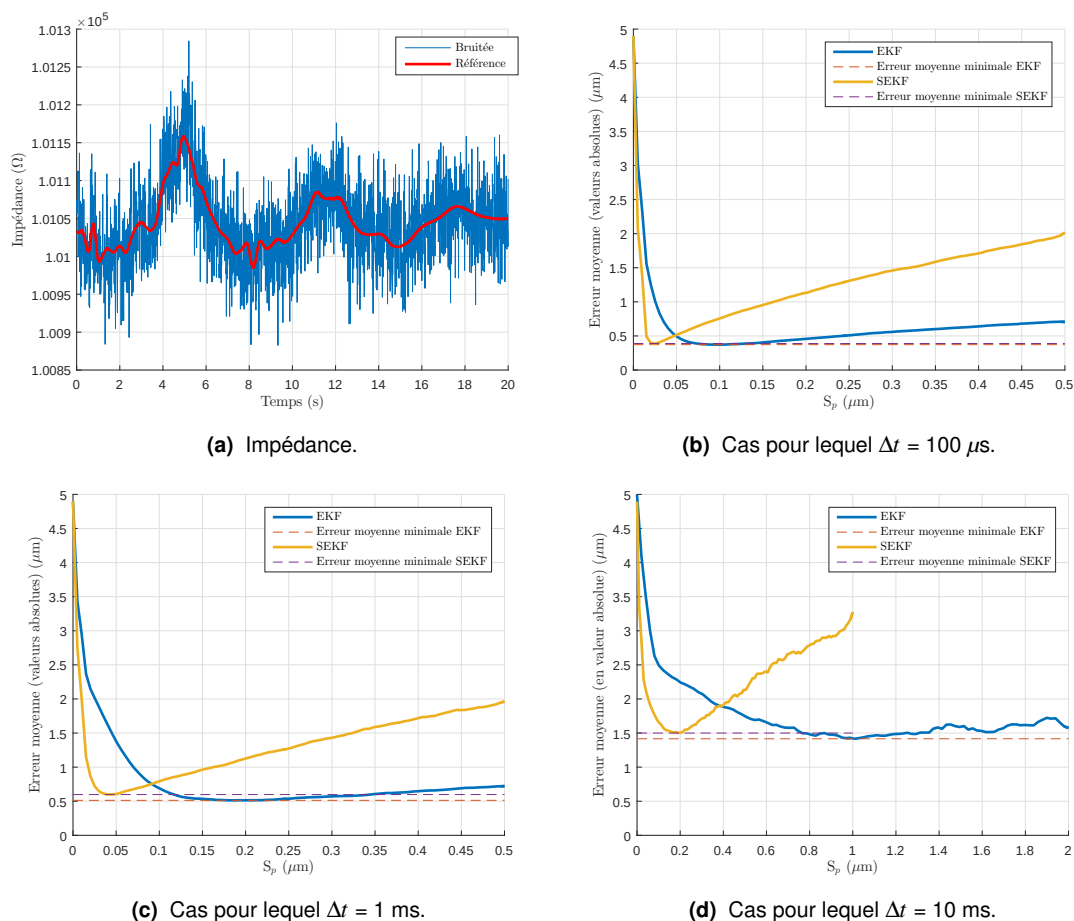
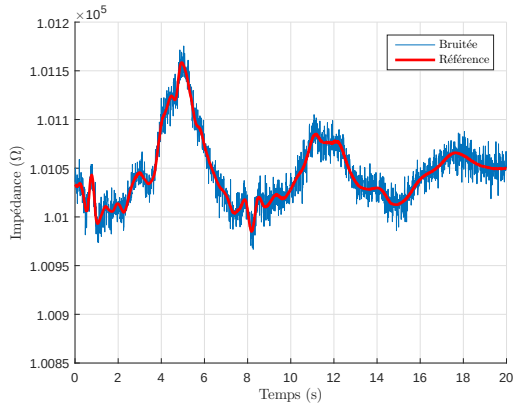


FIGURE 5.17 Comparatif des performances du EKF et du SEKF pour différentes périodes d'échantillonnage lorsque le bruit de mesure est élevé.

l'importance du bruit en comparaison de la variation due à la présence de l'objet. Figure 5.17b montre les résultats pour une période d'échantillonnage de $100 \mu s$. Les performances qu'il est possible d'atteindre en terme de précision du EKF et du SEKF sont sensiblement identiques, comme le montrent les minima d'erreur superposés. En revanche, on constate qu'un mauvais réglage du SEKF induit une erreur moyenne plus importante qu'avec le EKF. Des constats similaires pour une période d'échantillonnage de $1 ms$ et $10 ms$ sont présentés Figure 5.17c et Figure 5.17d, avec de surcroît une précision légèrement meilleure pour le EKF. Une interprétation de ces résultats est que les erreurs de modélisation du EKF, du fait qu'il ne considère pas le temps écoulé entre les mesures, est assimilable à un bruit additionnel, probablement faible devant le bruit de mesure lui-même.

Réponse en présence d'un faible bruit de mesure On se place cette fois-ci dans le cas où l'amplitude du bruit est plus modérée : $S_Z = 10 \Omega$. De manière analogue, la Figure 5.18 présente l'impédance mesurée pour une paire d'électrodes, ainsi qu'un comparatif des performances entre le EKF et le SEKF pour différentes périodes d'échantillonnage.

Pour une période d'échantillonnage de $100 \mu s$ et de $1 ms$, des résultats relativement similaires au cas précédent sont obtenus. Le SEKF et le EKF présentent une erreur moyenne minimale sensiblement égales, mais les performances du SEKF sont plus sensibles au réglage du filtre, ce qui le rend moins intéressant. En revanche, pour une période d'échantillonnage de $10 ms$,



(a) Impédance.

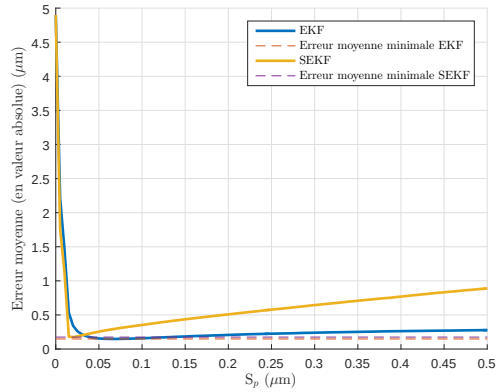
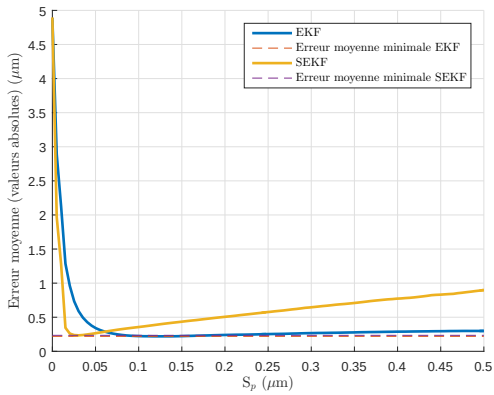
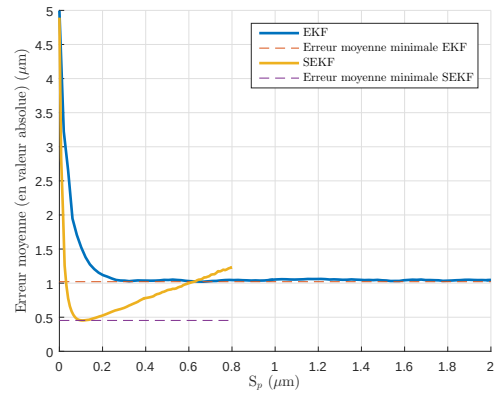
(b) Cas pour lequel $\Delta t = 100 \mu s$.(c) Cas pour lequel $\Delta t = 1 \text{ ms}$.(d) Cas pour lequel $\Delta t = 10 \text{ ms}$.

FIGURE 5.18 Comparatif des performances du EKF et du SEKF pour différentes périodes d'échantillonnage lorsque le bruit de mesure est modéré.

les performances du SEKF en terme de précision sont meilleurs pour un filtre bien réglé, avec une erreur moyenne de $0,5 \mu m$ pour le SEKF pour $S_p = 0,1 \mu m$ contre $1 \mu m$ pour le EKF pour $S_p = 0,4 \mu m$. Cette différence s'explique probablement par le fait que pour le EKF, l'erreur sur la date d'acquisition n'est plus assimilable à du bruit du fait que le bruit est ici de moins forte amplitude.

En conclusion, la variante séquentielle du EKF n'apporte une amélioration des résultats que sous deux conditions. La première est que la période d'échantillonnage de l'appareil de mesure ne puisse pas être considérée comme négligeable vis-à-vis de la dynamique de l'objet dont la position est estimée, la seconde étant que l'approximation de mesures synchrones induise une erreur suffisante pour que celle-ci ne soit pas assimilable à du bruit de mesure. Le SEKF présente toutefois une plus grande sensibilité aux réglages que le EKF. Une piste d'amélioration qui permettrait de s'affranchir de la sensibilité aux réglages, qui ne sera pas développée ici, serait d'utiliser des gains adaptatifs associés au SEKF. Le fait que le SEKF présente des performances supérieures à celles du EKF dans des conditions où le bruit de mesure est modéré et la période d'échantillonnage faible est compatible avec l'instrumentation de mesure. En effet, l'impédancemètre est doté d'un amplificateur à détection synchrone qui filtre d'autant mieux le signal que la période est grande. Toutefois, il a été mentionné précédemment que les effets thermiques transitoires sont réduits lorsqu'une grande fréquence de bascule est utilisée. Une étude supplémentaire, qui pourra être menée dans des travaux ultérieurs, devra être menée afin de quantifier la dégradation des performance

induite par une faible fréquence de bascule, et ainsi conclure concernant l'intérêt d'utiliser un SEKF pour l'estimation de position par impédancemétrie.

5.5/ Conclusion

Dans ce chapitre clôturant ces travaux de thèse, une méthode d'estimation de position de billes dans des puces fluidiques a été proposée. Cette méthode se base sur les équations du filtre de Kalman, prenant comme argument des mesures d'impédances pour l'observation, associées à un modèle dynamique obtenu grâce à une connaissances du comportement des actionneurs dédiés. Le modèle d'observation associé au filtre de Kalman a été défini comme étant la variation relative de l'impédance induite par la présence d'une bille dans la zone de détection. A ce modèle a été associé un modèle de conductivité, dissocié du modèle de position par séparation des variables, permettant de tenir compte de la dérive de conductivité, notamment induite par des variations locales de température. Une fois les équations du filtre définies, celui-ci a été validé expérimentalement pour le cas de billes se déplaçant le long de l'axe d'un canal microfluidique. Dans la perspective d'une détection selon plusieurs axes, le cas d'une détection dans le plan d'une puce par fusion des données de plusieurs paires d'électrodes a été validé en simulation. Une étude comparative du filtre étendu et du filtre séquentiel étendu a enfin permis de mettre en évidence la pertinence de l'utilisation de ces deux méthodes en fonction du cas à l'étude.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale

La mesure d'impédance a connu un intérêt croissant ces dernières décennies, tant à l'échelle macroscopique notamment en imagerie, qu'à l'échelle microscopique afin de déterminer certains paramètres physiques et géométriques d'échantillons biologiques. Ces avancées majeures à ces deux échelles ont servi de socle aux travaux présentés dans ce manuscrit portant sur le développement d'une nouvelle technologie dédiée à la détection de position de cellules individuelles en temps-réel dans des puces fluidiques. Les avancées techniques en spectroscopie d'impédance électrique, effectuée dans des puces microfluidiques, ont notamment favorisé la réalisation d'un environnement de test ergonomique et performant. Les avancées en tomographie d'impédance électrique, souvent effectuée à l'échelle de l'homme, ont quant à elles été source d'inspiration pour l'obtention d'organes sensoriels et de méthodes d'estimation de position plus performantes, notamment en ce qui concerne la configuration des électrodes et la méthode de détermination de la position. Ces travaux se démarquent de ceux de plusieurs laboratoires ayant publié ces dernières années par le fait d'une détection continue de la position entre les électrodes.

Dans la première partie du développement de ces travaux, une plateforme a été développée pour la validation du concept. Cette plateforme est équipée de puces fluidiques fixées mécaniquement, et reliées fluidiquement et électriquement à l'instrumentation. Le design des puces a été pensé de manière à permettre la validation du concept en 1D le long de l'axe d'un canal, et en 2D dans un plan. Pour ces deux designs, un positionnement précis et reproductible des billes est possible par des méthodes fluidiques et électriques associées à divers actionneurs. La géométrie et la configuration d'électrodes a été étudiée afin d'assurer la sensibilité du dispositif à la position d'une cellule. Il a notamment été montré que la géométrie des électrodes pouvait être étudiée afin d'augmenter la plage de sensibilité du capteur. Un dispositif exploitant plusieurs paires a également été développé afin d'augmenter la fiabilité de la détection. Afin de permettre ce multiplexage des mesures, une carte de routage a spécialement été développée en interne, et associée à l'appareil de mesure. Une interface a enfin été développée afin de pouvoir piloter simultanément les divers éléments d'actionnement et de mesure.

Dans la suite, les travaux se sont focalisés sur l'obtention d'un modèle liant la position d'une cellule à l'impédance mesurée entre les électrodes. Il a été montré expérimentalement que l'impédance mesurée variait en raison d'effets thermiques inhérents aux conditions expérimentales. C'est pourquoi le modèle développé tient compte de la position de la cellule, mais également de la conductivité du milieu afin de pouvoir isoler du signal mesuré la composante du signal due à la présence de la cellule. Le modèle développé est semi-analytique : le modèle de conductivité est analytique, tandis que le modèle de position est déterminé par étalonnage. Les protocoles permettant l'étalonnage des capteurs ont été établis. Il a enfin été montré expérimentalement qu'il est possible d'obtenir un modèle de l'impédance sensible à la position de la cellule pour le dispositif 1D, c'est à dire pour la

détection le long de l'axe d'un canal.

Le dernier chapitre concerne le traitement des signaux obtenus. La méthode proposée afin de donner une estimation de la position de cellules est d'utiliser un filtre de Kalman étendu. Ce filtre s'avère performant car au-delà d'exploiter les mesures d'impédance, il permet de tenir compte du bruit de mesure, exploite le modèle dynamique, et permet la fusion de mesures issues de plusieurs capteurs distincts. Le filtre une fois réglé permet d'estimer la position d'une cellule sur plusieurs axes, et peut également intégrer la conductivité dans ses paramètres afin de tenir compte de la dérive thermique. Ce filtre a été exploité pour le capteur 1D dont le modèle étalon de la variation d'impédance a servi de modèle d'observation du filtre. Après un temps d'établissement, il a été montré expérimentalement que le filtre était en mesure d'estimer en temps réel la position des billes utilisées avec une précision de l'ordre du micromètre ; ceci permet de conclure positivement à la faisabilité du concept de détection par impédancemétrie. En vue de généraliser cette méthode à la détection suivant deux dimensions, des simulations d'une détection plus complexe ont été effectuées. A partir d'une simulation du capteur 2D doté de 8 électrodes, il a été montré une estimation robuste pouvant être faite en exploitant la fusion de mesures issues de plusieurs paires. Notamment, il a été montré que ce type de dispositif était en mesure d'estimer la position d'une cellule malgré une forte dérive thermique, et que le nombre de paires utilisées avait un impact direct sur la robustesse de la détection. Enfin, la séquentialité des mesures a été prise en compte en considérant une variante séquentielle du filtre de Kalman, dont les performances sont discutées.

De manière générale, ces travaux ont permis de conclure favorablement à l'utilisation de mesures d'impédance pour l'estimation de position. Les travaux théoriques de modélisation ont notamment permis de donner une certaine genericité à la méthode, tandis que les expérimentations ont soulevé et permis d'identifier différentes problématiques liées à cette méthode. Le capteur 1D développé, à l'aide d'une seule paire d'électrodes est en mesure de fournir une bonne estimation de la position d'une cellule. Les outils de traitement de signal ont permis cette estimation malgré un bruit de mesure important, l'une des problématiques initiales. La fusion des données de plusieurs capteurs a donné de bons résultats en simulation, ce qui suppose une amélioration probable des performances avec un dispositif multi-électrodes, et ce même en tenant compte de la dérive thermique et de l'estimation selon plusieurs axes.

Perspectives

Afin d'aboutir à une preuve de concept fonctionnelle, je me suis attaché à développer une plateforme expérimentale, une méthode d'estimation, des protocoles d'étalonnage des capteurs, et enfin à soulever les différents verrous liés à l'utilisation de l'impédance pour la mesure de position. Cette diversité, liée au caractère pionnier de ces travaux à FEMTO-ST, laissent place à de nombreuses perspectives.

Une perspective à court-terme concerne l'isolation de voies pour un dispositif multi-électrodes. Cette perspective lève une interrogation concernant l'appareil de routage. L'utilisation de la DEP s'avère contraignante pour l'étalonnage, et augmente les fuites de courant au niveau des composants internes de la carte. Envisager une méthode alternative d'étalonnage et s'affranchir totalement de la DEP semble, au vu des difficultés rencontrées via la dérive notamment, être une approche raisonnable. Egalement, des pistes d'amélioration peuvent être envisagées au niveau de l'estimateur utilisé. Les performances du EKF pourront être comparées à celles d'estimateurs comme le Uncented Kalman Filter (UKF) par exemple, en termes de précision et de robustesse. Des variantes, comme l'utilisation de gains adaptatifs, pourraient également apporter un gain de précision et de robustesse. Une autre étude méritant d'être approfondie concerne les réglages de

la plateforme. Notamment, l'appareil de mesure filtre le bruit sur une période d'échantillonnage. La période d'échantillonnage a donc un effet sur le niveau de bruit et le nombre d'échantillons. Ces facteurs doivent donc être considérés pour le choix de la période d'échantillonnage.

A plus long terme, le design et la configuration des électrodes (géométrie, distances,...) pourront être améliorés. Le design peut notamment être amélioré à l'aide d'un algorithme d'optimisation afin d'optimiser la sensibilité, la linéarité ou la plage de détection d'un capteur selon un ou plusieurs axes. L'observateur retenu pourra également être intégré dans une boucle de régulation pour le contrôle de la position de cellules. La puce développée pourra enfin être validée pour le cas applicatif du tri de cellules, en amenant une cellule d'intérêt en regard d'une autre de manière contrôlée pour tester leurs affinités biologiques.

Bibliographie

- [1] W. B. Coley, "The treatment of sarcoma with the mixed toxins of erysipelas and bacillus prodigiosus," *The Boston Medical and Surgical Journal*, vol. 158, no. 6, pp. 175–182, 1908.
- [2] E. Carswell, L. J. Old, R. Kassel, S. Green, N. Fiore, and B. Williamson, "An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 72, no. 9, pp. 3666–3670, 1975.
- [3] S. J. Oiseth and M. S. Aziz, "Cancer immunotherapy : a brief review of the history, possibilities, and challenges ahead," *J Cancer Metastasis Treat*, vol. 3, no. 10, pp. 250–61, 2017.
- [4] S. Stauffer, F. Nebioglu, and A. Helenius, "In vitro disassembly of influenza A virus capsids by gradient centrifugation," *Journal of visualized experiments : JoVE*, no. 109, 2016.
- [5] D. L. Brasaemle and N. E. Wolins, "Isolation of lipid droplets from cells by density gradient centrifugation," *Current protocols in cell biology*, vol. 72, no. 1, pp. 3–15, 2016.
- [6] [Online]. Available : <https://trigenotoul.com/ressources/etude-de-population/cytometrie-tri-cellulaire/>
- [7] [Online]. Available : <https://www.crdi.ie/ucd-flow-cytometry-summer-school-2016/>
- [8] [Online]. Available : https://fr.wikipedia.org/wiki/Cytometrie_en_flux
- [9] Z. Jia, Y. Liang, X. Xu, X. Li, Q. Liu, Y. Ou, L. Duan, W. Zhu, W. Lu, J. Xiong *et al.*, "Isolation and characterization of human mesenchymal stem cells derived from synovial fluid by magnetic-activated cell sorting (MACS)," *Cell biology international*, vol. 42, no. 3, pp. 262–271, 2018.
- [10] B. Kwak, J. Lee, D. Lee, K. Lee, O. Kwon, S. Kang, and Y. Kim, "Selective isolation of magnetic nanoparticle-mediated heterogeneity subpopulation of circulating tumor cells using magnetic gradient based microfluidic system," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 88, pp. 153–158, 2017.
- [11] B. A. Sutermeister and E. M. Darling, "Considerations for high-yield, high-throughput cell enrichment : fluorescence versus magnetic sorting," *Scientific reports*, vol. 9, no. 1, p. 227, 2019.
- [12] [Online]. Available : <https://www.akadeum.com/technology/ctc-enrichment/>
- [13] C.-H. Hsu, C. Chen, D. Irimia, and M. Toner, "Fast sorting of CD4+ T cells from whole blood using glass microbubbles," *Technology*, vol. 3, no. 01, pp. 38–44, 2015.

- [14] Y. Temiz, R. D. Lovchik, G. V. Kaigala, and E. Delamarche, "Lab-on-a-chip devices : How to close and plug the lab ? ," *Microelectronic Engineering*, vol. 132, pp. 156 – 175, 2015, micro and Nanofabrication Breakthroughs for Electronics, MEMS and Life Sciences. [Online]. Available : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167931714004456>
- [15] B. M. Maoz, A. Herland, O. Y. Henry, W. D. Leineweber, M. Yadid, J. Doyle, R. Mannix, V. J. Kujala, E. A. FitzGerald, K. K. Parker *et al.*, "Organs-on-chips with combined multi-electrode array and transepithelial electrical resistance measurement capabilities," *Lab on a Chip*, vol. 17, no. 13, pp. 2294–2302, 2017.
- [16] [Online]. Available : <https://www.cherrybiotech.com/scientific-note/gradients-generation-for-cell-biology-in-microfluidics>
- [17] M. Li, W. H. Li, J. Zhang, G. Alici, and W. Wen, "A review of microfabrication techniques and dielectrophoretic microdevices for particle manipulation and separation," *Journal of Physics D : Applied Physics*, vol. 47, no. 6, p. 063001, 2014. [Online]. Available : <http://stacks.iop.org/0022-3727/47/i=6/a=063001>
- [18] C.-W. Tsao and D. L. DeVoe, "Bonding of thermoplastic polymer microfluidics," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 6, no. 1, pp. 1–16, 2009.
- [19] P. Sajeesh and A. K. Sen, "Particle separation and sorting in microfluidic devices : a review," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 17, no. 1, pp. 1–52, 2014.
- [20] M. Kersaudy-Kerhoas, R. Dhariwal, and M. Desmulliez, "Recent advances in microparticle continuous separation," *IET Nanobiotechnology*, vol. 2, no. 1, pp. 1–13, 2008.
- [21] F. Lärmer and A. Urban, "Challenges, developments and applications of silicon deep reactive ion etching," *Microelectronic Engineering*, vol. 67, pp. 349–355, 2003.
- [22] M. T. Koesdjojo, Y. H. Tennico, and V. T. Remcho, "Fabrication of a microfluidic system for capillary electrophoresis using a two-stage embossing technique and solvent welding on poly (methyl methacrylate) with water as a sacrificial layer," *Analytical chemistry*, vol. 80, no. 7, pp. 2311–2318, 2008.
- [23] Y.-C. Hsu and T.-Y. Chen, "Applying Taguchi methods for solvent-assisted PMMA bonding technique for static and dynamic μ -TAS devices," *Biomedical Microdevices*, vol. 9, no. 4, pp. 513–522, 2007.
- [24] F. Dang, S. Shinohara, O. Tabata, Y. Yamaoka, M. Kurokawa, Y. Shinohara, M. Ishikawa, and Y. Baba, "Replica multichannel polymer chips with a network of sacrificial channels sealed by adhesive printing method," *Lab on a Chip*, vol. 5, no. 4, pp. 472–478, 2005.
- [25] C. Lu, L. J. Lee, and Y.-J. Juang, "Packaging of microfluidic chips via interstitial bonding technique," *Electrophoresis*, vol. 29, no. 7, pp. 1407–1414, 2008.
- [26] F.-C. Huang, Y.-F. Chen, and G.-B. Lee, "CE chips fabricated by injection molding and polyethylene/thermoplastic elastomer film packaging methods," *Electrophoresis*, vol. 28, no. 7, pp. 1130–1137, 2007.
- [27] B. Gray, D. Jaeggi, N. Mourlas, B. van Drieënhuizen, K. Williams, N. Maluf, and G. Kovacs, "Novel interconnection technologies for integrated microfluidic systems1 ," *Sensors and Actuators A : Physical*, vol. 77, no. 1, pp. 57 – 65, 1999. [Online]. Available : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924424799001855>

- [28] L. Ribetto, A. Homsy, and N. de Rooij, "Microfabricated all-around-electrode AC electroosmotic pump with simple design and increased velocity generation," in *25th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS)*. IEEE, 2012, pp. 1057–1060.
- [29] X. Wang, C. Liedert, R. Liedert, and I. Papautsky, "A disposable, roll-to-roll hot-embossed inertial microfluidic device for size-based sorting of microbeads and cells," *Lab on a Chip*, vol. 16, no. 10, pp. 1821–1830, 2016.
- [30] C.-H. Hsu, D. Di Carlo, C. Chen, D. Irimia, and M. Toner, "Microvortex for focusing, guiding and sorting of particles," *Lab on a Chip*, vol. 8, no. 12, pp. 2128–2134, 2008.
- [31] M. Islam, H. Brink, S. Blanche, C. DiPrete, T. Bongiorno, N. Stone, A. Liu, A. Philip, G. Wang, W. Lam *et al.*, "Microfluidic sorting of cells by viability based on differences in cell stiffness," *Scientific reports*, vol. 7, no. 1, p. 1997, 2017.
- [32] T. Morijiri, S. Sunahiro, M. Senaha, M. Yamada, and M. Seki, "Sedimentation pinched-flow fractionation for size-and density-based particle sorting in microchannels," *Microfluidics and nanofluidics*, vol. 11, no. 1, pp. 105–110, 2011.
- [33] L. R. Huang, E. C. Cox, R. H. Austin, and J. C. Sturm, "Continuous particle separation through deterministic lateral displacement," *Science*, vol. 304, no. 5673, pp. 987–990, 2004.
- [34] J. Beech, *Microfluidics Separation and Analysis of Biological Particles*. Lund University, 2011.
- [35] J. McGrath, M. Jimenez, and H. Bridle, "Deterministic lateral displacement for particle separation : a review," *Lab on a Chip*, vol. 14, no. 21, pp. 4139–4158, 2014.
- [36] S. H. Holm, J. P. Beech, M. P. Barrett, and J. O. Tegenfeldt, "Separation of parasites from human blood using deterministic lateral displacement," *Lab on a Chip*, vol. 11, no. 7, pp. 1326–1332, 2011.
- [37] S. C. Hur, N. K. Henderson-MacLennan, E. R. McCabe, and D. Di Carlo, "Deformability-based cell classification and enrichment using inertial microfluidics," *Lab on a Chip*, vol. 11, no. 5, pp. 912–920, 2011.
- [38] P. Paíé, T. Zandrini, R. Vázquez, R. Osellame, and F. Bragheri, "Particle Manipulation by Optical Forces in Microfluidic Devices," *Micromachines*, vol. 9, no. 5, p. 200, 2018.
- [39] A. Ashkin, "Optical trapping and manipulation of neutral particles using lasers," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 94, no. 10, pp. 4853–4860, 1997.
- [40] B. Schäfer, H. Gemeinhardt, and K. O. Greulich, "Direct Microscopic Observation of the Time Course of Single-Molecule DNA Restriction Reactions," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 40, no. 24, pp. 4663–4666, 2001.
- [41] R. Bulushev, "Nanocapillaries combined with optical tweezers as a single molecule technique for studying DNA-protein complexes," 2017.
- [42] M. Brandao, A. Fontes, M. Barjas-Castro, L. Barbosa, F. Costa, C. Cesar, and S. Saad, "Optical tweezers for measuring red blood cell elasticity : application to the study of drug response in sickle cell disease," *European journal of haematology*, vol. 70, no. 4, pp. 207–211, 2003.

- [43] N. R. Munce, J. Li, P. R. Herman, and L. D. Lilge, "Single-cell analysis on a microchip platform using optical tweezers and optical scissors," in *Microfluidics, BioMEMS, and Medical Microsystems*, vol. 4982. International Society for Optics and Photonics, 2003, pp. 28–37.
- [44] Y. Ogura, K. Kagawa, and J. Tanida, "Optical manipulation of microscopic objects by means of vertical-cavity surface-emitting laser array sources," *Applied Optics*, vol. 40, no. 30, pp. 5430–5435, 2001.
- [45] K. O. Greulich, "Manipulation of cells with laser microbeam scissors and optical tweezers : a review," *Reports on Progress in Physics*, vol. 80, no. 2, p. 026601, 2016.
- [46] M. H. Shabestari, A. Meijering, W. Roos, G. Wuite, and E. Peterman, "Chapter Four - Recent Advances in Biological Single-Molecule Applications of Optical Tweezers and Fluorescence Microscopy," in *Single-Molecule Enzymology : Nanomechanical Manipulation and Hybrid Methods*, ser. Methods in Enzymology, M. Spies and Y. R. Chemla, Eds. Academic Press, 2017, vol. 582, pp. 85 – 119. [Online]. Available : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687916303202>
- [47] P. H. Jones, O. M. Maragò, and G. Volpe, *Optical tweezers : Principles and applications*. Cambridge University Press, 2015.
- [48] P. Rodríguez-Sevilla, K. Prorok, A. Bednarkiewicz, M. I. Marqués, A. García-Martín, J. García Solé, P. Haro-González, and D. Jaque, "Optical forces at the nanoscale : size and electrostatic effects," *Nano letters*, vol. 18, no. 1, pp. 602–609, 2017.
- [49] C. Pacoret and S. Régnier, "Invited article : A review of haptic optical tweezers for an interactive microworld exploration," *Review of Scientific Instruments*, vol. 84, no. 8, p. 081301, 2013.
- [50] K. Dholakia, M. MacDonald, and G. Spalding, "Optical tweezers : the next generation," *Physics world*, vol. 15, no. 10, p. 31, 2002.
- [51] D. G. Grier and Y. Roichman, "Holographic optical trapping," *Applied optics*, vol. 45, no. 5, pp. 880–887, 2006.
- [52] A. van Reenen, A. M. de Jong, and M. W. Prins, "Accelerated Particle-Based Target Capture The Roles of Volume Transport and Near-Surface Alignment," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 117, no. 5, pp. 1210–1218, 2013.
- [53] A. van Reenen, A. M. de Jong, J. M. den Toonder, and M. W. Prins, "Integrated lab-on-chip biosensing systems based on magnetic particle actuation—a comprehensive review," *Lab on a Chip*, vol. 14, no. 12, pp. 1966–1986, 2014.
- [54] I. De Vlaminck and C. Dekker, "Recent advances in magnetic tweezers," *Annual review of biophysics*, vol. 41, pp. 453–472, 2012.
- [55] M. Dkhil, M. Kharboutly, A. Bolopion, S. Régnier, and M. Gauthier, "Closed-loop control of a magnetic particle at the air-liquid interface," *IEEE Transactions on Automation Science and Engineering*, no. 99, pp. 1–14, 2015.
- [56] W. Hu, G. Z. Lum, M. Mastrangeli, and M. Sitti, "Small-scale soft-bodied robot with multimodal locomotion," *Nature*, vol. 554, no. 7690, p. 81, 2018.
- [57] J. Zhang, M. Salehizadeh, and E. Diller, "Parallel Pick and Place Using Two Independent Untethered Mobile Magnetic Microgrippers," in *IEEE Int. Conf. Robot. Autom.*, 2018, pp. 1–6.

- [58] S. Tottori and B. J. Nelson, "Controlled Propulsion of Two-Dimensional Microswimmers in a Precessing Magnetic Field," *Small*, p. 1800722, 2018.
- [59] O. Cugat, G. Reyne, J. Delamare, and H. Rostaing, "Novel magnetic micro-actuators and systems (MAGMAS) using permanent magnets," *Sensors and Actuators A : Physical*, vol. 129, no. 1-2, pp. 265–269, 2006.
- [60] Z. Shi, B. Bélier, E. Martincic, J. Moulin, E. Lefeuvre, L. Petit, J. Terrien, C. Prella, and F. Lamarque, "Development of an elementary micromachined electromagnetic digital actuator for microdisplacements," in *Symposium on Design, Test, Integration and Packaging of MEMS/MOEMS (DTIP)*. IEEE, 2016, pp. 1–4.
- [61] M. Zborowski and J. J. Chalmers, "Rare cell separation and analysis by magnetic sorting," 2011.
- [62] I. Leibacher, P. Reichert, and J. Dual, "Microfluidic droplet handling by bulk acoustic wave (BAW) acoustophoresis," *Lab Chip*, vol. 15, pp. 2896–2905, 2015.
- [63] F. Petersson, L. berg, A.-M. Swärd-Nilsson, and T. Laurell, "Free flow acoustophoresis : microfluidic-based mode of particle and cell separation," *Analytical chemistry*, vol. 79, no. 14, pp. 5117–5123, 2007.
- [64] J. Nam, H. Lim, C. Kim, J. Yoon Kang, and S. Shin, "Density-dependent separation of encapsulated cells in a microfluidic channel by using a standing surface acoustic wave," *Biomicrofluidics*, vol. 6, no. 2, p. 024120, 2012.
- [65] C. Grenvall, C. Magnusson, H. Lilja, and T. Laurell, "Concurrent isolation of lymphocytes and granulocytes using prefocused free flow acoustophoresis," *Analytical chemistry*, vol. 87, no. 11, pp. 5596–5604, 2015.
- [66] S. Gupta, D. L. Feke, and I. Manas-Zloczower, "Fractionation of mixed particulate solids according to compressibility using ultrasonic standing wave fields," *Chemical Engineering Science*, vol. 50, no. 20, pp. 3275–3284, 1995.
- [67] T. Kennedy, M. Pluskal, R. Gilmanshin, and B. Lipkens, "Acoustophoresis mediated chromatography processing : Capture of proteins from cell cultures," *The Journal of the Acoustical Society of America*, vol. 141, no. 5, pp. 3505–3505, 2017.
- [68] M. Kharboutly, "Modélisation, réalisation et commande d'un système de micro-manipulation sans contact par diélectrophorèse," Ph.D. dissertation, Université de Franche-Comté, 2011.
- [69] M. Moschallski, M. Hausmann, A. Posch, A. Paulus, N. Kunz, T. T. Duong, B. Angres, K. Fuchsberger, H. Steuer, D. Stoll *et al.*, "MicroPrep : Chip-based dielectrophoretic purification of mitochondria," *Electrophoresis*, vol. 31, no. 15, pp. 2655–2663, 2010.
- [70] M. Shaker, L. Colella, F. Caselli, P. Bisegna, and P. Renaud, "An impedance-based flow microcytometer for single cell morphology discrimination," *Lab on a Chip*, vol. 14, pp. 2548–2555, 2014.
- [71] R. S. Thomas, H. Morgan, and N. G. Green, "Negative DEP traps for single cell immobilisation," *Lab on a Chip*, vol. 9, no. 11, pp. 1534–1540, 2009.
- [72] M. Kharboutly and M. Gauthier, "High speed closed loop control of a dielectrophoresis-based system," in *International Conference on Robotics and Automation (ICRA)*. IEEE, 2013, pp. 1446–1451.

- [73] N. Demierre, T. Braschler, P. Linderholm, U. Seger, H. Van Lintel, and P. Renaud, "Characterization and optimization of liquid electrodes for lateral dielectrophoresis," *Lab on a Chip*, vol. 7, no. 3, pp. 355–365, 2007.
- [74] B. Tasadduq, G. Wang, M. El Banani, W. Mao, W. Lam, A. Alexeev, and T. Sulchek, "Three-dimensional particle tracking in microfluidic channel flow using in and out of focus diffraction," *Flow Measurement and Instrumentation*, vol. 45, pp. 218–224, 2015.
- [75] S. J. Lee and S. Kim, "Advanced particle-based velocimetry techniques for microscale flows," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 6, no. 5, p. 577, 2009.
- [76] S. J. Williams, C. Park, and S. T. Wereley, "Advances and applications on microfluidic velocimetry techniques," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 8, no. 6, pp. 709–726, 2010.
- [77] C. Cierpka and C. Kähler, "Particle imaging techniques for volumetric three-component (3D3C) velocity measurements in microfluidics," *Journal of visualization*, vol. 15, no. 1, pp. 1–31, 2012.
- [78] C. Jiang and J. K. Mills, "Planar cell orientation control system using a rotating electric field," *IEEE/ASME Transactions on Mechatronics*, vol. 20, no. 5, pp. 2350–2358, 2015.
- [79] Y. Xu, X. Xie, Y. Duan, L. Wang, Z. Cheng, and J. Cheng, "A review of impedance measurements of whole cells," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 77, pp. 824 – 836, 2016. [Online]. Available : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566315304917>
- [80] T. Sun and H. Morgan, "Single-cell microfluidic impedance cytometry : a review," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 8, no. 4, pp. 423–443, 2010.
- [81] I. O. K'Owino and O. A. Sadik, "Impedance Spectroscopy : A Powerful Tool for Rapid Biomolecular Screening and Cell Culture Monitoring," *Electroanalysis*, vol. 17, no. 23, pp. 2101–2113, 2005.
- [82] H. Morgan, T. Sun, D. Holmes, S. Gawad, and N. G. Green, "Single cell dielectric spectroscopy," *Journal of Physics D : Applied Physics*, vol. 40, no. 1, p. 61, 2007. [Online]. Available : <http://stacks.iop.org/0022-3727/40/i=1/a=S10>
- [83] J. M. Garnett, "VII. Colours in metal glasses, in metallic films, and in metallic solutions.—II," *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A*, vol. 205, no. 387-401, pp. 237–288, 1906.
- [84] H. Fricke, "A Mathematical Treatment of the Electric Conductivity and Capacity of Disperse Systems I. The Electric Conductivity of a Suspension of Homogeneous Spheroids," *Phys. Rev.*, vol. 24, pp. 575–587, Nov 1924.
- [85] T. Sun, N. G. Green, and H. Morgan, "Analytical and numerical modeling methods for impedance analysis of single cells on-chip," *Nano*, vol. 03, no. 01, pp. 55–63, 2008.
- [86] H. Fricke and S. Morse, "The electric capacity of tumors of the breast," *The Journal of Cancer Research*, vol. 10, no. 3, pp. 340–376, 1926.
- [87] Q. Liu, J. Yu, L. Xiao, J. C. O. Tang, Y. Zhang, P. Wang, and M. Yang, "Impedance studies of bio-behavior and chemosensitivity of cancer cells by micro-electrode arrays," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 24, no. 5, pp. 1305–1310, 2009.

- [88] N. Haandbæk, S. C. Bürgel, F. Rudolf, F. Heer, and A. Hierlemann, "Characterization of single yeast cell phenotypes using microfluidic impedance cytometry and optical imaging," *ACS Sensors*, vol. 1, no. 8, pp. 1020–1027, 2016.
- [89] J. McGrath, C. Honrado, D. Spencer, B. Horton, H. Bridle, and H. Morgan, "Analysis of parasitic protozoa at the single-cell level using microfluidic impedance cytometry," *Scientific reports*, vol. 7, no. 1, p. 2601, 2017.
- [90] A. Rohani, J. H. Moore, J. A. Kashatus, H. Sesaki, D. F. Kashatus, and N. S. Swami, "Label-free quantification of intracellular mitochondrial dynamics using dielectrophoresis," *Analytical chemistry*, vol. 89, no. 11, pp. 5757–5764, 2017.
- [91] R. Esfandyarpour, M. J. DiDonato, Y. Yang, N. G. Durmus, J. S. Harris, and R. W. Davis, "Multifunctional, inexpensive, and reusable nanoparticle-printed biochip for cell manipulation and diagnosis," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, p. 201621318, 2017.
- [92] E. Rollo, E. Tenaglia, R. Genolet, E. Bianchi, A. Harari, G. Coukos, and C. Guiducci, "Label-free identification of activated T lymphocytes through tridimensional microsensors on chip," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 94, pp. 193–199, 2017.
- [93] H. Wang, N. Sobahi, and A. Han, "Impedance spectroscopy-based cell/particle position detection in microfluidic systems," *Lab on a Chip*, vol. 17, no. 7, pp. 1264–1269, 2017.
- [94] R. Reale, A. De Ninno, L. Businaro, P. Bisegna, and F. Caselli, "Electrical measurement of cross-sectional position of particles flowing through a microchannel," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 22, no. 4, p. 41, 2018.
- [95] M. Solsona, E. Y. Westerbeek, J. G. Bomer, W. Olthuis, and A. van den Berg, "Gradient in the electric field for particle position detection in microfluidic channels," *Lab on a Chip*, 2019.
- [96] R. Reale, A. De Ninno, L. Businaro, P. Bisegna, and F. Caselli, "A simple electrical approach to monitor dielectrophoretic focusing of particles flowing in a microchannel," *Electrophoresis*, 2019.
- [97] T. Sun, C. van Berkel, N. G. Green, and H. Morgan, "Digital signal processing methods for impedance microfluidic cytometry," *Microfluidics and nanofluidics*, vol. 6, no. 2, pp. 179–187, 2009.
- [98] J. Claudel, "Spectroscopie d'impédance électrique par biocapteur à micro-électrodes : application à la cytométrie de flux de cellules sanguines," Ph.D. dissertation, 2013, thèse de doctorat dirigée par Nadi, Mustapha et Elmazria, Omar Systèmes électroniques Université de Lorraine 2013. [Online]. Available : <http://www.theses.fr/2013LORR0169>
- [99] T. Sun, S. Tsuda, K.-P. Zauner, and H. Morgan, "On-chip electrical impedance tomography for imaging biological cells," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 25, no. 5, pp. 1109–1115, 2010.
- [100] T. J. Yorkey, J. G. Webster, and W. J. Tompkins, "Comparing reconstruction algorithms for electrical impedance tomography," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, no. 11, pp. 843–852, 1987.
- [101] F. Santosa and M. Vogelius, "A backprojection algorithm for electrical impedance imaging," *SIAM Journal on Applied Mathematics*, vol. 50, no. 1, pp. 216–243, 1990.

- [102] R. V. Kohn and A. McKenney, "Numerical implementation of a variational method for electrical impedance tomography," *Inverse Problems*, vol. 6, no. 3, p. 389, 1990.
- [103] A. Adler and R. Guardo, "Electrical impedance tomography : regularized imaging and contrast detection," *IEEE transactions on medical imaging*, vol. 15, no. 2, pp. 170–179, 1996.
- [104] J. P. Kaipio, V. Kolehmainen, E. Somersalo, and M. Vauhkonen, "Statistical inversion and Monte Carlo sampling methods in electrical impedance tomography," *Inverse problems*, vol. 16, no. 5, p. 1487, 2000.
- [105] J. L. Mueller, S. Siltanen, and D. Isaacson, "A direct reconstruction algorithm for electrical impedance tomography," *IEEE transactions on medical imaging*, vol. 21, no. 6, pp. 555–559, 2002.
- [106] M. Vauhkonen, P. A. Karjalainen, and J. P. Kaipio, "A Kalman filter approach to track fast impedance changes in electrical impedance tomography," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 45, no. 4, pp. 486–493, 1998.
- [107] D. Efimov and T. Raïssi, "Design of interval observers for uncertain dynamical systems," *Automation and Remote Control*, vol. 77, no. 2, pp. 191–225, 2016.
- [108] S. K. Spurgeon, "Sliding mode observers : a survey," *International Journal of Systems Science*, vol. 39, no. 8, pp. 751–764, 2008.
- [109] J. Chen, R. J. Patton, and H.-Y. Zhang, "Design of unknown input observers and robust fault detection filters," *International Journal of control*, vol. 63, no. 1, pp. 85–105, 1996.
- [110] D. Söffker, T.-J. Yu, and P. C. Müller, "State estimation of dynamical systems with nonlinearities by using proportional-integral observer," *International Journal of Systems Science*, vol. 26, no. 9, pp. 1571–1582, 1995.
- [111] B. Farhang-Boroujeny, *Adaptive filters : theory and applications*. John Wiley & Sons, 2013.
- [112] F. LeGland, "Filtrage particulaire," in *19° Colloque sur le traitement du signal et des images, FRA, 2003*. GRETSI, Groupe d'Etudes du Traitement du Signal et des Images, 2003.
- [113] D. Simon, *Optimal state estimation : Kalman, H infinity, and nonlinear approaches*. John Wiley & Sons, 2006.
- [114] G. Besançon, *Nonlinear observers and applications*. Springer, 2007, vol. 363.
- [115] B. Gaubert, A. Coman, G. Foret, F. Meleux, A. Ung, L. Rouil, A. Ionescu, Y. Candau, and M. Beekmann, "Regional scale ozone data assimilation using an ensemble Kalman filter and the CHIMERE chemical transport model," *Geoscientific Model Development*, vol. 7, no. 1, pp. 283–302, 2014.
- [116] S. D. Brown, "The Kalman filter in analytical chemistry," *Analytica Chimica Acta*, vol. 181, pp. 1–26, 1986.
- [117] Z. Zhu and H. Leung, "Adaptive blind equalization for chaotic communication systems using extended-Kalman filter," *IEEE Transactions on Circuits and Systems I : Fundamental Theory and Applications*, vol. 48, no. 8, pp. 979–989, 2001.
- [118] R. Lawrence and H. Kaufman, "The Kalman filter for the equalization of a digital communications channel," *IEEE Transactions on Communication Technology*, vol. 19, no. 6, pp. 1137–1141, 1971.

- [119] L. Arcese, M. Fruchard, and A. Ferreira, "Adaptive controller and observer for a magnetic microrobot," *Transactions on Robotics*, vol. 29, no. 4, pp. 1060–1067, 2013.
- [120] P.-C. Tuan, S.-C. Lee, and W.-T. Hou, "An efficient on-line thermal input estimation method using Kalman filter and recursive least square algorithm," *Inverse problems in engineering*, vol. 5, no. 4, pp. 309–333, 1997.
- [121] A. Averbuch, G. Liron, and B. Z. Bobrovsky, "Scene based non-uniformity correction in thermal images using Kalman filter," *Image and Vision Computing*, vol. 25, no. 6, pp. 833–851, 2007.
- [122] P. Bonnifait, P. Bouron, P. Crubillé, and D. Meizel, "Data fusion of four ABS sensors and GPS for an enhanced localization of car-like vehicles," in *International Conference on Robotics and Automation (ICRA)*, vol. 2. IEEE, 2001, pp. 1597–1602.
- [123] M. S. Grewal and A. P. Andrews, "Applications of Kalman filtering in aerospace 1960 to the present [historical perspectives]," *IEEE Control Systems*, vol. 30, no. 3, pp. 69–78, 2010.
- [124] S. Tao, V. Manolopoulos, S. Rodriguez Duenas, and A. Rusu, "Real-time urban traffic state estimation with A-GPS mobile phones as probes," *Journal of Transportation Technologies*, vol. 2, no. 1, pp. 22–31, 2012.
- [125] R. E. Kalman et al., "A new approach to linear filtering and prediction problems," *Journal of basic Engineering*, vol. 82, no. 1, pp. 35–45, 1960.
- [126] A. Radke and Z. Gao, "A survey of state and disturbance observers for practitioners," in *American Control Conference*, June 2006, p. 6.
- [127] G. A. Terejanu, "Extended Kalman filter tutorial," *Department of Computer Science and Engineering, University at Buffalo.*, 2008. [Online]. Available : <https://www.cse.sc.edu/~terejanu/files/tutorialEKF.pdf>
- [128] M. Saha, B. Goswami, and R. Ghosh, "Two novel costs for determining the tuning parameters of the Kalman Filter," *arXiv preprint arXiv :1110.3895*, 2011.
- [129] M. Saha, R. Ghosh, and B. Goswami, "Robustness and sensitivity metrics for tuning the extended Kalman filter," *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, vol. 63, no. 4, pp. 964–971, 2014.
- [130] R. D. Snyder and G. R. Saligari, "Initialization of the Kalman filter with partially diffuse initial conditions," *Journal of Time Series Analysis*, vol. 17, no. 4, pp. 409–424, 1996.
- [131] M. Linderöth, K. Soltesz, A. Robertsson, and R. Johansson, "Initialization of the Kalman filter without assumptions on the initial state," in *International Conference on Robotics and Automation (ICRA)*. IEEE, 2011, pp. 4992–4997.
- [132] N. Xiong and P. Svensson, "Multi-sensor management for information fusion : issues and approaches," *Information Fusion*, vol. 3, no. 2, pp. 163 – 186, 2002. [Online]. Available : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1566253502000556>
- [133] Y. Gao, E. Krakiwsky, M. Abousalem, and J. McLellan, "Comparison and analysis of centralized, decentralized, and federated filters," *Navigation*, vol. 40, no. 1, pp. 69–86, 1993.

- [134] P. J. Escamilla-Ambrosio and N. Mort, "Hybrid Kalman filter-fuzzy logic adaptive multisensor data fusion architectures," in *42nd Conference on Decision and Control*, vol. 5. IEEE, 2003, pp. 5215–5220.
- [135] N. Demierre, T. Braschler, R. Muller, and P. Renaud, "Focusing and continuous separation of cells in a microfluidic device using lateral dielectrophoresis," *Sensors and Actuators B : Chemical*, vol. 132, no. 2, pp. 388–396, 2008.
- [136] H. Yang, L. Shao, F. Zheng, L. Wang, and Z. Song, "Recent advances and trends in visual tracking : A review," *Neurocomputing*, vol. 74, no. 18, pp. 3823–3831, 2011.
- [137] Y. Feldman, E. Polygalov, I. Ermolina, Y. Polevaya, and B. Tsentsiper, "Electrode polarization correction in time domain dielectric spectroscopy," *Measurement Science and Technology*, vol. 12, no. 8, pp. 1355–1364, jul 2001.
- [138] J. Kang, J. Wen, S. H. Jayaram, A. Yu, and X. Wang, "Development of an equivalent circuit model for electrochemical double layer capacitors (EDLCs) with distinct electrolytes," *Electrochimica Acta*, vol. 115, pp. 587–598, 2014.
- [139] A. Castellanos, A. Ramos, A. Gonzalez, N. G. Green, and H. Morgan, "Electrohydrodynamics and dielectrophoresis in microsystems : scaling laws," *Journal of Physics D : Applied Physics*, vol. 36, no. 20, p. 2584, 2003.

Table des figures

1	Vue conceptuelle de trieurs de cellules pour l'analyse de cellules individuelles. A gauche, un trieur conventionnel exploitant la vision pour la perception. A droite, un trieur hautement multiplexé exploitant la perception par impédancemétrie.	2
1.1	Présentation d'un trieur FACS. (a) Schéma de principe : la lumière réémise (par diffusion ou fluorescence) permet de classer la population suivant plusieurs critères et de les trier. (b) Exemple d'une caractérisation de bactéries en océanographie à l'aide d'un trieur FACS.	6
1.2	Exemples de laboratoires sur puce (Lab-on-a-chip, LOC) : différentes couches superposées permettent de faire transiter du fluide et des échantillons dans un canal afin de les caractériser.	7
1.3	Deux procédés de fabrication d'électrodes coplanaires : (a) le lift-off et (b) la gravure ¹⁷	10
1.4	Principales techniques d'actionnement dans les LOCS ¹⁹	11
1.5	Illustration du tri de cellules par taille par DLD ³⁵	12
1.6	Séparation de parasites contenus dans du sang humain à l'aide du DLD ³⁶ . Les cellules sanguines (à gauche) ont un rayon effectif plus faible que les parasites (à droite), ce qui permet la purification du sang.	12
1.7	Présentation d'une pince optique. (a) Schéma de principe : un faisceau laser est focalisé au niveau de la particule à déplacer. (b) Origine physique : un gradient d'intensité lumineuse crée une force totale non nulle exercée sur la particule.	14
1.8	Deux vues d'un icosaèdre en rotation de sphères colloïdales créées avec des pinces optiques holographiques dynamiques ⁵¹	14
1.9	Capture de cibles par affinité dépendant des propriétés de surface réactives des particules magnétiques ⁵²	15
1.10	Petit robot à corps mous avec locomotion multimodale.	15
1.11	Schéma de principe illustrant la manipulation acoustophorétique de gouttelettes par onde stationnaire ultrasonique ⁶²	16
1.12	Illustration d'une suspension de particules passant sur un transducteur où les particules sont déplacées vers le centre du canal de séparation à une vitesse déterminée par leurs propriétés acoustiques ⁶³	16

1.13 Principe de l'actionnement par DEP ⁶⁸ . Lorsqu'une particule polarisable est soumise à un champ électrique, un dipôle se crée. Si de plus ce champ est non uniforme, des forces d'amplitudes différentes sont exercées sur le dipôle, résultant en une force non nulle.	17
1.14 Visuels de dispositifs LOCs exploitant la force de DEP.	18
2.1 Diagramme de Venn illustrant le recoupement des 3 grandes thématiques de l'étude.	24
2.2 Représentation d'une cellule pour la modélisation de son comportement électrique. .	25
2.3 Spectre de l'impédance d'un échantillon biologique avec les zones de dispersion ⁸⁵ . .	26
2.4 Photographie de réseaux de micro-électrodes (10 x 10 avec un diamètre de 80 μm) ⁸⁷ .	27
2.5 Histogramme de l'indice d'anisotropie des cellules en phase S et des cellules en phase M ⁷⁰	28
2.6 Principe de la détection de la position des particules / cellules dans le microcanal à l'aide d'électrodes non parallèles. ⁹³	28
2.7 Schéma montrant la conception d'un système de mesure d'impédance utilisé pour l'analyse d'une cellule. ⁹⁷	29
2.8 Tracé 3D de la variation du signal d'impédance différentielle en fonction de la position de la cellule et de la fréquence de la tension d'excitation ⁸⁵	29
2.9 Mise en évidence de la dépendance de l'impédance entre deux électrodes à la position d'une cellule ⁹⁸ . (a) Variation normée de l'impédance, lors du passage d'une cellule isolée pour différentes formes et positionnements d'électrodes. (b) Variation d'impédance au cours du temps lors du passage de particules à 100kHz, pour le signal brut et le signal après filtrage.	30
2.10 La tomographie d'impédance électrique sur puce ⁹⁹ . (a) Représentation schématique d'une puce pour la tomographie d'impédance électrique. (b) Présentation du « adjacent pair drive » utilisé en tomographie d'impédance électrique.	31
2.11 Tomographie d'impédance électrique sur puce. (a) Des images optiques de <i>Physarum polycephalum</i> sur le gel d'agar dans les puces de tomographie, (b) Des images reconstruites correspondantes. La cellule de <i>Physarum</i> est plus conductrice que le gel d'agar, et est représentée plus brillante (rouge) dans les images reconstruites. (c) Le bruit est éliminé par filtrage des régions de faible conductivité.	34
2.12 Structure d'un observateur d'état à boucle fermée et principe d'utilisation pour l'estimation d'un vecteur d'état.	36
3.1 Diagramme décrivant les points clés de développement de la plateforme expérimentale.	44
3.2 Image MEB (Microscope Electronique à Balayage) de microbilles (microParticles GmbH).	45
3.3 Photographie au microscope optique de microbilles injectées dans une puce à l'aide d'un liquide de transport. Les billes présentent une vitesse importante, ont une position longitudinale variable et peuvent éventuellement s'agglomérer ou sédimenter. . .	46

3.4	Schéma de principe illustrant la stratégie pour la détection en 1D. Plusieurs billes sont déplacées par le fluide et passent dans la zone de détection, détection se faisant selon l'axe du canal.	47
3.5	Simulation FEM à l'aide du logiciel Comsol de l'intensité du champ électrique dans le microcanal lorsqu'une bille isolante est présente alors que les électrodes de focalisation DEP sont activées. (a) Vue du dessus (b) Vue perpendiculaire à la section du canal.	48
3.6	Schéma de principe illustrant la stratégie pour la détection en 2D.	49
3.7	Principe d'isolement d'un objet.	50
3.8	Représentation schématique de la méthode d'actionnement utilisée pour le déplacement d'une bille dans le plan et le contrôle de son altitude.	51
3.9	Actionnement motorisé d'une microbille collée à l'extrémité d'une pointe pour la détection par impédancemétrie : illustrations et visuels.	52
3.10	Déplacement d'une bille dans une puce fluidique ouverte avec actionnement motorisé.	53
3.11	Simulations FEM de la variation d'impédance due à la présence d'une bille isolante entre deux électrodes en fonction de sa position longitudinale dans un canal microfluidique pour une géométrie d'électrodes carrée	54
3.12	Simulation de la réponse du capteur pour différentes géométries d'électrodes.	56
3.13	Simulation de (a) la variation de l'impédance et (b) la sensibilité du capteur induite par le passage d'une cellule de 8 μm de diamètre dans du PBS pour la géométrie d'électrode en étoile à différentes altitudes dans un canal de 20 μm de haut.	57
3.14	Visuel du dessus des électrodes de détection pour l'estimation 2D (simulation FEM). La multitude d'électrodes (8) permet le choix d'une ou plusieurs paires sensibles à la position de l'objet. (a) Champ de déplacement électrique pour une mesure peu influencée par l'objet. (b) Champ de déplacement électrique pour une mesure fortement influencée par l'objet.	57
3.15	Illustration des procédés de fabrication.	59
3.16	Illustration de l'orientation des flancs d'une résine inversible après gravure pour le cas d'un procédé de lift-off. Les flancs rentrants permettent de dissocier la matière déposée par région : zones gravées et zones non gravées de la résine.	60
3.17	Moule servant à la fabrication de 4 capots. Des pièces de PMMA et des goupilles sont assemblées pour former le moule dans lequel le PDMS sera injecté.	62
3.18	Visuel général d'une puce fluidique pour la détection de position.	62
3.19	Visuel des électrodes de centrage.	63
3.20	Photographie des électrodes barrière en utilisation. La force de DEP générée lors de l'application d'une tension alternative empêche un objet porté par le liquide de transport de les traverser.	63
3.21	Visuel du dessus des électrodes de détection pour l'estimation de position dans le plan. La multitude d'électrodes (8) permet le choix d'une ou plusieurs paires sensibles à la position de l'objet.	64

3.22 Photographie de la puce pour la détection 2D. Les électrodes autour de la zone de contrôle piègent un objet puis peuvent alternativement servir pour l'actionnement par DEP et la mesure d'impédance à l'aide du routeur de signaux. Les électrodes barrière ont pour fonction d'empêcher un autre objet de pénétrer dans la zone de contrôle.	65
3.23 Instrumentation pour l'actionnement dans une puce fluïdique. Les objets sont acheminés jusqu'à la zone de détection par actionnement fluïdique, où un contrôle plus fin peut être exercé par DEP en utilisant les électrodes en association avec l'instrumentation électrique (certaines images du schéma ont été empruntées à l'entreprise Elveflow, distributeur de régulateurs de pression).	66
3.24 Principe d'utilisation de l'impédancemètre associé au trans-impédance (image empruntée à l'entreprise Zurich Instruments, fournisseur du matériel).	67
3.25 Visuel d'une puce associé à une illustration de la détection pour l'étalonnage (le défaut d'orientation sur l'image présentée a été volontairement exagéré).	68
3.26 La puce et le World-to-Chip sous différentes perspectives. Différents éléments sont utilisés pour fixer la puce et la relier fluïdiquement et électriquement à la partie instrumentation.	69
3.27 Présentation du routeur de signaux. (a) Illustration du fonctionnement : les signaux d'actionnement et de mesure peuvent être envoyés vers les électrodes désirées de la puce. (b) Photographie du dispositif.	71
3.28 Diagramme descriptif de la chaîne d'acquisition des signaux de mesure d'impédance.	72
3.29 Illustration de la période d'acquisition d'un signal de mesure.	73
3.30 La plateforme expérimentale développée. (a) Visuel global de la plateforme : la puce et le World-to-Chip sont reliés à l'ensemble de l'instrumentation : caméra, microscope, régulateur de pression, générateurs de signaux, impédancemètre. (b) Zoom vers le World-to-Chip : la puce est reliée fluïdiquement et électriquement à l'instrumentation en vue d'effectuer les expérimentations.	74
4.1 Objectif de ce chapitre : construction d'un modèle permettant le calcul de l'impédance en fonction de la position de la bille.	75
4.2 Illustration du système étudié. On considère un milieu fluïdique purement résistif dans lequel se trouvent une bille d'impédance infinie se déplaçant dans la zone de mesure et N électrodes.	76
4.3 Schéma équivalent simplifié du système. L'impédance du milieu peut être modélisée par une résistance variable, dont la valeur dépend de la conductivité et de la position de la bille.	79
4.4 Illustration des variations temporelles d'impédance dues à la position de la bille pour plusieurs paires de mesures : impédance (à gauche) et variation relative d'impédance (à droite) à conductivité fixe.	80
4.5 Photographie illustrée de la puce. L'actionnement fluïdique guide les billes dans le canal et les électrodes de centrage par DEP les centrent dans la section du canal. La position des billes est détectée par des mesures d'impédance (dans la zone de détection).	81

4.6	Extraction en temps réel du signal d'intérêt. (a) Le signal mesuré $Z^1(p, \sigma)$ est filtré et seuillé en temps-réel pour obtenir la baseline $Z^{1,0}(\sigma)$ en appliquant une médiane glissante. (b) La variation relative de l'impédance est évaluée en temps-réel.	82
4.7	Distribution du bruit de mesure pour les expérimentations menées à l'EPFL sur le dispositif 1D. La moyenne du signal mesuré a été soustraite, et l'écart-type calculé est de $14,5 \Omega$. Amplitude du signal d'excitation : $1.6 V_{pp}$, vitesse d'échantillonnage : $10 \cdot 10^3$ Hz, constante de temps du filtre passe-bas du spectroscopie d'impédance : $70 \mu s$	83
4.8	Quantification de la dérive thermique au cours de l'expérimentation pour le cas 1D (un filtrage passe bas a été appliqué à la baseline dont cette courbe présente la dérivée). La présence de plusieurs sources d'actionnement, d'amplitudes élevées, crée une forte dérive thermique induisant une variation moyenne de l'impédance mesurée de $-29 \Omega \cdot s^{-1}$	84
4.9	Définition de la fonction ϕ_1^e , modèle de variation relative d'impédance en fonction de la position, par étalonnage. Les données fournies par l'impédancemètre et la caméra sont corrélées, puis filtrées et interpolées pour la définition de la fonction.	85
4.10	Visuel du dispositif de détection 2D.	86
4.11	Visuel de la plateforme avec zoom sur la puce et illustration des connections avec la partie instrumentation de mesure.	86
4.12	Distribution du bruit de mesure pour les expérimentations menées à FEMTO-ST sur le dispositif 2D. La moyenne du signal mesuré a été soustraite, et l'écart-type calculé est de $41,5 \Omega$. Amplitude du signal d'excitation : $1.6 V_{pp}$, vitesse d'échantillonnage : $10 \cdot 10^3$ Hz, constante de temps du filtre passe-bas du spectroscopie d'impédance : $70 \mu s$. L'écart-type du bruit montre une dépendance à la paire d'électrode utilisée.	87
4.13	Quantification de la baseline $Z^{4,0}(\sigma)$ au cours de l'expérimentation pour le cas 2D pour une mesure entre les électrodes 1 et 5.	88
4.14	(a) Quadrillage de la zone de détection en un nombre fini de points sur lesquels la bille est déplacée dans le but d'effectuer des mesures d'impédance pour l'étalonnage du capteur. (b) Illustration de la stratégie globale de récupération du modèle de variation d'impédance pour chaque paire d'électrode.	91
4.15	Représentation de la zone de détection pour les simulations FEM.	92
4.16	Simulation par éléments finis de la variation d'impédance en fonction de la position induite par la présence de la bille pour les 7 paires formées avec la première des 8 électrodes (paire $m=1$ à $m=7$). La différence de localisation des électrodes induit pour chaque capteur une sensibilité qui lui est propre.	93
4.16	Simulation par éléments finis de la variation d'impédance en fonction de la position induite par la présence de la bille pour les 7 paires formées avec la première des 8 électrodes (paire $m=1$ à $m=7$). La différence de localisation des électrodes induit pour chaque capteur une sensibilité qui lui est propre.	94
4.16	Simulation par éléments finis de la variation d'impédance en fonction de la position induite par la présence de la bille pour les 7 paires formées avec la première des 8 électrodes (paire $m=1$ à $m=7$). La différence de localisation des électrodes induit pour chaque capteur une sensibilité qui lui est propre.	95

5.1	Schéma de principe illustrant un système de détection par impédancemétrie composé de N électrodes.	98
5.2	Schéma simplifié illustrant le principe général de fonctionnement du filtre utilisé.	99
5.3	Dispositif de détection 1D. Les billes traversent la zone de détection, comprise entre les centres des électrodes en étoile, centrées dans la section du canal.	104
5.4	Descriptif de la méthode d'estimation de la position d'un objet par filtrage de Kalman. Le calcul en temps-réel de la baseline $Z^{1,0}$ permet d'en déduire la variation relative d'impédance due à la présence de l'objet $\phi_1(p_k)$, introduite dans le filtre de Kalman. Associée au modèle d'état, cette mesure permet au filtre d'estimer la position de l'objet.	105
5.5	Estimation en temps-réel de la position et de la vitesse en utilisant à la fois les retours d'impédance et de vision et les différences associées.	107
5.6	Modèle Comsol utilisé pour les simulations FEM.	108
5.7	Diagramme illustratif de la procédure suivie pour effectuer les simulations. Une trajectoire de référence de la bille est générée. Celle-ci est inconnue par l'estimateur. Un générateur de signaux vient ensuite appliquer des perturbations aux mesures et au modèle d'état, qui sont ensuite introduits dans le Filtre de Kalman. Enfin, le filtre retourne une estimation de la trajectoire.	110
5.8	(a) Trajectoire de référence, considérée comme étant la trajectoire réelle de la bille. (b) Vitesses de référence et biaisées de la bille selon les deux axes du plan. La vitesse biaisée est le modèle introduit dans le filtre. (c) Tracé de l'impédance bruitée pour la paire $m=1$ d'électrodes (en bleu) et des mesures de référence (en rouge).	112
5.9	Tracé des positions de référence (en bleu) et estimées par le filtre (en rouge) pour différents réglages du paramètre S_p de la matrice de covariance Q . Les tracés montrent une confiance décroissante dans le modèle dynamique, partant d'une confiance totale et terminant par une confiance très faible.	113
5.10	Performances du filtre pour $S_p = 5.10^{-8}$ m pour le cas de référence.	114
5.11	Temps de calcul en fonction du nombre de paires de mesure utilisées par le filtre.	114
5.12	Erreur en fonction du nombre de capteurs défectueux. L'erreur statique est de 100 Ω par rapport à la référence pour un capteur défectueux. (a) Évolution de la mesure bruitée en comparaison de la référence pour une paire d'électrodes. (b) Impact sur l'écart-type de l'erreur du nombre de capteurs défectueux pour la trajectoire de référence.	116
5.13	Quantification de l'erreur d'estimation en fonction de l'erreur statique de modèle appliquée sur chaque capteur. (a) Ecart-type de l'erreur S_e en fonction de l'erreur de modèle e_Z . (b)→(e) Tracé de la trajectoire pour $e_Z = 10, 50, 75$ et 190Ω . Comme précédemment, la trajectoire de référence est représentée en bleu et l'estimation en rouge.	117
5.14	Évolution des mesures dans un milieu à conductivité variable. (a) Mise en évidence de la variation de conductivité. (b) Evolution de l'impédance bruitée au cours du temps pour une paire d'électrodes adjacentes.	117

5.15 Estimation de position pour le cas à conductivité variable. (a) Superposition de l'estimation de position à la position de référence pour une trajectoire en spirale. (b) Ellipsoïde de confiance associée. (c) , (d) Erreur d'estimation de position et de conductivité calculée à partir de l'écart par rapport à la trajectoire de référence.	119
5.16 Illustration des périodes caractéristiques pour l'acquisition des mesures. (a) : Cas approximé du EKF pour lequel les mesures sont acquises et traitées simultanément. (b) : Cas du SEKF où la séquentialité des mesures est prise en compte.	120
5.17 Comparatif des performances du EKF et du SEKF pour différentes périodes d'échantillonnage lorsque le bruit de mesure est élevé.	121
5.18 Comparatif des performances du EKF et du SEKF pour différentes périodes d'échantillonnage lorsque le bruit de mesure est modéré.	122
B.1 Circuit électronique de la carte de routage : modèle PSpice	154
B.2 Circuit électronique de la partie inférieure de la carte de routage : plans et visuel. . .	155
B.2 Circuit électronique de la partie inférieure de la carte de routage : plans et visuel. . .	156
B.3 Circuit électronique de la partie supérieure de la carte de routage : plans et visuel. .	156
B.3 Circuit électronique de la partie supérieure de la carte de routage : plans et visuel. .	157
B.4 Circuit électronique de la partie affichage et alimentation de la carte de routage : plans	158
B.5 Carte de routage : liste des composants.	159
B.5 Carte de routage : liste des composants.	160
C.1 Modélisation des transferts de chaleur dans un canal microfluidique sous l'action d'une tension électrique en son centre.	162
C.2 (a) Elévation de température le long de l'axe d'un canal en régime établi et (b) Constante de temps du système, pour différentes valeurs de h sous 1V de tension d'excitation.	163
C.3 Simulation FEM de la variation de température par effet Joule dans le dispositif 2D. (a) Répartition de la température dans un bassin microfluidique. (b) Temps d'établissement de la moyenne de température dans le canal.	164

Liste des tables

1.1	Principales caractéristiques des actionneurs dans les LOCs.	19
2.1	Résumé des principaux paramètres intervenant dans l'observation d'état.	35
3.1	Comparaison des performances de différentes géométries d'électrodes pour la détection de position basée sur des mesures d'impédance pour le cas 1D. Le critère de plage de détection (1 ^{er} critère) ne tient pas compte des zones ponctuelles sans sensibilité. La sensibilité moyenne correspond à la moyenne de la valeur absolue de la sensibilité entre le centre des deux électrodes de mesure.	55
4.1	Compte-rendu des simulations effectuées concernant l'influence relative des deux variables sur l'impédance du système.	78
5.1	Récapitulatif des notations pour le cas 1D.	104
5.2	Récapitulatif des notations pour le cas 2D.	109
A.1	Procédé de lift-off pour la fabrication des électrodes.	150
A.1	Procédé de lift-off pour la fabrication des électrodes.	151
A.2	Photolithographie simple pour la fabrication des canaux.	152

Annexe A

Procédés de fabrication complets des puces

Ci-dessous sont détaillés les procédés de fabrication brièvement décrits dans le chapitre de développement. Les illustrations ne sont pas à l'échelle.

A.1/ Fabrication des électrodes : lift-off

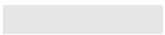
Numéro d'étape	Nom de l'étape	Moyens	Paramètres	Notes et résultats	Visuel
1	Nettoyage du wafer	Solution piranha		Surface propre (adhérence améliorée)	
2	Enduction promoteur d'adhérence	TI Prime	3000 tr/min, 20 s	Pour une adhérence améliorée avec la résine	
3	Recuit	Plaque chauffante fermée	120°C, 2 min	Promoteur solidifié	
4	Enduction résine sacrificielle	AZ5214	4000 tr/min, 30 s		
5	Recuit	Plaque chauffante fermée	120°C, 2 min	Résine solidifiée	
6	Exposition UV à travers le photomasque	Insolateur	60 mJ	Polymérisation amorcée	
7	Recuit	Plaque chauffante fermée	120°C, 50 s	Polymérisation terminée	
8	Exposition UV totale	Insolateur	300 mJ	Inversion de la résine	
9	Développement		AZ 351B ou AZ 726	Résine sélectivement retirée	
10	Nettoyage	Bain eau déionisée + séchage			
11	Dépôt de titane (Ti)	Pulvérisation cathodique	20 nm minimum	Couche d'adhérence déposée	
12	Dépôt de platine (Pt)	Pulvérisation cathodique	120 nm	Métal conducteur déposé	

TABLE A.1 Procédé de lift-off pour la fabrication des électrodes.

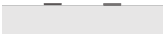
13	Retrait résine sacrificielle	Bain d'acétone		Procédé terminé	
----	------------------------------	----------------	--	-----------------	---

TABLE A.1 Procédé de lift-off pour la fabrication des électrodes.

A.2/ Fabrication des canaux : photolithographie simple

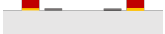
Numéro d'étape	Nom de l'étape	Moyens	Paramètres	Notes et résultats	Visuel
1	Nettoyage du wafer	Solution piranha		Surface propre (adhérence améliorée)	
2	Enduction promoteur d'adhérence	TI Prime	3000 tr/min, 20 s	Pour une adhérence améliorée avec la résine	
3	Recuit	Plaque chauffante fermée	120°C, 2 min	Promoteur solidifié	
4	Enduction résine	SU8 2025	4400 tr/min, 30s	Résine déposée, 20 µm	
5	Recuit	Plaque chauffante fermée	65 °C → 95 °C, 10 min ; 95 °C, 10 min ; 95 °C → 65 °C, 10 min	Résine solidifiée	
6	Exposition UV à travers le photomasque	Insolateur/ aligneur	200 mJ (270 mJ + masque spécial SU8)	Polymérisation amorcée	
7	Recuit	Plaque chauffante fermée	65 °C → 95 °C, 25 min ; 95 °C, 5 min ; 95 °C → 65 °C, 10 min	Polymérisation terminée, quelques craquelures, non critiques	
8	Développement	PM Acetate		Résine sélectivement retirée	
9	Nettoyage	Bain eau déionisée + séchage + plasma O ₂			

TABLE A.2 Photolithographie simple pour la fabrication des canaux.

Annexe B

Plans de la carte de routage HF2MUX

Dans cette partie, les détails techniques concernant la carte destinée au routage des signaux pour la plateforme sont donnés. Sur la Figure B.1, la modélisation sous le logiciel PSpice du comportement de la carte est donné. Ce modèle sert notamment à s'assurer que la carte aura le comportement souhaité pour la bascule des voies. Les plans associés à des visuels des parties inférieure et supérieure de la carte une fois réalisée sont donnés respectivement Figure B.2 et Figure B.3. Les schémas de la partie alimentation et affichage sont donnés Figure B.4. Enfin, la liste des composants de cette carte est donnée Figure B.5. L'ensemble des plans a été produit par François Marionnet, ingénieur au laboratoire FEMTO-ST.

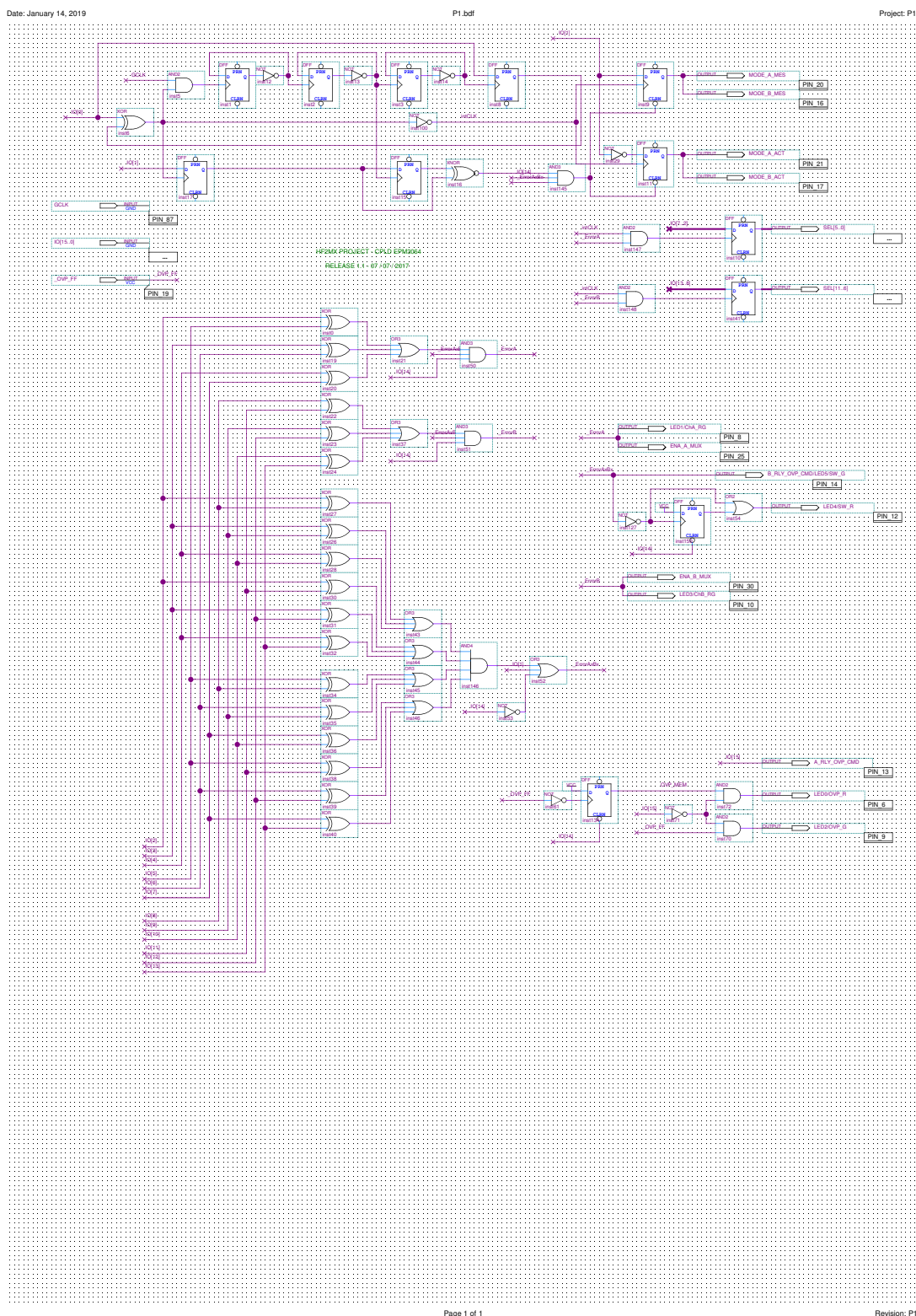
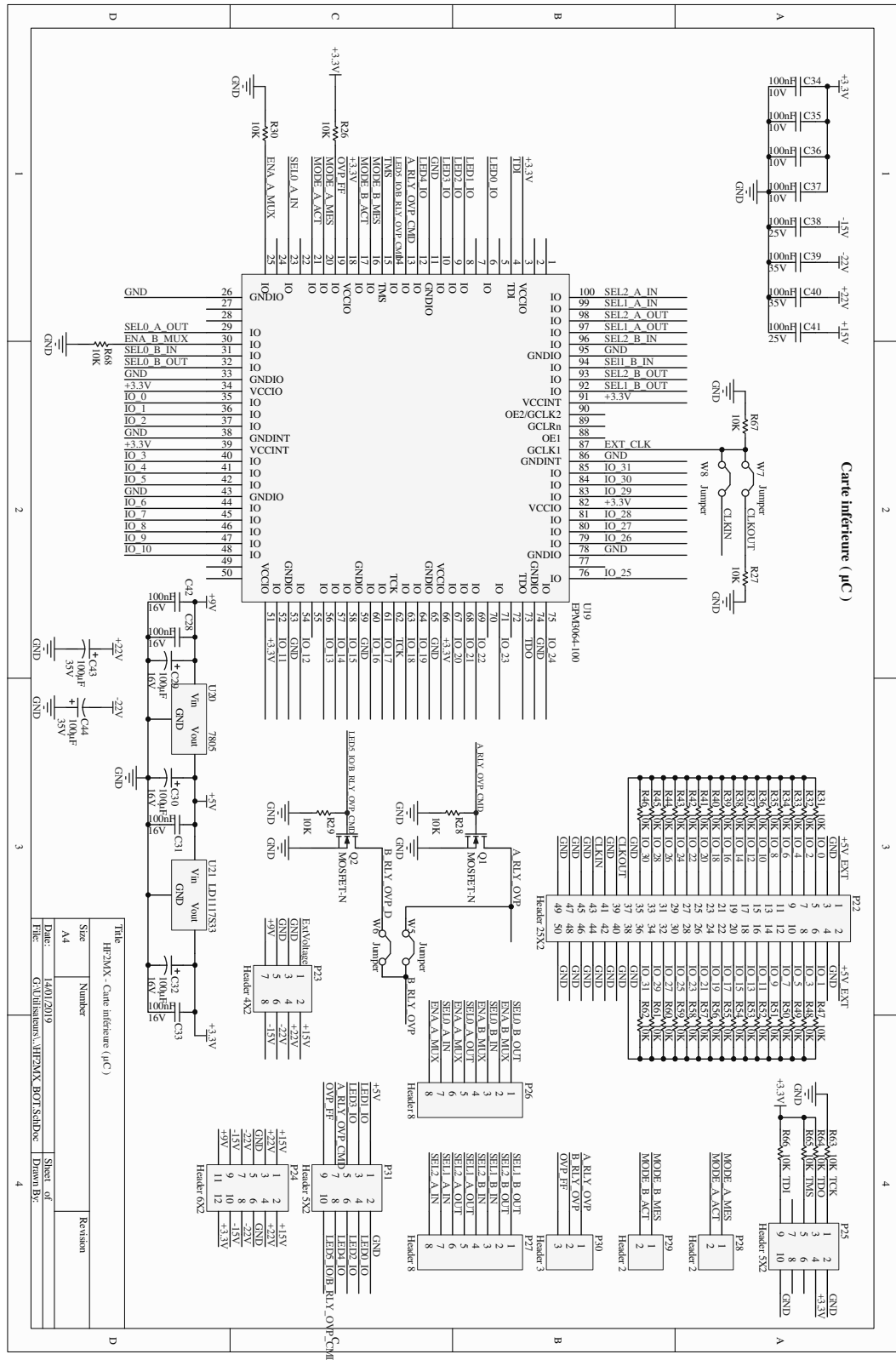
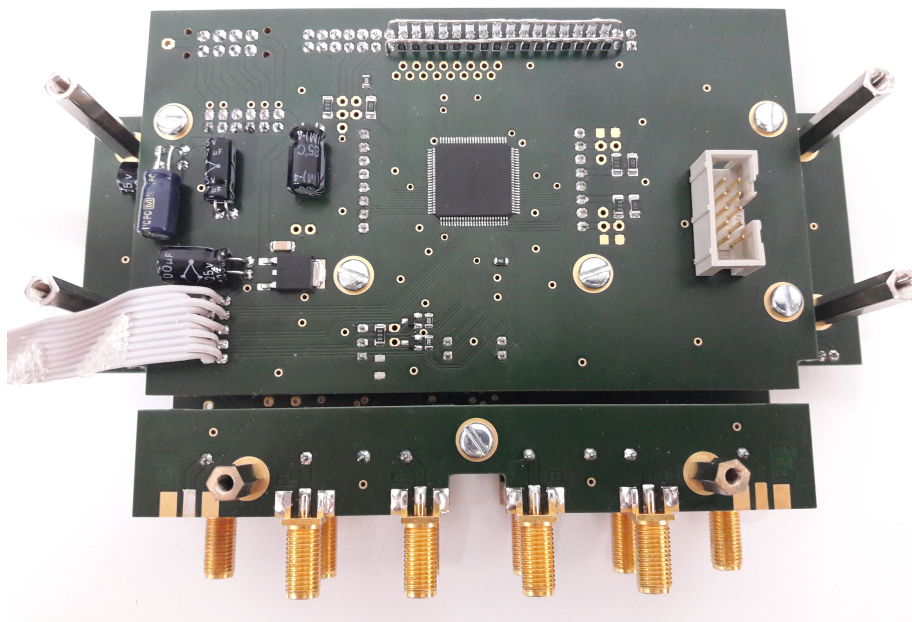


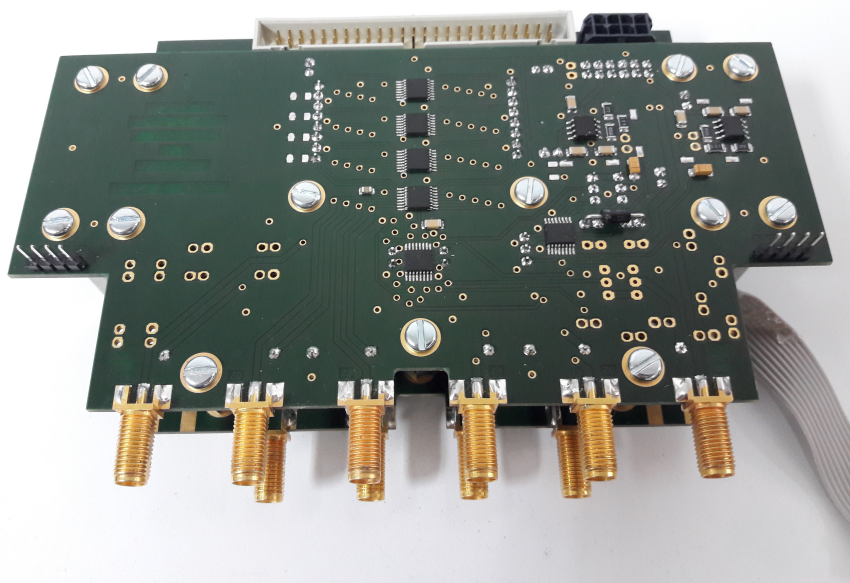
FIGURE B.1 Circuit électronique de la carte de routage : modèle PSpice





(b) Visuel.

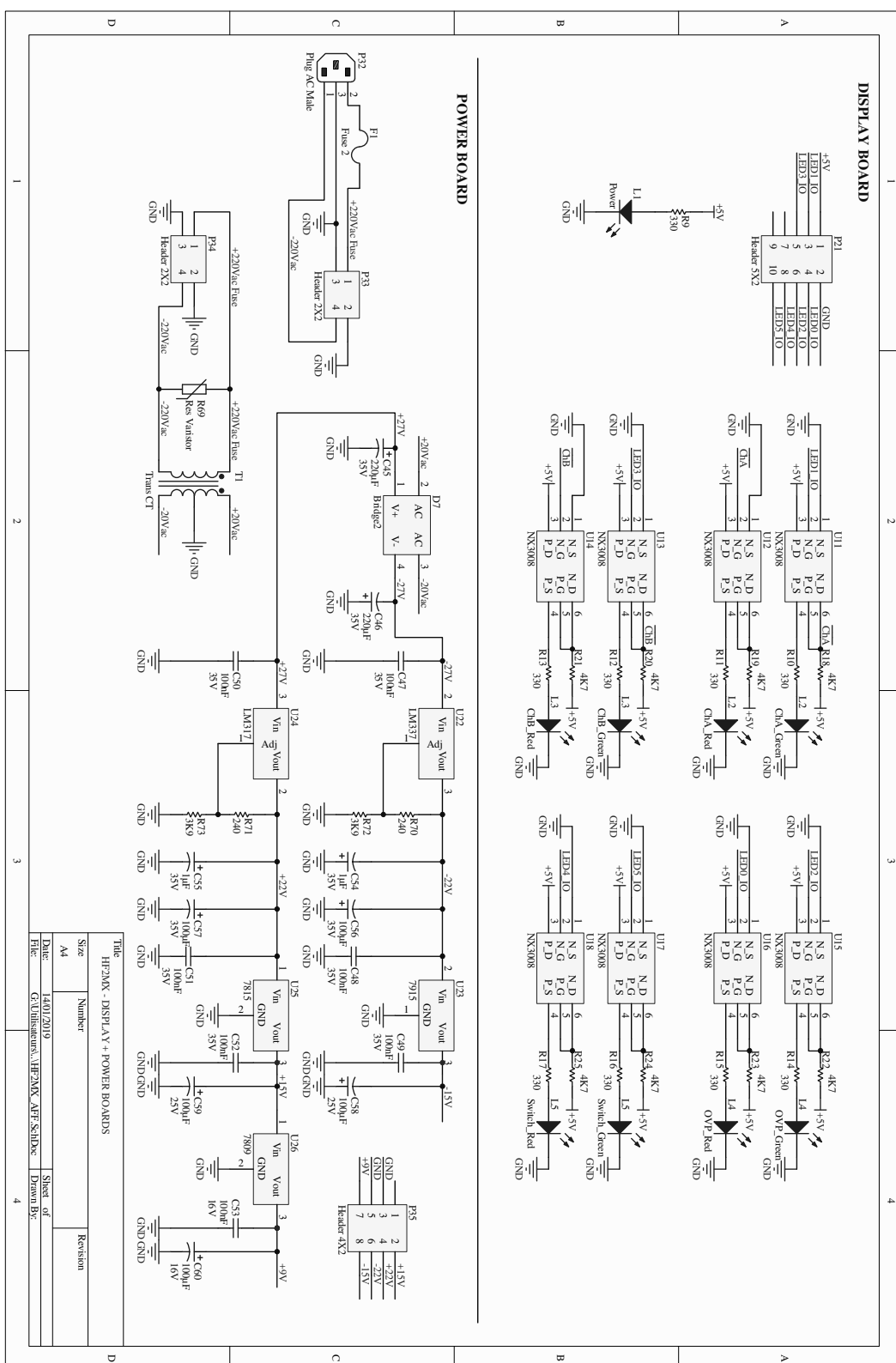
FIGURE B.2 Circuit électronique de la partie inférieure de la carte de routage : plans et visuel.



(a) Visuel.

FIGURE B.3 Circuit électronique de la partie supérieure de la carte de routage : plans et visuel.

FIGURE B.3 Circuit électronique de la partie supérieure de la carte de routage : plans et visuel.



Carte TOP		
	U1, U2	ADG5412 : 4 Commutateurs SPST-NO
	U3 à U6	ADG5408 : 4 commutateurs 1 vers 8
	U7	ADG5462F : 4 x protection contre surtensions
	U8	LM337 : Régulateur de tension négative ajustable
	U9	LM317 : Régulateur de tension positive ajustable
	U10	7812 : Régulateur de tension +12V 0,5A CMS
	W1 à W4	Jumpers CMS 1206
	K1, K2	Relais 12V DPDT (ex NEC EC2-12NU)
	D1 à D6	Diode 1N4002
	R1 à R4	Résistance 10 K Ω CMS 1206
	R5, R6	Résistance 2,7 K Ω CMS 1206
	R7, R8	Résistance 240 Ω CMS 1206
	P1, P2	Connecteur mâle 1 rangée x 8 contacts pas 2,54 mm
	P3, P4	Connecteur mâle 1 rangée x 2 contacts pas 2,54 mm
	P5	Connecteur mâle 1 rangée x 3 contacts pas 2,54 mm
	P6,P7	Connecteur mâle 1 rangée x 4 contacts pas 2,54 mm
	P8 à P19	Connecteur SMA - Embase
	P20	Connecteur mâle 2 rangées x 6 contacts pas 2,54 mm
	C1 à C9	Condensateur céramique 100 nF 50V CMS 0805
	C10 à C20	Condensateur céramique 100 nF 50V CMS 1206
	C21, C22	Condensateur tantale 1 μ F CMS 16V
	C23, C24	Condensateur électrochimique 100 μ F 25V
	C25	Condensateur électrochimique 22 μ F 25V
	C26, C27	Condensateur électrochimique 100 μ F 35V
Carte Bottom		
	P22	Connecteur mâle 2 rangées x 25 contacts pas 2,54 mm
	P23	Connecteur femelle 2 rangées x 4 contacts pas 2,54 mm
	P24	Connecteur femelle 2 rangées x 6 contacts pas 2,54 mm
	P25	Connecteur femelle 2 rangées x 5 contacts pas 2,54 mm
	P26, P27	Connecteur femelle 1 rangée x 8 contacts pas 2,54 mm
	P28, P29	Connecteur femelle 1 rangée x 2 contacts pas 2,54 mm
	P30	Connecteur femelle 1 rangée x 3 contacts pas 2,54 mm
	P31	Connecteur femelle 2 rangées x 5 contacts pas 2,54 mm
	U19	CPLD EPM3064-100
	U20	Régulateur de tension 7805 CMS 1A
	U21	Régulateur de tension LD1117S33 CMS 0,5A
	W5 à W7	Jumper connecteur mâle 1 rangée x 2 contacts pas 2,54 mm
	R26 à R28	Résistance 10 K Ω CMS 0805
	R29 à R68	Résistance 10 K Ω CMS 1206
	Q1, Q2	Transistor MOSFET N - NX7002AKW
	C34 à C37	Condensateur céramique 100 nF 50V CMS 0805
	C28, C31, C3	Condensateur céramique 100 nF 50V CMS 1206
	C43, C44	Condensateur électrochimique 100 μ F 35V

FIGURE B.5 Carte de routage : liste des composants.

Carte affichage		
	L1 à L5	Led bicolore rouge / vert 3mm à cathode commune
	U11 à U18	NX 3008 - Transistors MOSFET N et P - CMS
	P21	Connecteur 5 x 2 pas 2,54mm CMS
	R9 à R17	Résistance 330 Ω CMS 1206
	R18 à R25	Résistance 4,7 K Ω CMS 0805

Carte alimentation		
	P32	Connecteur secteur avec support fusible pour panneau
	P33	Connecteur Molex Micro-Fit 3.0 - 4 contacts femelle
	P34	Embase Molex 4 contacts mâle
	P35	Embase Molex 8 contacts mâle
	F1	Fusible 220V 100mA
	R69	Varistance 250V 40A (ex : V250LA40AP)
	R70, R71	Résistance 240 Ω CMS 1206
	R72, R73	Résistance 3,9 K Ω CMS 1206
	T1	Transformateur 1x220V / 2x20Veff 60VA
	C45, C46	Condensateur électrochimique 220 μ F 35V
	C47 à C53	Condensateur céramique 100 nF 50V CMS 1206
	C54, C55	Condensateur tantale 1 μ F CMS 35V
	C56, C57	Condensateur électrochimique 100 μ F 35V
	C58, C59	Condensateur électrochimique 100 μ F 25V
	C60	Condensateur électrochimique 100 μ F 16V
	D7	Pont redresseur 400V 2A (ex : KBP204G)

FIGURE B.5 Carte de routage : liste des composants.

Annexe C

Influence de l'actionnement

La présence de sels est nécessaire dans les dispositifs LOC qui font l'objet de ces travaux. Ils agissent à la fois comme nutriments lorsque des échantillons biologiques sont introduits, mais servent également d'électrolyte, et sont par conséquent indispensables pour la mesure d'impédance. A l'inverse, lorsqu'un actionnement par DEP est présent, ces sels dégradent les performances du système en raison d'un échauffement par effet Joule, et à partir d'un certain seuil en raison de la création d'électrolyse. Les ordres de grandeur des effets de l'application d'un actionnement sont décrits Annexe C.1, et des simulations mettant en évidence les constantes caractéristiques pour le dispositif 2D de manière plus précise sont décrites Annexe C.2.

C.1/ Ordres de grandeur

Les différents actionneurs utilisés dans les LOCs sont sources de dissipation d'énergie qui se traduit par un échauffement du liquide de transport, modifiant *de facto* sa conductivité. Mettre en mouvement le liquide de transport crée des frottements contre les parois qui sont à l'origine de cet échauffement. Lors de l'application d'une force de DEP, la forte conductivité des milieux salins utilisés pour les mesures d'impédance diminue l'impédance du milieu et donc favorise la dissipation de chaleur par effet Joule pour une tension d'actionnement donnée. Castellanos¹³⁹ propose un document très complet décrivant entre autres choses les lois d'échelle en ce qui concerne l'élévation de température dans une puce fluide sous l'action d'une tension électrique.

Afin de donner un ordre de grandeur de l'influence de la DEP, on prend ici pour exemple un canal microfluidique de section constante (longueur L , supposée infinie, largeur w , épaisseur e) dans lequel on applique en continu une tension en son centre, comme présenté Figure C.1.

Un bilan énergétique est obtenu par application, sur une tranche longitudinale du canal, du 1^{er} principe de la thermodynamique :

$$\phi_x = \phi_{x+dx} + \phi_c + \phi_{st} \quad (C.1)$$

Avec :

où ϕ_x est le flux de chaleur entrant, ϕ_c l'échange avec les parois par convection, ϕ_{st} le stockage d'énergie et ϕ_{x+dx} le flux sortant d'une tranche du canal comprise entre x et $x + dx$. λ représente la conductivité thermique du milieu, ρ sa masse volumique, c sa chaleur spécifique, S_{ext} la surface en contact avec les parois du canal, S_{int} la section du canal, $V = S_{int}dx$ le volume de la tranche étudiée et h coefficient de transfert de chaleur par convection moyen.

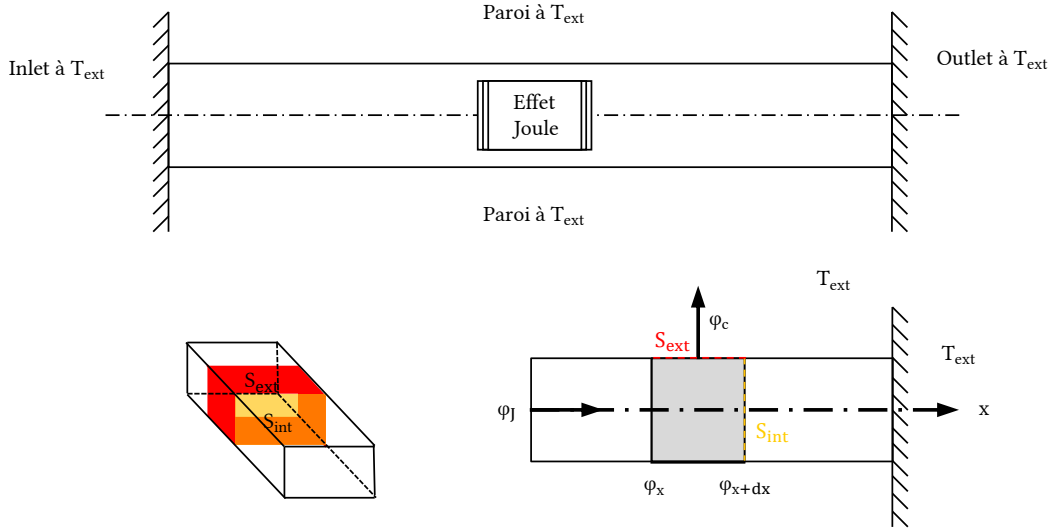


FIGURE C.1 Modélisation des transferts de chaleur dans un canal microfluidique sous l'action d'une tension électrique en son centre.

La solution de l'équation aux dérivées partielles associées aux conditions aux limites, donnant la variation de température θ est la suivante :

$$\theta(x, p) = \frac{U^2}{2RpS_{int}\lambda(\omega^2 + \frac{p}{a})^{1/2}} e^{-(\omega^2 + \frac{p}{a})^{1/2}x} \quad (C.2)$$

L'équation dans le domaine de Laplace étant difficile à ramener analytiquement dans le domaine temporel, on utilisera un algorithme numérique. Dans ce type de système, la seule variable de commande est la tension U . Le gain en température varie selon cette tension au carré. L'objectif est maintenant de mettre en évidence un changement de température suite à un actionnement par diélectrophorèse, et d'en identifier les caractéristiques. Les paramètres physiques intervenant dans l'équation sont tous bien connus, à l'exception du coefficient de transfert de chaleur par convection moyen h . Celui-ci dépend de la capacité des différents matériaux à l'interface solide/liquide (verre, PDMS, SU8) à diffuser par convection la chaleur. La littérature « classique » énonce que ce paramètre varie entre 100 et 1000 $W.m^{-2}.K^{-1}$.

Il est intéressant de connaître la distance d'action sur la conductivité d'une tension d'actionnement ou de mesure. La formule donnant la variation de température le long du canal en régime établi est la suivante :

$$\theta(x) = \frac{U^2}{2RS_{int}\lambda\omega} e^{-\omega x} \quad (C.3)$$

Les courbes présentées Figure C.2a montrent que la distance sur laquelle la conductivité a notablement changé est de quelques dizaines de micromètres, pour h grand, à quelques centaines de micromètres, pour h petit. Il est important de rappeler ici une l'hypothèse de départ : celle d'une source de chaleur ponctuelle. Dans la réalité, elle est répartie sur plusieurs dizaines de micromètres, et donc du même ordre de grandeur que la distance d'action. Les résultats présentés ne

ϕ_x	Flux de chaleur transmis par conduction à l'abscisse x	$\phi_x = - \left(\lambda S_{int} \frac{\partial T}{\partial x} \right)_x$
ϕ_{x+dx}	Flux de chaleur transmis par conduction à l'abscisse $x+dx$	$\phi_{x+dx} = - \left(\lambda S_{int} \frac{\partial T}{\partial x} \right)_{x+dx}$
ϕ_c	Flux de chaleur transmis par convection à la périphérie du canal entre x et $x+dx$	$\phi_c = h S_{ext} (T(x) - T_{ext})$
ϕ_{st}	Flux de chaleur stocké	$\phi_{st} = \rho V c \frac{\partial T}{\partial t}$

sont donc intéressants que dans la mesure où ils donnent un ordre de grandeur des perturbations sur la conductivité de l'application d'une tension.

On étudie également la réponse temporelle pour différentes valeurs de h au point d'application supposé de la tension de commande, c'est à dire au centre du canal. Les temps d'établissement sont de l'ordre de la milliseconde à la dizaine de milliseconde, et que le gain en température est d'autant plus fort que h est faible. On donne la valeur des constantes de temps pour différentes valeurs de h Figure C.2b.

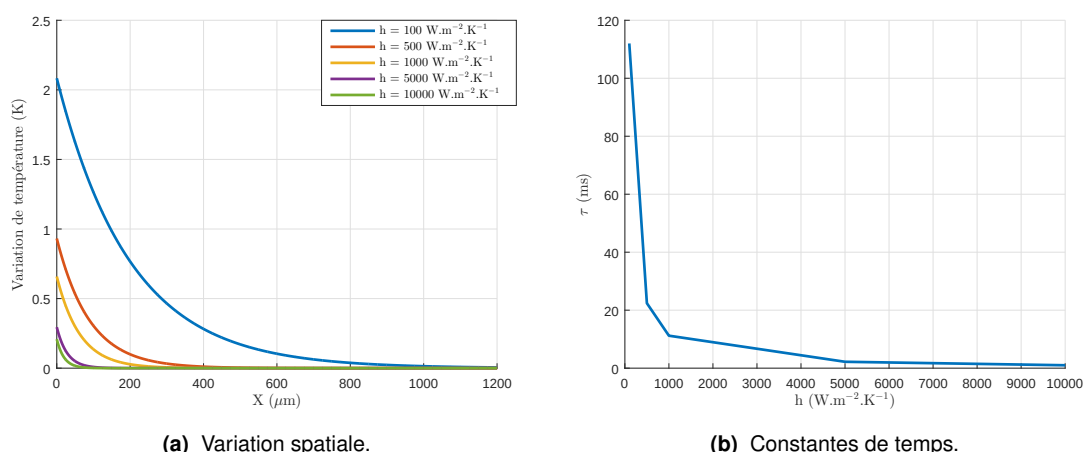


FIGURE C.2 (a) Elévation de température le long de l'axe d'un canal en régime établi et (b) Constante de temps du système, pour différentes valeurs de h sous 1V de tension d'excitation.

Ces calculs ne sont également valables qu'en dessous d'une tension de 1V. Au-delà, une proportion non négligeable de l'énergie est consommée par électrolyse de l'eau.

C.2/ Application au dispositif 2D

La Figure C.3 présente une simulation FEM de la température en régime établi dans un canal modélisant le dispositif de détection 2D. La conductivité initiale est de 1 S/m, et une tension de $5 V_{RMS}$ est appliquée sur deux électrodes en opposition. La température de l'entrée et de la sortie est fixée à 293 K, tout comme la température extérieure, avec un coefficient de transfert convectif de $500 \text{ W}/(\text{m}^2\cdot\text{K})$.

On peut en premier lieu observer que la répartition de température, et donc de conductivité n'est pas homogène dans la zone de détection. On peut également y constater une forte élévation locale de température, de moyenne proche des 19 K, avec des maximum locaux avoisinant les 22 K.

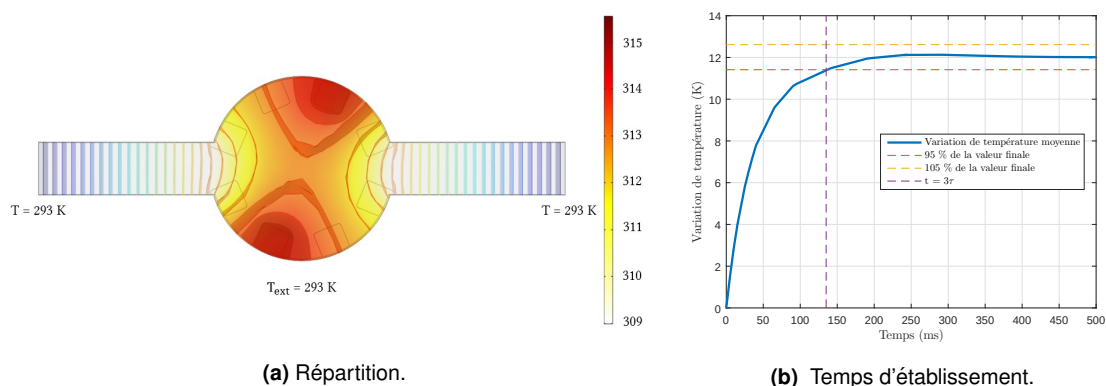


FIGURE C.3 Simulation FEM de la variation de température par effet Joule dans le dispositif 2D. **(a)** Répartition de la température dans un bassin microfluidique. **(b)** Temps d'établissement de la moyenne de température dans le canal.

En conclusion, l'application d'une force de DEP dans la zone de détection peut significativement perturber la mesure, et le modèle développé n'est pas valide si une tension d'actionnement est appliquée proche de la zone de mesure. Le temps d'établissement étant toutefois faible (de l'ordre de la centaine de millisecondes) en comparaison de la vitesse de sédimentation d'objets d'étalonnage en polystyrène, il est possible pour l'étalonnage de contourner ce problème en positionnant l'objet par DEP puis en attendant que le système soit refroidi pour effectuer les mesures. Ce constat met également en évidence l'antinomie entre actionnement et mesure pour la synthèse d'un contrôleur intégré, point qui sera abordé dans les perspectives.

Titre : Estimation de position par des techniques d'impédancemétrie : applications aux puces microfluidiques

Mots clés : détection de position, impédancemétrie, puce fluidique, estimation d'état

Résumé :

Cette thèse s'inscrit dans le cadre applicatif général de l'analyse de cellules uniques. Afin d'améliorer la sélectivité du tri de cellules uniques, les équipes de FEMTO-ST proposent de contrôler en boucle fermée les trajectoires des cellules en temps réel pendant leur trajet dans les puces dédiées au tri. Dans ce cadre, mes travaux de thèse portent sur une méthode novatrice de détection en temps-réel de la position des cellules, directement intégrée aux puces et basée sur le principe physique de la mesure d'impédance.

Lors du passage d'une cellule dans un microcanal, celle-ci vient modifier l'impédance mesurable entre des électrodes placées sur les bords du canal. Une méthode générique permettant de formuler les variations d'impédance en fonction de la position de la particule a été proposée (modèle direct).

Une méthode d'estimation de la position d'une particule reposant sur les mesures d'impédance a également été proposée (modèle inverse). Celle-ci exploite un filtre de Kalman étendu, permettant la fusion de données en provenance de plusieurs paires d'électrodes, et exploitant les informations disponibles telles que la distribution du bruit de mesure et le modèle dynamique de la particule.

La validation de la méthode a été effectuée sur un banc expérimental qui a été développé lors de cette thèse et sur des simulations numériques.

Ces travaux montrent la pertinence d'exploiter l'impédancemétrie pour construire un capteur de position de particules immergées dans un microcanal. Cette méthode est une alternative à l'utilisation de microscopes optiques et présente l'avantage d'une grande compacité.

Title : Position estimation by impedance measurement techniques: applications to microfluidic chips

Keywords : position detection, impedancemetry, fluidic chip, state estimation

Abstract :

This thesis is part of the general application framework of single cell analysis. In order to improve the selectivity of single cell sorting, FEMTO-ST teams propose to control in closed loop the trajectories of the cells in real time during their journey in the chips dedicated to sorting. In this context, my thesis work focuses on an innovative method for real-time detection of cell position, directly integrated into chips and based on the physical principle of impedance measurement.

When a cell passes through a microchannel, it changes the measurable impedance between electrodes placed on the edges of the channel. A generic method for formulating impedance variations as a function of particle position has been proposed (direct model).

A method for estimating the position of a particle based on impedance measurements has also been proposed (inverse model). It uses an extended Kalman filter, allowing data from several pairs of electrodes to be merged, and exploiting available information such as measurement noise distribution and particle dynamic model. The validation of the method was carried out on an experimental bench that was developed during this thesis and on numerical simulations.

This work shows the relevance of using impedance measurement to build a position sensor for particles immersed in a microchannel. This method is an alternative to the use of optical microscopes and has the advantage of being very compact.