



Titre: Conception et fabrication d'un séparateur de particules hélicoïdal
Title: par impression tridimensionnelle

Auteur: Nicolas Guérin
Author:

Date: 2013

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Guérin, N. (2013). Conception et fabrication d'un séparateur de particules
Citation: hélicoïdal par impression tridimensionnelle [Mémoire de maîtrise, École
Polytechnique de Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/1258/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/1258/>
PolyPublie URL:

**Directeurs de
recherche:** Daniel Therriault, & Martin Lévesque
Advisors:

Programme: Génie mécanique
Program:

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

CONCEPTION ET FABRICATION D'UN SÉPARATEUR DE PARTICULES HÉLICOÏDAL
PAR IMPRESSION TRIDIMENSIONNELLE

NICOLAS GUÉRIN

DÉPARTEMENT DE GÉNIE MÉCANIQUE
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE MÉCANIQUE)

NOVEMBRE 2013

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé:

CONCEPTION ET FABRICATION D'UN SÉPARATEUR DE PARTICULES HÉLICOÏDAL
PAR IMPRESSION TRIDIMENSIONNELLE

présenté par : GUÉRIN Nicolas

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

M. GARON André, Ph.D., président

M. TERRIAULT Daniel, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. LÉVESQUE Martin, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. VÉTEL Jérôme, Doct., membre

REMERCIEMENTS

Je voudrais remercier mes deux directeurs de recherche, Martin Lévesque et Daniel Therriault, qui m'ont supporté tout au long de ce projet. Ils m'ont beaucoup aidé à terminer ce projet en me donnant beaucoup de rétroaction sur plusieurs facettes de ce mémoire et du travail qui l'entoure. Ils m'ont aussi supporté financièrement tout au long du projet ce qui m'a permis de passer ces deux années à travailler sur mon projet sans avoir à me soucier de savoir si j'allais pouvoir mettre du pain sous mon beurre.

Je tiens aussi à remercier tous les membres du Laboratoire de Mécanique Multi-Échelle qui m'ont permis de ressentir ce sentiment d'appartenance qui est si important pour moi. Le personnel du département de génie mécanique et de la section Mécanique Appliquée en particulier a été spécialement généreux de leur temps. Je voudrais mentionner spécialement Maxime, Anne-Marie, Philippe et Xavier qui ont écouté toutes les histoires que j'avais à raconter, intéressantes et pertinentes ou non. Ils ont été des amis que j'espère ne pas perdre lors de mon retour à la « vraie » vie.

Enfin, je voudrais remercier mon épouse Joanie qui m'a permis d'arrêter de travailler pour retourner à l'école. Ce projet de trois ans, qui s'est ensuite transformé en projet de cinq ans, m'a apporté beaucoup, mais nous a obligés à retarder plusieurs étapes de notre vie. Malgré tout, elle m'a supporté tout au long de mes études à Polytechnique, à travers les hauts et les bas, et maintenant que c'est terminé, une grande partie du crédit lui revient.

RÉSUMÉ

La miniaturisation des appareils médicaux est un domaine en pleine croissance. Les besoins médicaux augmentent en Occident et ailleurs, notamment en raison du vieillissement de la population. De plus, une nouvelle façon de penser la médecine axée sur la prévention prend de l'ampleur. Il en résulte un besoin grandissant d'appareils non seulement portatifs, mais aussi abordables et qui sont simples d'utilisation. Les appareils de diagnostics médicaux sont un bon exemple de ce besoin de miniaturisation. Un appareil diagnostic portatif et abordable aurait des avantages évidents sur l'engorgement des hôpitaux, par exemple. La première étape de la plupart des tests diagnostics est la concentration et la séparation de cellules. Les séparateurs de cellules sont des appareils encombrants pour lesquels la miniaturisation fait l'objet de recherche soutenue. La diélectrophorèse, la force appliquée sur une particule soumise à un champ électrique inhomogène, est une technique prometteuse pour servir de base à la séparation de cellules dans la nouvelle génération d'appareils médicaux portatifs.

Le présent mémoire présente le processus de conception et de fabrication d'un séparateur de particules diélectrophorétique tridimensionnel (3D) fabriqué par impression 3D. La méthode d'impression 3D utilisée est l'écriture directe qui consiste en la déposition robotisée de divers matériaux par un processus d'extrusion à travers des embouts à l'échelle micrométrique. Spécifiquement, l'écriture directe a été utilisée pour déposer des matériaux fugitifs qui, une fois encapsulés, sont retirés pour laisser des canaux dans le matériau encapsulant. Deux matériaux ont été testés et le prototype final a été fabriqué en utilisant une encre fugitive faite de gelée de pétrole et de cire microcristalline. Le processus de conception a mené à la fabrication d'un séparateur de forme hélicoïdal par déposition de filaments d'encre fugitive sur des mandrins rotatifs. Une fois assemblés et connectés, ces filaments ont été encapsulés avec de la résine d'époxy et l'encre a été retirée afin de créer des microcanaux dans l'époxy durci. Grâce à son rayon de courbure constant et à sa forme compacte, le séparateur hélicoïdal est 20 % moins encombrant que les séparateurs diélectrophorétiques comparables. Le séparateur a été testé afin de quantifier sa performance et la séparation de particules de polystyrène de 4 et 10 μm de diamètre. En utilisant une tension de 900 VDC entre les réservoirs d'entrée et de sortie, notre prototype a montré des efficacités de 94.0 % et 92.5 % lors de la séparation de particules de 4 et

10 μm respectivement. Ces résultats sont comparables à ceux des séparateurs diélectrophorétiques rapportés dans la littérature.

Le mémoire présente, par la suite, les tests qui ont été faits sur le deuxième matériau testé : l'acide polylactique polymère (PLA). Ce matériau montre de nombreux avantages par rapport à l'encre fugitive utilisée, mais présente aussi un nombre de défis reliés à son retrait du matériau encapsulant. Ces défis font l'objet d'une analyse préliminaire dont la portée a été limitée par le temps alloué au projet.

Une analyse des dimensions du séparateur fabriqué et leur impact sur sa performance et son niveau de portabilité a été faite. Elle démontre que les dimensions choisies pour des raisons de simplicité de fabrication ne permettent pas au séparateur d'atteindre le plein potentiel offert par sa conception hélicoïdale. Une analyse des avantages et inconvénients liés à l'utilisation du PLA est ensuite présentée. Malgré le travail nécessaire à l'élimination des problèmes rencontrés, l'utilisation du PLA est préférable à celle de l'encre fugitive, car elle limite les défauts géométriques qui nuisent à l'efficacité de séparation.

Le principe d'opération, la forme et le processus de fabrication du séparateur diélectrophorétique hélicoïdal ont montré leur capacité à produire un séparateur efficace et prometteur. Ils constituent aussi une réelle innovation, car aucun autre séparateur diélectrophorétique rapporté dans la littérature ne tire profit d'une forme tridimensionnelle complexe. Le séparateur présenté bâtit sur les bases des séparateurs présentés dans la littérature, mais fait un pas de plus vers l'objectif ultime d'intégration dans un appareil diagnostique portatif intégré en tirant profit du potentiel qu'offre la forme hélicoïdale. Ce séparateur est donc une création originale et innovatrice qui contribue à l'avancement des appareils médicaux.

ABSTRACT

The miniaturization of medical devices is a field in rapid expansion. The medical needs of the world are increasing notably because of the population is ageing. Also, a new medicine oriented on prevention is taking hold. The result of these facts is the growing need for portable, affordable and easy to use medical devices. Diagnostic medical devices are a good example of the need for miniaturization. A portable and affordable diagnostic tool would obviously help reduce hospital overcrowding. The first step of most diagnostic test is cell separation and concentration. Current cell separators are bulky and are the focus of an ongoing drive toward miniaturization. Dielectrophoresis, the force applied on a particle submitted to an inhomogeneous electric field, is a promising technique which could be the basis of the next generation of portable medical devices.

This dissertation reports the design and fabrication of a three dimensional dielectrophoretic cell separator fabricated using 3D printing. The method used is the direct-write method which consists of the robotic deposition of material by extrusion through micronozzles. Specifically, the direct-write method was used to deposit fugitive materials that were encapsulated and subsequently removed in order to create microchannels in the encapsulating material. Two fugitive materials were tested and the final prototype was fabricated using a fugitive ink made of microcrystalline wax and petroleum jelly. The design process led to the fabrication of a helical-shaped separator by deposition of fugitive ink filaments on rotating spindles. Once assembled and connected, these filaments were encapsulated with epoxy resin and removed. Because of its constant curvature radius and its compact shape, the helical separator had a planar footprint 20% smaller than comparable dielectrophoretic separators. The separator was tested to characterize its performance for the separation of 4 and 10 μm polystyrene particles. Using 900 VDC between the inlet and outlet reservoirs, the separator had efficiencies of 94.0% and 92.5% for the 4 and 10 μm particles, respectively. These results are comparable to reported dielectrophoretic separators.

The dissertation then presents tests performed on a second material: polylactic acid. This material has several advantages over fugitive ink however several challenges pertaining to its removal from the encapsulating material remain to be met. These challenges are the subject of a preliminary analysis, the scope of which was limited by the time allotted to the project.

An analysis of the critical dimensions of the separator and their impact on its performance and portability is presented next. It shows that the current dimensions, chosen to simplify the fabrication process, prevent the separator from reaching the full potential granted by its helical shape. The advantages and drawbacks of the use of PLA as a fugitive material are discussed. Despite the work that needs to be accomplished to iron out the problems of PLA removal, PLA seems preferable to fugitive ink because it limits geometrical flaws which can hinder separation.

The operation principle, the shape and the fabrication process of the helical dielectrophoretic separator have shown their ability to produce an efficient and promising separator. They constitute a genuine innovation as no reported dielectrophoretic separator has taken advantage of a complex three dimensional shape. The helical separator presented in this dissertation built on the foundation laid in the literature but takes a new step toward integration in a portable diagnostic device by realizing the potential of the helical shape. Thus, this separator constitutes an original and innovative creation that contributes to the progress of medical devices.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	III
RÉSUMÉ.....	IV
ABSTRACT	VI
TABLE DES MATIÈRES	VIII
LISTE DES TABLEAUX.....	X
LISTE DES FIGURES.....	XI
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XIV
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 REVUE DE LITTÉRATURE	3
1.1 Cytométrie de flux.....	3
1.2 Électrophorèse.....	5
1.3 Diélectrophorèse.....	7
1.3.1 Principe.....	7
1.3.2 Facteur de Clausius-Mossotti	8
1.3.3 Diélectrophorèse « travelling wave ».....	9
1.3.4 Électrorotation.....	10
1.3.5 pDEP et nDEP	11
1.3.6 iDEP	14
1.4 Fabrication de dispositifs microfluidiques	18
1.4.1 Méthode courante.....	18
1.4.2 Écriture directe	19
1.5 Synthèse des séparateurs iDEP	22

CHAPITRE 2	DÉMARCHE ET PERTINENCE DE L'ARTICLE	24
2.1	Démarche du travail de recherche	24
2.2	Présentation de l'article et cohérence avec les objectifs de recherche	26
CHAPITRE 3	ARTICLE 1 : HELICAL DIELECTROPHORETIC PARTICLE SEPARATOR FABRICATED BY CONFORMAL SPINDLE PRINTING	27
3.1	Introduction	27
3.2	Experimental Methods	29
3.2.1	Dielectrophoresis Theory	29
3.2.2	3D separator operation principle and design	32
3.2.3	Separator fabrication	35
3.2.4	Suspension preparation	36
3.2.5	Separation experiments	36
3.2.6	Image analysis	36
3.3	Results and discussion	37
3.3.1	Analysis of fabricated separator geometry	37
3.3.2	Separation efficiency	38
3.4	Conclusion	40
CHAPITRE 4	RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES	42
4.1	Fabrication de canaux microfluidiques par dépolymérisation catalytique du PLA	42
CHAPITRE 5	DISCUSSION GÉNÉRALE	47
5.1	Influence du design et des dimensions du séparateur	47
5.2	Potentiel du PLA	48
CONCLUSION		52
RÉFÉRENCES		54

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 – Synthèse des séparateurs de particules iDEP rapportés dans la littérature.....	23
--	----

LISTE DES FIGURES

Figure 1-1 - Schéma expliquant la séparation utilisant un cytomètre de flux. (Dainiak et coll., 2007[9]).....	5
Figure 1-2 - Schéma de fonctionnement de l'électrophorèse sur gel (Westermeier 2011[16]).....	6
Figure 1-3 - Propriétés électriques d'un érythrocyte (globule rouge) sain et d'un érythrocyte infecté par un parasite (Gascoyne et coll. 2002[21])	9
Figure 1-4 - Schéma de principe d'un concentrateur de particules utilisant la DEP « traveling wave » et photo du résultat de la concentration d'érythrocytes infecté par des parasites effectuée par le concentrateur. (Gascoyne et coll. 2002[21])	10
Figure 1-5 - Schéma d'un montage d'électrorotation simple. (Cen et coll. 2004[23])	11
Figure 1-6 - Séparation d'érythrocytes sains et d'érythrocytes infectés de parasite par affinité différentielle. (Gascoyne et coll. 2002[21])	13
Figure 1-7 - Illustration de l'intensité du champ électrique dans un séparateur à obstacle. (Kang et coll., 2008[6]).....	15
Figure 1-8 – a)Séparateur de particules à obstacle séparant deux types de cellules de cancer du sein. (Kang et coll, 2008[6]) b) Séparateur à canal en serpentin séparant des particules de polystyrène de 1 et 3 μm . (Church et coll., 2011[8])	16
Figure 1-9 - Concentrateur de cellules utilisant des obstacles pour repousser les cellules. Différentes valeurs d'intensité de champ et de débit donnent des résultats différents. Le débit va de gauche à droite. (Jen et coll. 2010[47])	17
Figure 1-10 - Concentrateur utilisant la DEP positive pour attirer des particules vers un obstacle central. (Hyungjung et coll. 2009[46]).....	18
Figure 1-11 - Illustration de la méthode de lithographie douce (adapté de www.intechopen.com)	19
Figure 1-12 - Fabrication de microcanaux par écriture directe. (Therriault et coll. 2005[54]).....	20

Figure 1-13 - Image MEB d'une jauge de déformation constituée de quatre hélices de nanocomposite époxy-nanotubes de carbone. Ces hélices ont été fabriquées par écriture directe UV. (Farahani et coll. 2012[63]).....	21
Figure 2-1 – Schéma électrique du montage expérimental de séparation.....	25
Figure 3-1 – Schematics of the design and operation of the helical separator a) Isometric view of the separator. The inlet reservoir contains a mixed suspension which is separated into its two constituents which are present in the outlet reservoirs. b) Illustration of the electric field intensity in the curved channel for a voltage of 900 VDC and its effect on particles. c) Slightly inclined side view of the separator showing three stages of particle separation with a 900VDC voltage. d) Randomly distributed particles enter the first helix. e) Particles are aligned after their transit through the first helix. f) Separated particles exit the second helix and are split toward the two output reservoirs.	32
Figure 3-2 - Fabrication steps of the helical separator. a) Deposition of the fugitive ink on a rotating spindle. b) Deposition of the reservoirs and filaments linking the upright helices to the reservoirs. c) Encapsulation of the reservoirs and filaments in liquid epoxy resin. d) After curing, the top part of the epoxy is cut to expose the filaments that are connected with another fugitive ink filament.	34
Figure 3-3 –a) Optical image of the fabricated separator. b) Fluorescent side view image of the two helices. c) Fluorescent top view image of the bifurcation. d) Fluorescent slightly inclined bottom view of the two helices.....	38
Figure 3-4 - Separation results of the 3D separator using a voltage of 900 VDC. a) Optical image of the 4 μ m and 10 μ m particles before separation. b) Particles collected from the top reservoir after separation. c) Particles collected from the bottom reservoir after separation. d) Distribution of the particles in each part of the bifurcation e) Destination of the particles after their transit through the separator.	39
Figure 4-1 - Tests de dépolymérisation sur des filaments nus de PLA à 25 % chauffés à 200 °C à 0.3kPa durant 20 heures.	43

Figure 4-2 - a) Partie centrale d'un prototype de séparateur 2D en PLA (25 % massique) contenant 2.5 % de catalyseur encapsulé dans de l'époxy. b) Partie centrale du même séparateur 2D après un chauffage à 200 °C et à 0.3 kPa durant 50 heures.	44
Figure 4-3 - Problèmes rencontrés durant la dépolymérisation catalytique du PLA (25 % massique) avec 2.5 % de catalyseur. a) Concentration des impuretés lors du retrait du PLA durant la dépolymérisation. b) Déformation de l'époxy menant à une coupure du microcanal.	45
Figure 4-4 – Image fluorescente d'un canal microfluidique fabriqué par dépolymérisation catalytique de PLA à 30 % massique avec 1.5 % massique de catalyseur. Le filament a été déposé par écriture directe libre. (Guo et coll. 2013[56])	46
Figure 5-1 – Jonction entre deux sections du canal ayant une forme irrégulière qui cause des gradients de champ électrique locaux.	49
Figure 5-2 – Illustration de la rugosité de a) un canal fabriqué avec de l'encre fugitive et b) un canal fabriqué avec du PLA.	50
Figure 5-3 – Comparaison des imperfections liées à une jonction à angle entre les deux méthodes de fabrication de microcanaux. a) Image fluorescente de la jonction du séparateur hélicoïdal. b) Image optique d'un filament de PLA à 25 % massique plié après séchage complet.....	51

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

La liste des sigles et abréviations présente, dans l'ordre alphabétique, les sigles et abréviations utilisés dans le mémoire ou la thèse ainsi que leur signification. En voici quelques exemples :

DEP	Diélectrophorèse
pDEP	Diélectrophorèse positive
nDEP	Diélectrophorèse négative
iDEP	Insulator-based dielectrophoresis
f_{CM}	Facteur de Clausius-Mossotti
2D	Bidimensionnel
3D	Tridimensionnel
UV	Ultraviolet
kPa	Kilopascal
°C	Degré Celsius
F_{elec}	Force découlant du champ électrique
q	Charge électrique
E	Champ électrique
m	Polarisation
ε_m	Permittivité du milieu
ε_p	Permittivité de la particule
r	Rayon
Re	Partie réelle
Im	Partie imaginaire
ω	Pulsation
RMS	Valeur efficace

φ	Phase
σ	Conductivité
ε^*	Permittivité complexe
PLA	Acide polylactique polymère
VDC	Volt en courant continu
μm	Micromètre

INTRODUCTION

De plus en plus d'appareils, qui étaient historiquement encombrants et fixes, sont miniaturisés et ainsi portatifs. Par exemple, l'ordinateur ayant servi à calculer les trajectoires du programme spatial Apollo, qui avait la taille d'un classeur, était environ 350 fois moins puissant qu'un iPhone 5 qui tient facilement dans la main[1, 2]. La médecine moderne s'appuie aussi sur un grand nombre d'appareils dont plusieurs sont encombrants et dispendieux. La séparation de cellules, qui est une étape importante de plusieurs tests diagnostics, est un bon exemple d'application où les appareils sont très encombrants. La miniaturisation des séparateurs de cellules permettrait de faire un pas vers la création d'appareils de diagnostic médicaux portatifs. De tels appareils pourraient être utilisés sur le terrain, là où se trouvent les patients.

La diélectrophorèse, qui est le phénomène par lequel une particule suspendue dans un milieu est accélérée lorsque soumise à un champ électrique inhomogène, représente une avenue prometteuse afin de mettre au point des séparateurs de cellules miniaturisés. Plusieurs séparateurs de cellules diélectrophorétiques ont été rapportés dans la littérature[3-8] incluant un prototype qui a été fabriqué dans notre groupe de recherche en utilisant des électrodes en forme d'hélices fabriquées par impression 3D et par déposition métallique.

Le travail rapporté dans ce mémoire constitue la deuxième phase de ce projet au sein du Laboratoire de Mécanique Multi-Échelle. L'utilisation d'électrodes hélicoïdales plutôt que des électrodes planes avait pour but de retarder la saturation des électrodes, qui est un phénomène limitant l'efficacité des séparateurs planaires. Cet objectif n'a été que partiellement atteint. Par contre, l'utilisation de structures 3D semble prometteuse et représente la spécialité de notre groupe de recherche.

Le projet a donc pour but de déterminer un design 3D qui permettrait une amélioration par rapport au prototype fabriqué précédemment dans notre groupe. Ce design doit aussi offrir un avantage par rapport aux autres séparateurs diélectrophorétiques existants. Le deuxième objectif du projet est de fabriquer ce séparateur de façon à ce qu'il soit fonctionnel et puisse être testé. Le troisième objectif est de tester l'efficacité de ce séparateur en séparant des particules inertes.

Ce rapport est un mémoire par article donc l'article constitue le corps de l'ouvrage. Une revue de la littérature pertinente est présentée au Chapitre 1. Cette partie présente le cheminement

intellectuel qui a été suivi pour arriver au concept final du séparateur. Le Chapitre 2 présente la méthodologie suivie durant ce projet et explique comment l'article s'inscrit dans le cheminement du travail. Le Chapitre 3 présente l'article suivi, au Chapitre 4, des résultats obtenus sur une méthode de fabrication alternative qui ne figurent pas dans l'article. Le Chapitre 5 présente une discussion générale qui est séparée en deux parties : une analyse plus en profondeur des effets des dimensions du séparateur sur son efficacité et une analyse du potentiel que représente la méthode de fabrication présentée au Chapitre 4. Enfin, la dernière partie présente les conclusions tirées de ce travail et des recommandations de travaux futurs qui pourraient améliorer la conception du séparateur présenté.

CHAPITRE 1 REVUE DE LITTÉRATURE

La manipulation d'objets à l'échelle nanométrique et micrométrique représente un défi majeur dans plusieurs domaines de la science du vivant. L'étude des protéines et du génome humain ainsi que le diagnostic de maladies comme le cancer ne sont que quelques exemples de domaines où la manipulation de molécules et de cellules est nécessaire.[9]

Ce chapitre présente quelques exemples de techniques de séparation et de concentration utilisées couramment. Ensuite, les différents principes physiques utilisés dans le développement de nouveaux designs de séparateurs miniaturisés tels que l'électrophorèse, la diélectrophorèse et l'électrorotation sont présentés. Une revue des techniques de microfabrication et des matériaux utilisés dans la conception de ces séparateurs est ensuite présentée. Enfin, un tableau synthèse présente différents séparateurs utilisant le même principe de fonctionnement que le séparateur hélicoïdal présenté dans ce mémoire.

1.1 Cytométrie de flux

À l'heure actuelle, de nombreuses techniques sont utilisées pour séparer, concentrer et analyser les protéines, cellules et particules inertes. Plusieurs types de séparation nécessitent le marquage des cellules préalablement à la séparation ce qui complique le processus de séparation. La séparation nécessite donc des appareils encombrants et difficilement transportables. Des appareils considérés portatifs et abordables occupent environ $20 \times 20 \times 20 \text{ cm}^3$ et coutent au moins 35 000 \$.[10]

Une des méthodes les plus utilisées est la cytométrie de flux. Dans cette méthode, un laser est utilisé pour déterminer les propriétés de cellules ou de protéines en mesurant les propriétés de la lumière diffusée par les cellules. Les cellules à analyser passent devant le laser après avoir été alignées. Cet alignement est important, car les cellules doivent passer une à une dans le faisceau du laser. Il est réalisé à l'aide d'une concentration hydrodynamique. Cette méthode consiste à faire circuler un fluide de gainage dans un canal et d'y injecter l'analyte. Le fluide de gainage est en régime laminaire. L'analyte est maintenu à une pression supérieure à celle du fluide de gainage. Grâce à cette différence de pression et à l'écoulement laminaire, quand l'analyte est injecté dans le fluide de gainage, ceux-ci ne se mélangent pas. Le canal est ensuite rétréci afin d'aligner les cellules préalablement à leur passage dans le faisceau laser[11]. Ce type d'appareil

peut être utilisé afin de séparer des cellules en fonction de leur type à l'aide d'une méthode se nomme Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS). La Figure 1-1 montre le fonctionnement de cette technique. Cette méthode de séparation nécessite le marquage fluorescent d'un des types de cellules. Les cellules passent dans le cytomètre où la présence ou l'absence de marqueur est notée par la dispersion de lumière laser telle que montrée dans le haut de la Figure 1-1. Le flux est ensuite brisé en gouttelettes sous l'effet de vibration ajustée afin d'assurer que chaque gouttelette ne contiendra qu'une seule cellule. Un système de déflection électrostatique attire les gouttelettes vers des récipients séparés en fonction des résultats de la détection. Les cellules possédant le marqueur sont donc séparées de celles ne le possédant pas.[12]

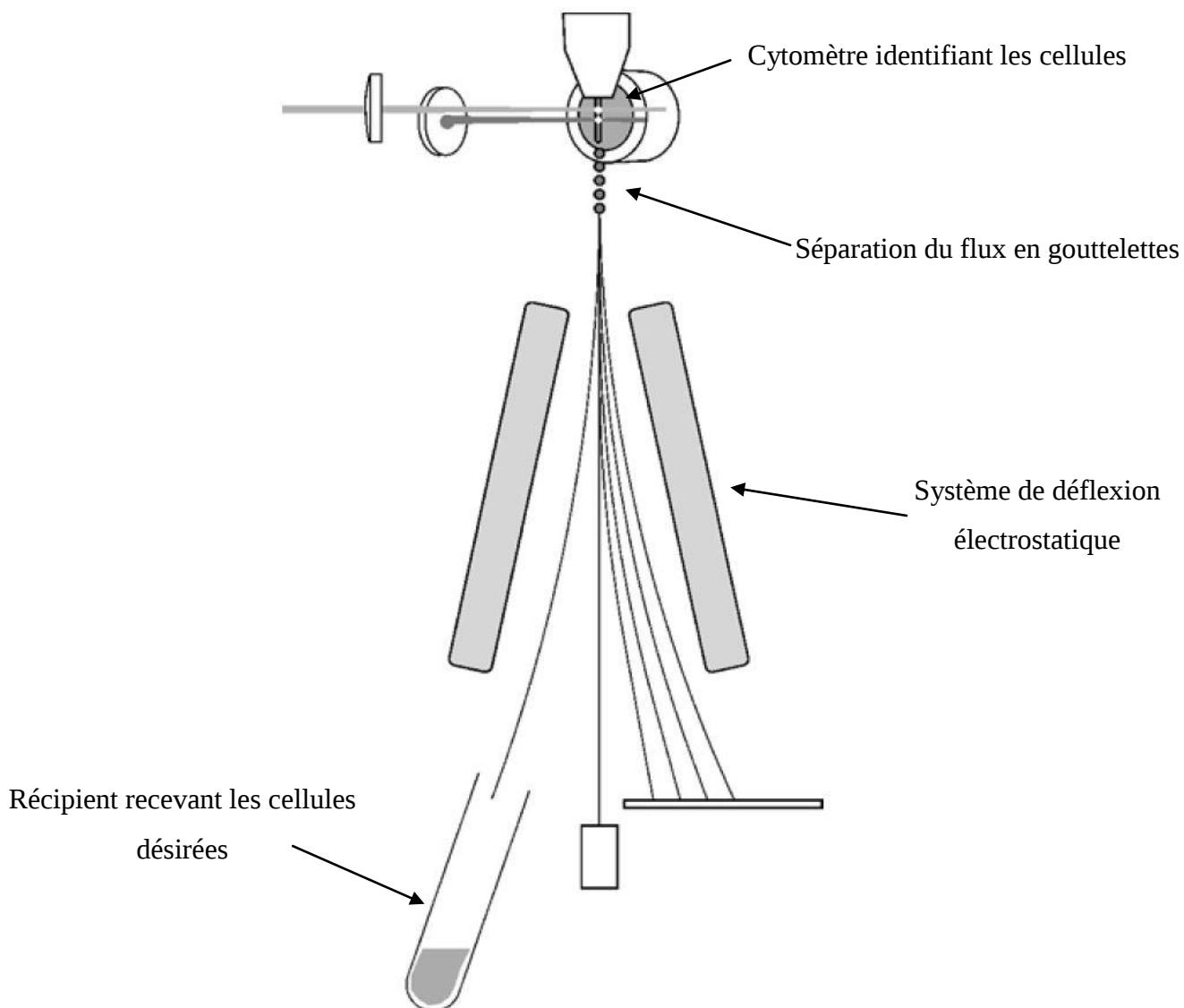


Figure 1-1 - Schéma expliquant la séparation utilisant un cytomètre de flux. (Dainiak et coll., 2007[9])

1.2 Électrophorèse

La description de la cytométrie de flux n'est qu'un exemple du type d'appareils utilisés pour la séparation de cellules dans les applications biomédicales modernes. Dans le but de rendre les appareils médicaux plus portatifs et plus abordables, plusieurs autres techniques sont utilisées. Une technique couramment utilisée en médecine moderne est l'électrophorèse.

L'électrophorèse est le déplacement de particules chargées suspendues dans un milieu sous l'influence d'un champ électrique[13]. Elle a été décrite pour la première fois en 1937 et utilisée par celui qui l'a découverte afin de caractériser des protéines[14, 15]. Une des utilisations les plus connues est l'analyse de l'ADN utilisant l'électrophorèse sur gel. Dans cette technique, des fragments d'ADN sont introduits dans une matrice de gel, telle que l'agarose, et soumis à un champ électrique. Les fragments se déplacent vers l'anode à des vitesses qui dépendent de leur charge[16]. Ce principe est démontré à la Figure 1-2 où deux types de protéines sont introduits dans le gel (partie de gauche) et soumis à un champ (partie de droite). Les protéines blanches ont une charge négative plus grande que celle des protéines grises et ont donc une vitesse supérieure dans le gel ce qui permet de les séparer. Ceci permet de caractériser les fragments et ensuite les comparer à ceux d'autres individus. Ceci permet, entre autres, de déterminer la paternité ou d'identifier un individu dans une enquête criminelle.

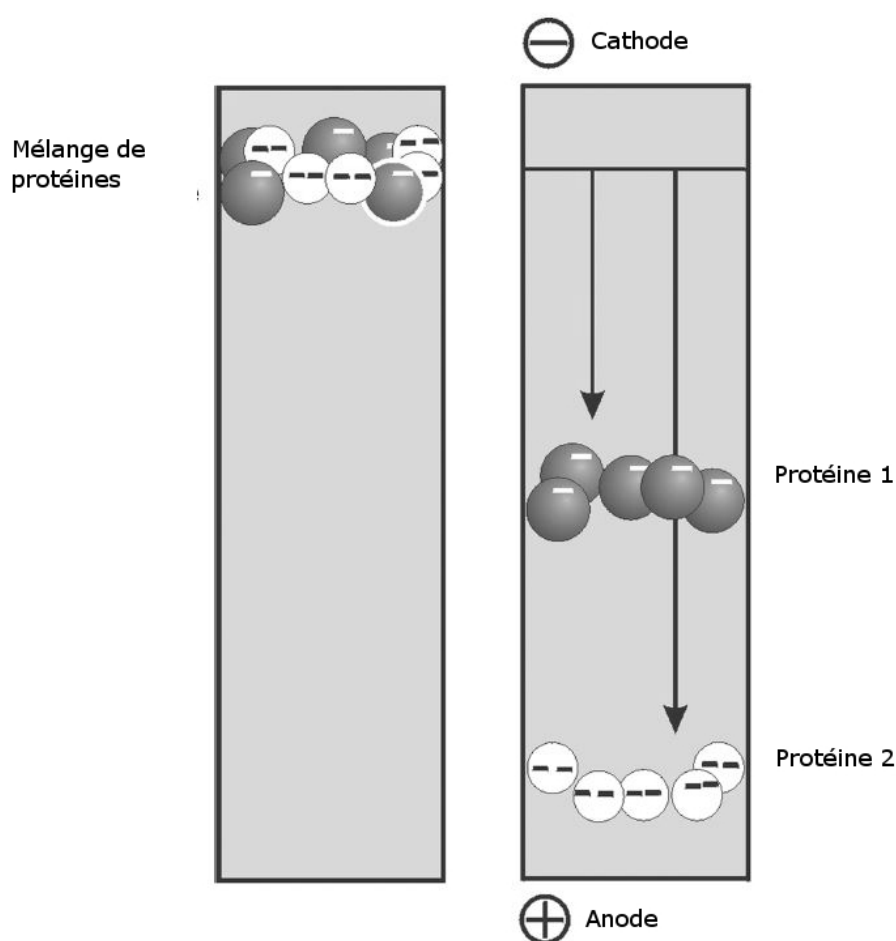


Figure 1-2 - Schéma de fonctionnement de l'électrophorèse sur gel (Westermeier 2011[16])

L'électrophorèse permet de créer une séparation physique entre des particules ce qui constitue la base de la séparation de cellules. Par contre, elle nécessite des particules chargées ce qui n'est pas le cas des cellules, qui ne sont jamais chargées. Une autre méthode doit donc être trouvée afin de permettre la séparation de cellules sans restriction de charge.

1.3 Diélectrophorèse

1.3.1 Principe

La diélectrophorèse est le déplacement de particules par rapport au milieu qui les suspend sous l'effet d'un champ électrique inhomogène. Elle est, de cette façon, similaire à l'électrophorèse, mais ne nécessite pas que les particules à déplacer soient chargées. Elle a été découverte par Pohl en 1951[17] qui l'a, par la suite, utilisée pour séparer des levures en fonction de différents paramètres[18], notamment l'âge des colonies de levures et l'utilisation préalable de poisons chimiques.

En général, la force F_{elec} appliquée sur une particule est décrite par l'équation suivante[19] :

$$F_{elec} = qE + (m\nabla)E + \frac{1}{6}\nabla(\vec{Q}:\nabla E) + \dots \quad (1)$$

Tous les termes dépendent du champ électrique appliqué E . Le premier terme de droite décrit l'électrophorèse qui est nulle dans le cas d'une particule électriquement neutre, c'est-à-dire sa charge $q = 0$. Il est aussi nul en moyenne dans le cas d'un champ alternatif dont la valeur moyenne est zéro. Le deuxième terme décrit la force appliquée sur une particule, chargée ou non, qui découle du gradient du champ ∇E . Cette force est fonction de la polarisation m de la particule. Le troisième terme est la force qui découle de l'effet d'un champ quadripôle. L'équation continue pour les effets d'ordres supérieurs qui sont rarement rencontrés dans des applications courantes.

La diélectrophorèse est décrite par le deuxième terme. Le champ électrique peut être en courant continu ou alternatif. Dans le cas d'un courant alternatif, comme la polarité du champ est inversée de façon répétée, la force varie continuellement. Une fois développé, la moyenne temporelle de la force devient :

$$\langle \mathbf{F}(t) \rangle = 2\pi\epsilon_m r^3 \{ \text{Re}(f_{CM}(\omega)) \nabla E_{RMS}^2 + \text{Im}(f_{CM}(\omega)) (E_x^2 \nabla \phi_x + E_y^2 \nabla \phi_y + E_z^2 \nabla \phi_z) \} \quad (2)$$

où ϵ_m est la permittivité du milieu, r est le rayon de la particule, f_{CM} est le facteur de Clausius-Mossotti, ω est la pulsation du champ, E_{RMS} est la valeur efficace du champ et E_i et ϕ_i ($i = x, y, \text{ et } z$) sont les valeurs du champ et de la phase dans les directions principales respectivement. Les termes d'ordres supérieurs ont aussi été développés,[20] mais leur application n'est pas courante dans la littérature.

Le facteur de Clausius-Mossotti est décrit par l'équation suivante.

$$f_{CM}(\epsilon_p^*, \epsilon_m^*, \omega) = \frac{\epsilon_p^*(\omega) - \epsilon_m^*(\omega)}{\epsilon_p^*(\omega) + 2\epsilon_m^*(\omega)} \quad (3)$$

$$\epsilon_i^* = \epsilon_i - j \frac{\sigma_i}{\omega} \quad (4)$$

où ϵ est la permittivité et σ est la conductivité. Les indices p et m représentent la propriété de la particule et du milieu respectivement. ϵ et σ se combinent pour former la permittivité complexe. Le premier terme de l'équation (2) décrit la force appliquée sur une particule due à l'inhomogénéité spatiale du champ. Ces inhomogénéités sont décrites par ∇E_{RMS}^2 . Cette composante pousse la particule vers les zones de haute ou de basse intensité de champ en fonction de la valeur de la partie réelle du facteur de Clausius-Mossotti. Cette force a été décrite par Pohl en 1951[17]. Le deuxième terme décrit la force découlant de la variation temporelle de la distribution du champ. Cette composante entraîne la particule dans le sens du déplacement du champ ou dans le sens inverse du déplacement du champ selon la valeur de la partie imaginaire du facteur de Clausius-Mossotti. Ce terme est donc responsable de la DEP « travelling wave ».

1.3.2 Facteur de Clausius-Mossotti

Le facteur de Clausius-Mossotti f_{CM} est un élément déterminant de la diélectrophorèse. Il est fonction des propriétés électriques de la particule et du milieu. Il approxime la polarisation de la particule en fonction de celle du milieu liquide.[21] Son signe détermine donc la direction de la force appliquée sur une particule et, comme il est un facteur dans l'équation de la force diélectrophorétique, sa norme a une influence déterminante sur la force appliquée. Le matériau composant une particule ainsi que la structure interne d'une particule influent sur la valeur du

facteur. Par exemple, une particule uniforme n'a pas le même f_{CM} qu'une particule constituée de plusieurs couches comme une cellule comportant un noyau. De plus, la fréquence du champ électrique a une influence importante sur la valeur du facteur de Clausius-Mossotti [22]. La séparation de cellules saines et de cellules anormales peut être basée sur la variation du facteur en fonction de la structure des cellules et de la fréquence du champ[21]. La Figure 1-3 montre qu'une cellule saine peut avoir une structure différente de celle d'une cellule anormale ce qui influe sur ses propriétés diélectriques et ainsi sur son facteur de Clausius-Mossotti.

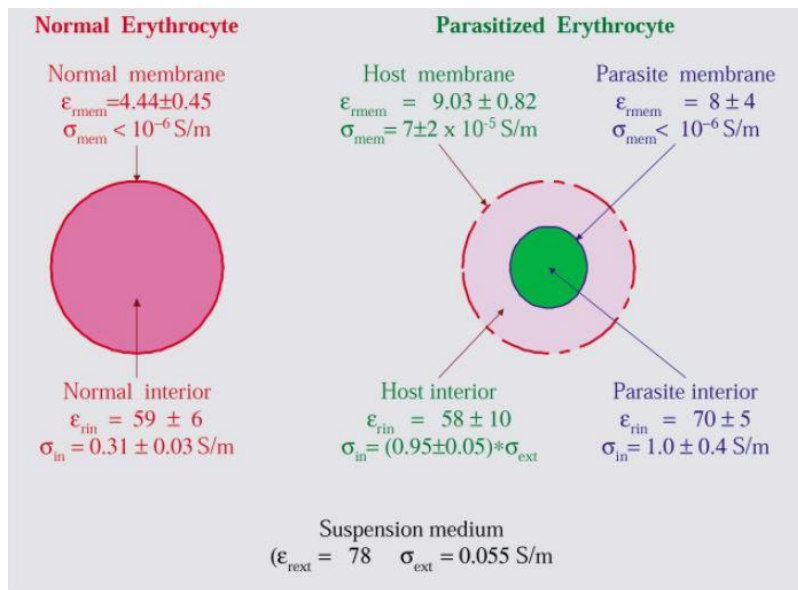


Figure 1-3 - Propriétés électriques d'un érythrocyte (globule rouge) sain et d'un érythrocyte infecté par un parasite (Gascoyne et coll. 2002[21])

1.3.3 Diélectrophorèse « travelling wave »

La DEP travelling wave est le déplacement d'une particule sous l'effet de la variation temporelle de la distribution d'un champ électrique. Pour déplacer des particules à l'aide de ce type de DEP, plusieurs électrodes sont positionnées près les unes des autres et un courant alternatif est appliqué aux bornes de ces électrodes. Chaque électrode reçoit un courant déphasé par rapport aux autres ce qui crée un gradient de phase. Le courant alternatif ayant une valeur de tension variant continuellement, cet arrangement crée une « onde » de champ qui se déplace le long de la série d'électrodes. La force découlant de ce type d'arrangement est donnée par le deuxième terme de l'équation 2. La Figure 1-4-a) montre le principe de fonctionnement d'un concentrateur de particules contenant 4 électrodes déphasées de 90° . La Figure 1-4-b) montre le résultat de la

concentration d'un mélange d'érythrocytes contenant 5 % d'érythrocytes infectés avec ce concentrateur. Le facteur de Clausius-Mossotti des cellules infectées est positif alors que celui des cellules normales est négatif. Ainsi, les cellules infectées vont vers le centre de la spirale et les cellules normales vont vers l'extérieur[21]. Ce montage a permis d'obtenir un facteur de concentration des cellules infectées d'environ 1000.

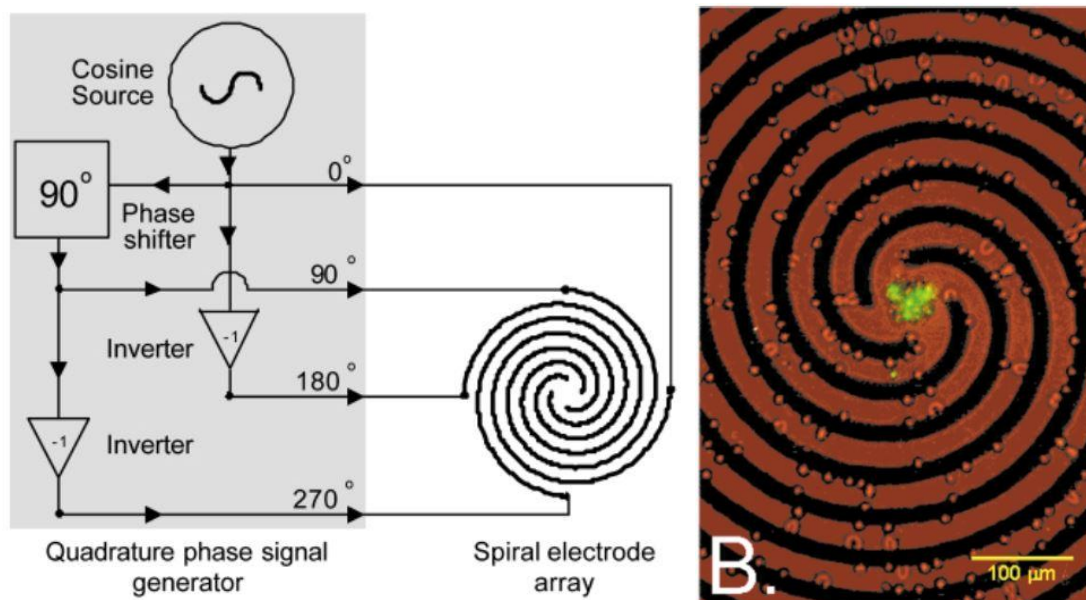


Figure 1-4 - Schéma de principe d'un concentrateur de particules utilisant la DEP « traveling wave » et photo du résultat de la concentration d'érythrocytes infecté par des parasites effectuée par le concentrateur. (Gascoyne et coll. 2002[21])

1.3.4 Électrorotation

L'électrorotation fonctionne selon un principe similaire à celui de la DEP « travelling wave ». Un champ électrique rotatif fourni par des électrodes déphasées entraîne la rotation d'une particule. La Figure 1-5 montre un montage d'électrorotation simple où les électrodes sont déphasées de 90°[23]. Le champ électrique est représenté par le vecteur E et la polarisation de la particule par le vecteur P . Celui-ci tente de s'aligner sur le champ électrique. Ainsi, un champ rotatif peut entraîner la rotation continue de la particule. Le sens de rotation et la norme du couple appliqué sur la particule sont contrôlés par la partie imaginaire du facteur de Clausius-Mossotti. Ainsi, une particule peut subir une rotation dans le même sens que la rotation du champ ou dans le sens inverse. Le graphique de la vitesse de rotation en fonction de la fréquence du champ électrique

donne le spectre de l'électrorotation. Ce spectre permet de déterminer les propriétés électriques de la particule. Ainsi, l'électrorotation est souvent utilisée pour déterminer les propriétés électriques d'une particule afin de prédire son comportement lorsque soumise à la diélectrophorèse[19, 21, 22, 24-27].

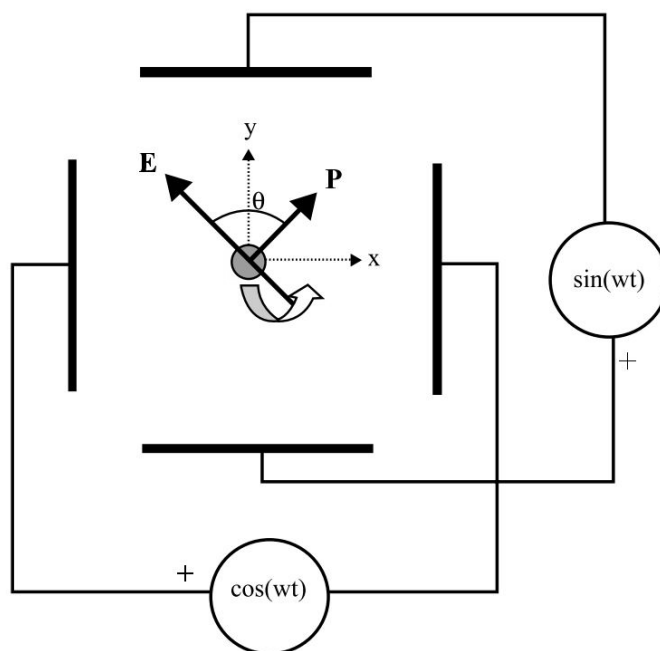


Figure 1-5 - Schéma d'un montage d'électrorotation simple. (Cen et coll. 2004[23])

1.3.5 pDEP et nDEP

La DEP « traveling wave » et l'électrorotation sont fonctions de la partie imaginaire du facteur de Clausius-Mossotti, tandis que le premier terme de droite de l'équation (2) est fonction de sa partie réelle. Malgré que la DEP englobe les deux termes de l'équation (2), c'est le deuxième terme qui est communément appelé DEP. Les termes pDEP et nDEP réfèrent ainsi au signe de la partie réelle du facteur de Clausius-Mossotti. La pDEP a lieu lorsque la partie réelle est positive et la nDEP, quand il est négatif.

Lorsque la partie réelle du facteur de Clausius-Mossotti est positive, une particule est attirée vers les zones de haute intensité de champ électrique. La particule est donc attirée vers les électrodes, là où le champ a la plus haute intensité. Cette méthode peut être utilisée pour collecter des particules ou des cellules[18, 27].

Lorsque la partie réelle du facteur de Clausius-Mossotti est négative, la particule est attirée vers les zones de basse intensité de champ électrique. Elle est donc repoussée par les électrodes. Cette méthode est utilisée dans différentes applications, notamment pour aligner ou séparer des particules en utilisant des électrodes comme guides[28-30], pour faire léviter des particules afin de les manipuler[23, 31] et pour emprisonner des particules afin de les étudier[32].

La séparation par affinité différentielle utilise la pDEP et la nDEP afin de séparer des particules ayant des propriétés électriques différentes. Ainsi un type de particule ayant un f_{CM} positif et un type ayant un f_{CM} négatif ont un comportement très différent lorsque soumis à un champ électrique inhomogène. Un des types est attiré par les électrodes et l'autre type est repoussé. Les particules ayant un f_{CM} négatif sont éluées, c'est-à-dire évacuées par rinçage, alors que les autres restent collées sur les électrodes. Le champ est ensuite relâché ce qui libère les particules restantes. Elles sont ensuite éluées[21, 27, 33]. La Figure 1-6 montre des érythrocytes sains (foncés) et des érythrocytes infectés de parasites (verts) en cour de séparation par affinité différentielle. Les érythrocytes sains ont un f_{CM} positif alors que les érythrocytes infestés ont un f_{CM} négatif. Ainsi, durant la première phase de séparation, les érythrocytes sains sont attirés par les électrodes et ceux infectés sont repoussés[21]. Le montage de la Figure 1-6 a permis d'augmenter la concentration de cellules infectées d'un facteur de 200.

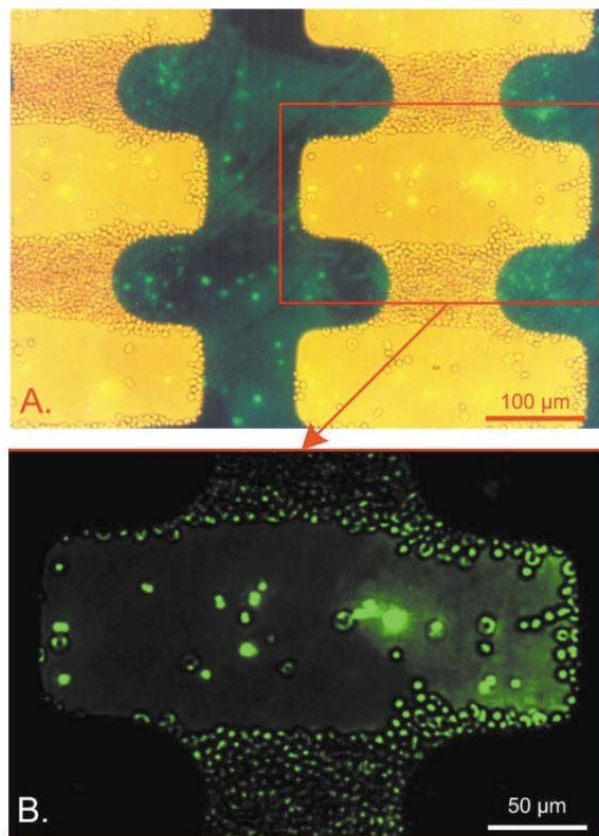


Figure 1-6 - Séparation d'érythrocytes sains et d'érythrocytes infectés de parasite par affinité différentielle. (Gascoyne et coll. 2002[21])

Afin d'assurer une bonne efficacité de séparation, la différence entre les deux f_{CM} doit être la plus grande possible. Le facteur de Clausius-Mossotti de chaque type de particule est étudié en fonction de la fréquence du champ électrique afin de déterminer la fréquence qui maximise la différence de f_{CM} . Afin de pouvoir utiliser la séparation par affinité différentielle sur le sang, les propriétés du sang en fonction de la fréquence ont été étudiées[34-36]. Certains types de particules ne permettent pas de trouver une fréquence qui donne une séparation efficace, ce qui limite l'utilité de cette méthode. De plus, lors de la première phase de la séparation, des particules devant être repoussées par les électrodes peuvent se retrouver coincées derrière des particules qui sont attirées, ce qui les empêche d'être éluées[19]. Ceci nuit aussi à l'efficacité de séparation.

La DEP conventionnelle a plusieurs problèmes. Un de ces problèmes est l'encrassement des électrodes qui survient dans l'intervalle de valeurs de champ électrique utilisé dans les séparateurs diélectrophorétiques[37]. L'encrassement des électrodes rend les résultats de séparation difficilement reproductibles[38]. Dans plusieurs applications, les électrodes sont

positionnées directement à l'endroit où les manipulations ont lieu. Ceci rend difficile leur remplacement en cas d'encrassement, car elles sont souvent partie intégrante du dispositif.

Un autre problème rencontré dans la DEP est le réchauffement par effet Joule. Le mouvement des particules est déterminé par la DEP, mais aussi par des effets électrothermiques[4]. Ce réchauffement du milieu crée des champs électriques de forme tridimensionnelle complexe.[38]. Le mouvement des particules devient plus difficile à prévoir et peut donc nuire à l'efficacité de séparation. Lorsque les particules à séparer sont des cellules, le réchauffement peut aussi, dans certains cas, être nocif pour celles-ci[6].

Enfin, lorsque la tension est suffisamment élevée et que la fréquence est faible, le milieu peut être décomposé par électrolyse. Les bulles créées peuvent perturber le déplacement des particules. Comme les électrodes sont placées à l'endroit de la manipulation, ces perturbations sont critiques et ont un effet direct sur l'efficacité de la manipulation[7].

1.3.6 iDEP

La « insulator-based dielectrophoresis » (iDEP), aussi appelée « electrodeless dielectrophoresis » (eDEP) est une forme de DEP où l'inhomogénéité du champ électrique découle de la forme du dispositif et non de la forme des électrodes. Le milieu est contenu par le dispositif qui est fabriqué avec un matériau isolant. Le champ électrique est créé par une tension appliquée par des électrodes immergées dans les réservoirs situés aux extrémités du dispositif. Les réservoirs sont reliés par des canaux où la manipulation de particules a lieu. Lorsque la section des canaux est réduite, les lignes de champs sont concentrées dans une plus petite section ce qui amplifie le champ. Si la section est augmentée, l'intensité du champ est diminuée. Le champ peut aussi être augmenté par des changements brusques de section comme un coin pointu. La Figure 1-7 montre un séparateur de particule fonctionnant par iDEP. Le niveau de gris dénote l'intensité du champ électrique, un gris plus pâle dénote un champ de faible intensité. Le milieu est contenu dans un dispositif ayant un obstacle. La réduction de section concentre les lignes de champ ce qui augmente l'intensité du champ, mais le faible rayon de courbure des coins de l'obstacle amplifie cette augmentation comme le montrent les taches foncées près des coins[6].

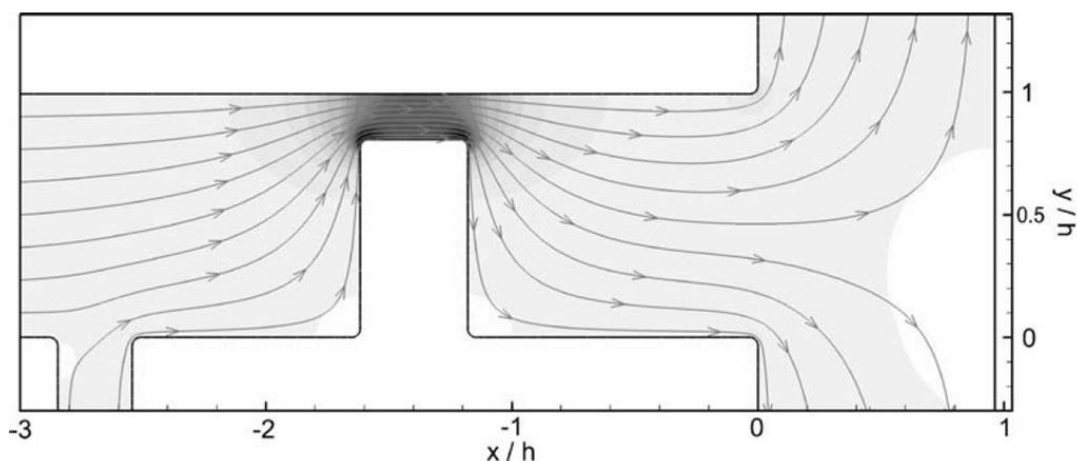


Figure 1-7 - Illustration de l'intensité du champ électrique dans un séparateur à obstacle. (Kang et coll., 2008[6])

Plusieurs séparateurs de particules rapportés dans la littérature utilisent ce type de DEP pour générer les forces de séparation.[3, 6-8, 39-44]. Ces séparateurs ont plusieurs formes possibles comme un obstacle[6, 7], un canal en serpentin[8, 39, 40, 44] ou un canal en spirale[3, 41-43]. Ces séparateurs utilisent des particules ayant des f_{CM} négatifs contrairement aux séparateurs par affinité différentiels qui nécessitent qu'un type de particules ait un f_{CM} positif et que l'autre ait un f_{CM} négatif. Le milieu est donc adapté afin d'assurer que les f_{CM} des deux types soient négatifs. Les particules sont donc repoussées par les zones de haute intensité de champ électrique.

Les séparateurs à obstacles et à canal en serpentin utilisent des changements de section brusques pour créer de hautes intensités de champ et de forts gradients afin de séparer les particules. La séparation découle des propriétés différentes que possèdent différents types de particules. Cette différence de propriétés implique que les particules sont repoussées par les gradients de champs avec des forces différentes ce qui permet de les séparer. La Figure 1-8-a) montre un séparateur de cellules à obstacle séparant deux types de cellules de cancer du sein. Celles allant dans le canal du haut mesurent environ 30 μm et les plus petites mesurent environ 20 μm . Après la séparation, aucune cellule de 30 μm ne restait parmi les cellules de 20 μm [6]. La Figure 1-8-b) montre un séparateur de particules à canal en serpentin. Celui-ci sépare des particules de polystyrène de μm 1 et 3 μm avec une efficacité de plus de 90 %[8]. En utilisant un dispositif semblable, Zhu et coll. ont obtenu des efficacités de 94 % et 98 % pour des particules de polystyrène de 3 μm et des levures, respectivement[44]. En utilisant un séparateur en spirale, Zhu et Xuan ont séparé des

particules de polystyrène de 10 μm enduites de carboxyle de particules de 10 μm sans enduit avec des efficacités de 95 % et 98 %, respectivement.

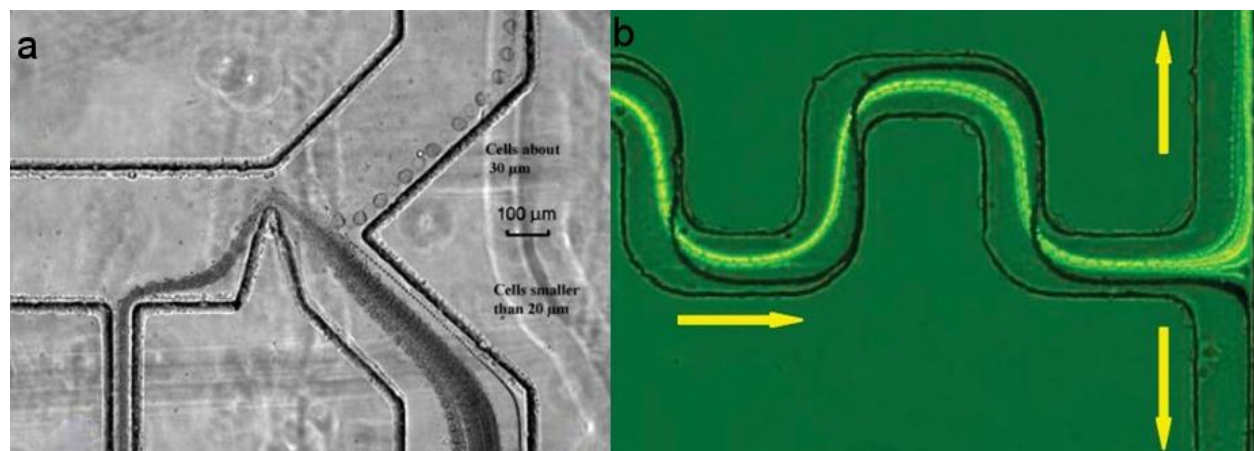


Figure 1-8 – a) Séparateur de particules à obstacle séparant deux types de cellules de cancer du sein. (Kang et coll, 2008[6]) b) Séparateur à canal en serpentin séparant des particules de polystyrène de 1 et 3 μm . (Church et coll., 2011[8])

Certains dispositifs utilisent aussi ce principe afin de concentrer des cellules[5, 45-48]. Le facteur de Clausius-Mossotti des particules peut être négatif ou positif. Une méthode pour concentrer des particules est d'utiliser des obstacles à travers les canaux où circulent les particules en conjonction avec un f_{CM} négatif. Les obstacles, en réduisant la section des canaux, créent un gradient de champs qui repousse les particules[5, 45, 47]. La Figure 1-9 montre un concentrateur de cellules utilisant des obstacles pour repousser les cellules. L'écoulement va de la gauche vers la droite. Le gradient de champ à proximité des obstacles repousse les particules vers le centre de l'écoulement ce qui les concentre. La Figure 1-9 montre l'influence de l'intensité du champ et de la vitesse de l'écoulement sur la largeur du flot de particules à la sortie du concentrateur.

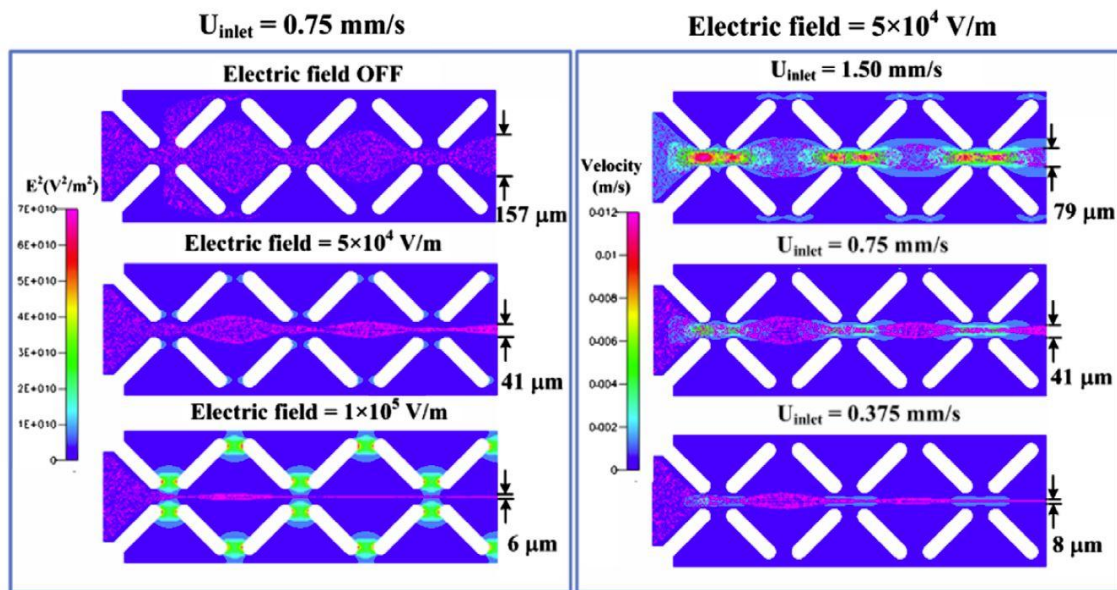


Figure 1-9 - Concentrateur de cellules utilisant des obstacles pour repousser les cellules. Différentes valeurs d'intensité de champ et de débit donnent des résultats différents. Le débit va de gauche à droite. (Jen et coll. 2010[47])

D'autres dispositifs utilisent la DEP positive pour attirer les particules vers les zones de haute intensité de champ électrique[46, 48]. Hyungjung et coll. ont proposé un séparateur utilisant la DEP positive pour attirer des particules vers un obstacle central tel que montré à la Figure 1-10. Les coins supérieurs de l'obstacle génèrent un important gradient de champ tel que montré au centre de la Figure 1-10. Ce gradient attire les particules ce qui permet de les concentrer. La partie droite de la Figure 1-10 montre la circulation des particules sans champ électrique (haut de la photo) et l'effet concentrateur lorsque le champ électrique est présent (au centre de la photo).

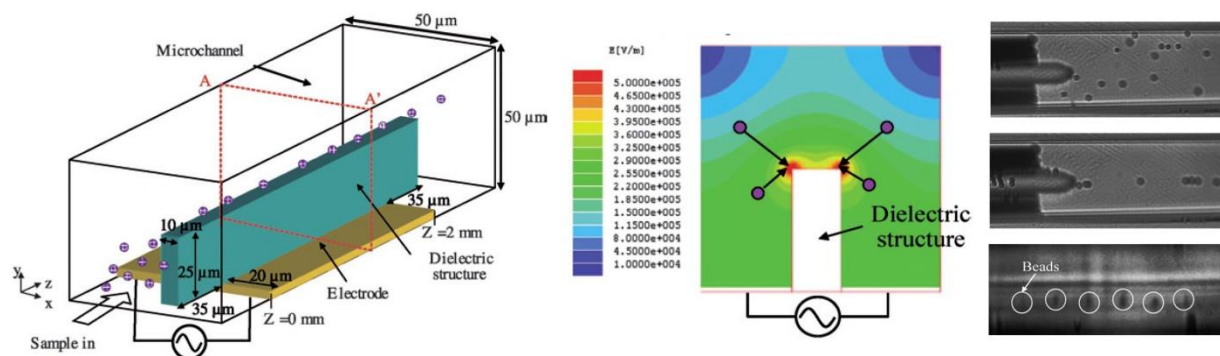


Figure 1-10 - Concentrateur utilisant la DEP positive pour attirer des particules vers un obstacle central. (Hyungjung et coll. 2009[46])

1.4 Fabrication de dispositifs microfluidiques

1.4.1 Méthode courante

Une méthode couramment utilisée afin de fabriquer des dispositifs microfluidiques 2D est la lithographie douce ou « soft lithography ». La forme des microcanaux est modélisée dans un logiciel de CAD afin de pouvoir imprimer son empreinte. La projection de la force des canaux est ensuite imprimée à l'aide d'une imprimante à haute résolution sur une acétate transparente. Cette acétate devient le masque qui servira à la photolithographie.

Une résine photosensible est étendue sur une surface comme un substrat de silicium et elle est irradiée aux rayons UV à travers le masque. L'impression sur le masque empêche une partie de la résine d'être irradiée. Cette partie reste insoluble alors que le reste devient soluble dans un solvant appelé développeur qui est propre à chaque résine. La partie soluble est dissoute pour laisser une empreinte positive des microcanaux.

Du polydiméthylsiloxane (PDMS) liquide, un polymère utilisé comme base du silicone, est versé sur cette empreinte. Après son durcissement, le PDMS est retiré de l'empreinte. Le bloc de PDMS contient maintenant les microcanaux. La méthode est montrée schématiquement à la Figure 1-11. Ceux-ci ont une surface libre, mais peuvent facilement être recouverts d'une plaque de PDMS collée en utilisant un plasma d'oxygène pour générer l'adhésion[49].

Cette méthode a été largement utilisée dans la fabrication de dispositifs utilisant la iDEP[3, 6-8, 39-44].

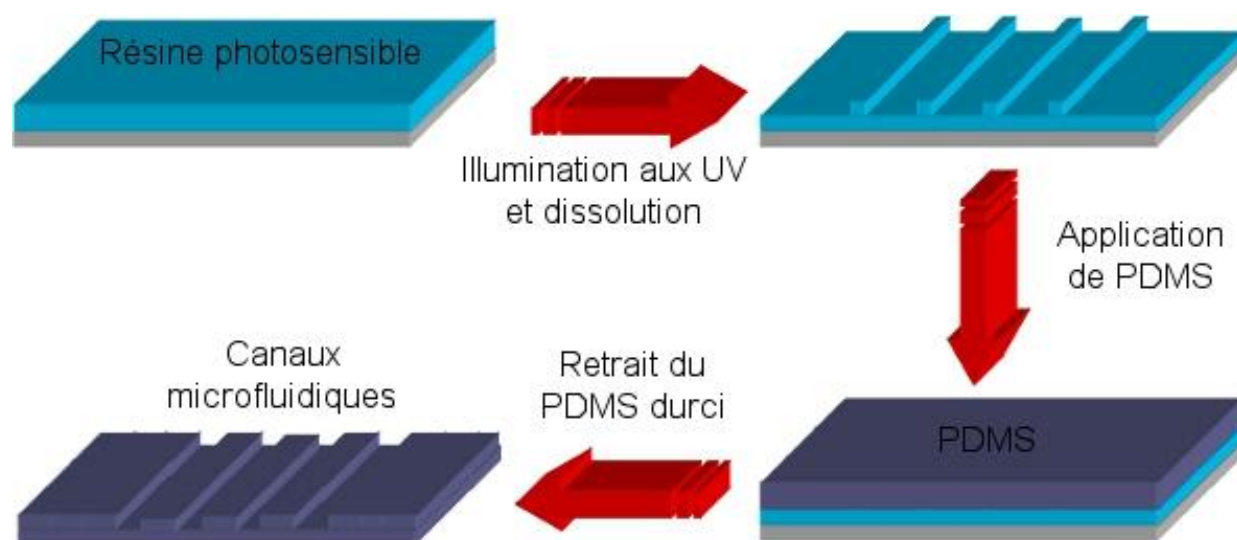


Figure 1-11 - Illustration de la méthode de lithographie douce (adapté de www.intechopen.com)

1.4.2 Écriture directe

L'écriture directe est un ensemble de techniques qui permet la déposition de matériau sur un substrat. Ces techniques comprennent notamment l'impression à jet d'encre, l'impression de matériaux thermofusibles, le microstylo et la déposition robotisée[50]. Contrairement aux méthodes de microfabrication conventionnelles qui nécessitent des masques, l'écriture directe est un processus additif qui n'en nécessite pas. L'écriture directe utilise des matériaux ayant des propriétés rhéologiques adaptées à l'application désirée. Il existe deux grandes familles d'écriture directe: la déposition goutte-à-goutte et la déposition filamentaire.

La déposition filamentaire robotisée est la technique utilisée durant ce projet. Elle consiste en la déposition de filaments d'un matériau visqueux sur un substrat. Un actuateur pneumatique est utilisé pour extruder le matériau à travers un embout dont la trajectoire est contrôlée par un bras robotisé.

La déposition robotisée permet la création de canaux microfluidiques lorsque les structures déposées sont faites d'un matériau fusible. L'encre fusible, ou encre fugitive, est encapsulée dans un matériau qui fond à plus haute température ou qui ne fond pas comme l'époxy. L'encre fugitive est ensuite chauffée afin de la faire fondre et retirée. Le matériau qui encapsulait l'encre contient alors des canaux vides[51]. La Figure 1-12 montre la fabrication de microcanaux par

écriture directe. Les applications microfluidiques pour de tels canaux sont nombreuses, notamment les puces microfluidiques[52], le mélange de solutions à l'échelle microfluidique[51] et l'échange de chaleur[53].

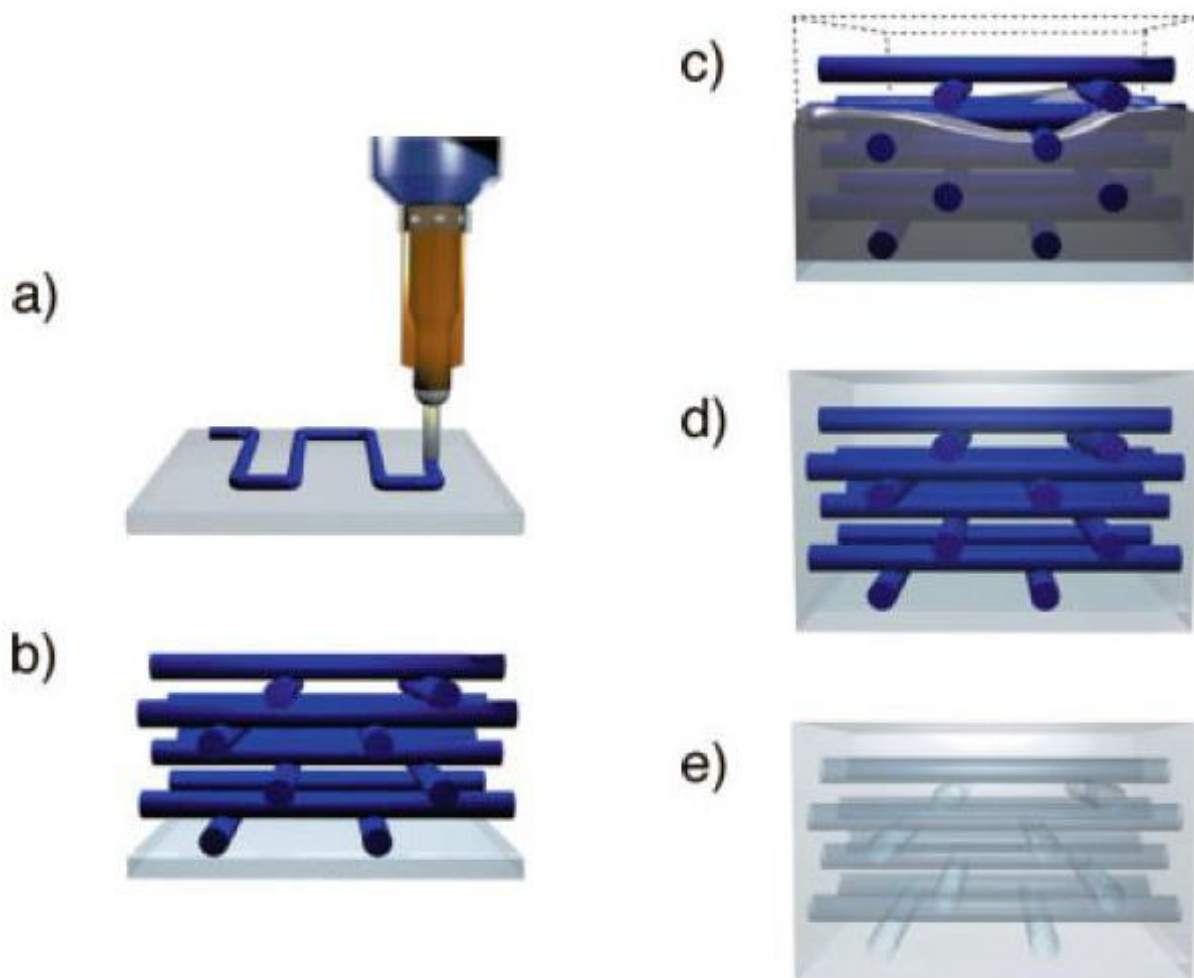


Figure 1-12 - Fabrication de microcanaux par écriture directe. (Therriault et coll. 2005[54])

Une autre méthode permettant la fabrication de microcanaux est la dépolymérisation catalytique de l'acide polylactique polymère (PLA). Des filaments de PLA traités à l'aide d'oxalate stanneux (SnC_2O_4) voient leur température de dépolymérisation réduite d'environ 80°C par rapport à un filament non traité[55]. Un filament de PLA traité et encapsulé peut donc être dépolymérisé pour créer un canal. En dissolvant le PLA dans une suspension de dichlorométhane contenant de l'oxalate stanneux, celui-ci peut être déposé par écriture directe. Une fois encapsulés, les

filaments sont chauffés afin de les dépolymériser. Les canaux dans le matériau encapsulant peuvent donc servir à des applications microfluidiques[56].

L'écriture directe peut aussi être utilisée afin de fabriquer des structures 2D ou 3D telles que des fibres microstructurées à haute ténacité[56], des antennes à micro-ondes[56] et électrodes pour des piles à combustible[57-59]. L'utilisation de polymères photosensibles en conjonction avec un système d'illumination UV entraîne le durcissement du matériau à sa sortie de l'embout d'extrusion. Ceci permet ainsi la fabrication de structures 3D autosupportées telles que des ressorts hélicoïdaux[60-62]. Des structures autosupportées équivalentes peuvent être fabriquées en déposant un polymère en solution dans un solvant volatil tel que l'acide polylactique polymère dissout dans le dichlorométhane[56]. Suite à l'extrusion de la solution, le solvant s'évapore ce qui rigidifie la solution et lui permet de garder sa forme. La Figure 1-13 montre une application possible de l'écriture directe assistée par UV. Cette jauge de déformation constituée d'un nanocomposite époxy-nanotubes de carbone conducteur voit sa conductivité modifiée par la déformation des hélices lorsqu'elles sont comprimées.

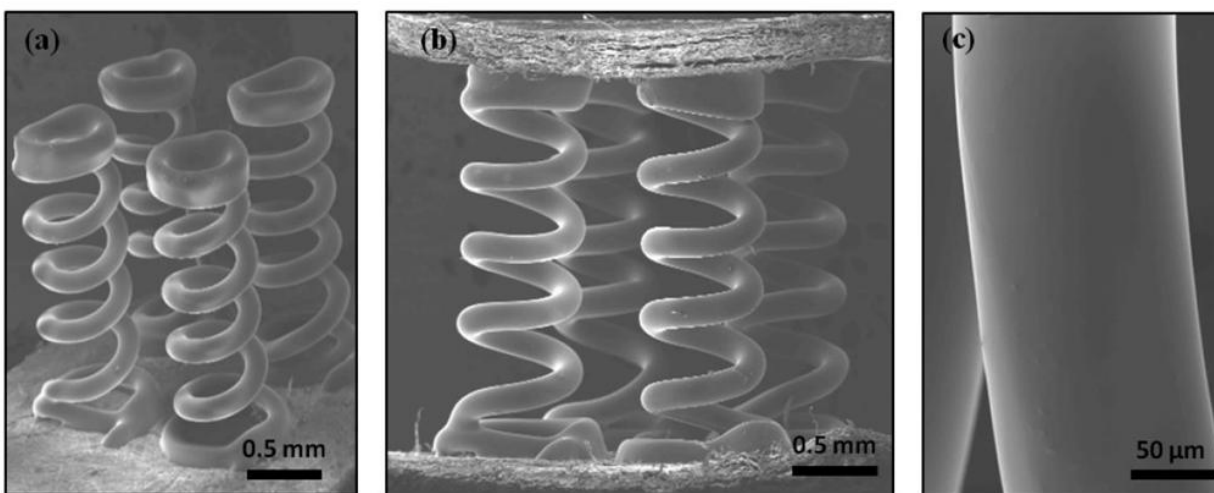
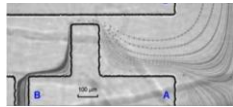
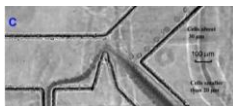
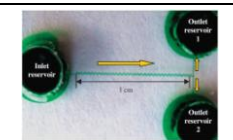
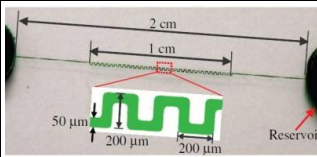
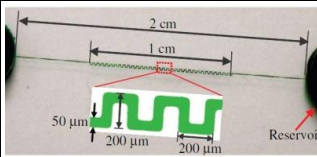
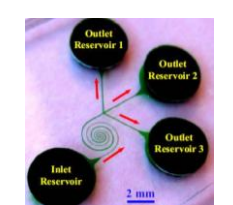
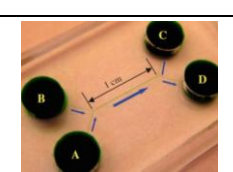
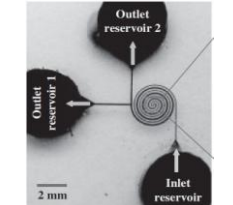


Figure 1-13 - Image MEB d'une jauge de déformation constituée de quatre hélices de nanocomposite époxy-nanotubes de carbone. Ces hélices ont été fabriquées par écriture directe UV. (Farahani et coll. 2012[63])

1.5 Synthèse des séparateurs iDEP

Le projet présenté dans ce mémoire consiste en la fabrication d'un séparateur de particules diélectrophorétique basée sur la iDEP. À des fins de comparaisons, le tableau synthèse ci-dessous répertorie les types de séparateurs ainsi que les types de particules séparés et l'efficacité obtenue. La majorité des articles rapportant des séparateurs iDEP ne donnent pas d'efficacité précise malgré que les séparateurs rapportés ont tous une bonne efficacité[6, 39, 40].

Tableau 1.1 – Synthèse des séparateurs de particules iDEP rapportés dans la littérature

Auteurs	Année	Type de géométrie	Encombrement (cm ²)	Dimension des canaux (μm)	Particules séparées	Taille (μm)	Efficacité (%)	Image
Kang et coll.[6]	2008	Obstacle rectangulaire	5.25	W: 300 μm H: 45 μm	Globules rouges Globules blancs Débris cellulaires	< 5 8 - 14 < 5	-	
		Obstacle triangulaire	5.25	W: 300 μm H: 45 μm	Cellules mammaires cancéreuses	20 - 60	-	
Church et coll.[8]	2011	Serpentin	2.7	W: 50 μm H: 15 μm	Part. de polystyrène	1 3	>90	
Church et coll.[40]	2010	Serpentin	2.1	W: 50 μm H: 25 μm	Part. de polystyrène	2.2 5	-	
Church et coll.[39]	2009	Serpentin	2.1	W: 50 μm H: 25 μm	Bactéries E. Coli Levures	≈ 1 ≈ 5	-	
Zhu et Xuan[3]	2011	Spirale	4	W: 50 à 100 μm H: 25 μm	Part. de polystyrène Part. de polystyrène enduites de carboxyle	10 10	98 95	
			4		Part. de polystyrènes Part. de polystyrènes Part. de polystyrènes enduites de carboxyle	5 10 10	-	
Zhu et coll.[44]	2011	Serpentin	4.33	W: 50 μm H: 25 μm	Part. de polystyrène	1 5	-	
			4.33		Part. de polystyrène Levures	3 4 - 8	94 98	
Zhu et coll.[42]	2010	Spirale	2.68	W: 50 à 100 μm H: 25 μm	Part. de polystyrène	5 10	100 100	
			2.68		Part. de polystyrène	3 5	<100	

CHAPITRE 2 DÉMARCHE ET PERTINENCE DE L'ARTICLE

2.1 Démarche du travail de recherche

L'objectif premier du travail était de poursuivre un travail amorcé dans notre groupe de recherche. Le séparateur fabriqué dans cette phase du projet utilisait l'écriture directe afin de fabriquer des électrodes hélicoïdales pour un séparateur par affinité différentielle. La séparation avait lieu dans une chambre microfluidique relativement volumineuse. Le projet présent dans ce mémoire représentait donc la phase 2 de ce projet de séparateur de cellules diélectrophorétique utilisant l'écriture directe.

La première étape du travail a été la familiarisation avec l'état de l'art en ce qui concerne la diélectrophorèse. Durant cette étape, les limitations de l'affinité différentielle et le potentiel de la iDEP sont apparus clairement. Ainsi, le concept de base du séparateur a été décidé durant cette phase. L'utilisation de l'écriture directe, afin de créer des microcanaux courbés dont la forme sert à générer un gradient de champ électrique, a été décidée à ce point.

Le but original du projet était de fabriquer un séparateur hélicoïdal en utilisant la dépolymérisation catalytique du PLA. La première étape du projet consistait donc à faire des tests de dépolymérisation afin de trouver les paramètres optimaux afin de créer des microcanaux utilisables. La concentration de catalyseur nécessaire, le diamètre des filaments, la température, le temps et la pression de dépolymérisation ont été testés afin de déterminer les conditions optimales. Des tests de déposition de filaments et de dépolymérisation de filaments seuls ont été effectués en premier lieu. La dépolymérisation de filaments encapsulés dans de la résine d'époxy a été testée par la suite. Ces tests ont révélé que la dépolymérisation de filaments longs était associée à plusieurs problèmes dont la résolution entraînerait des délais dépassant le temps alloué à ce projet.

Le projet a donc été réorienté vers une fabrication des microcanaux basée sur la déposition, l'encapsulation et l'évacuation d'encre fugitive. Cette technique a été largement employée dans notre groupe de recherche donc l'expertise existait déjà[51-54, 61, 63-67] contrairement à la technique utilisant le PLA.

Des prototypes de séparateurs 2D en forme de spirale ont été fabriqués afin de perfectionner les techniques de déposition et d'évacuation. Spécifiquement, ces tests ont permis d'identifier des problèmes au niveau de la déposition des réservoirs. En effet, malgré le soin pris afin de rendre les réservoirs étanches, la résine d'époxy s'infiltrait tout de même. Ce problème et quelques autres ont été réglés durant la phase de déposition de prototypes 2D. Des tests de séparation ont ensuite été effectués en utilisant les prototypes 2D fabriqués. Ces tests ont donné des résultats médiocres en terme de séparation, mais ont permis d'identifier des problèmes au niveau du montage électrique. Par exemple, la composition de la solution servant à suspendre les particules a été déterminée durant ces tests. De plus, la nécessité d'utiliser une résistance en parallèle du séparateur afin d'assurer un courant minimum à travers le circuit, comme le montre la Figure 2-1, a été constatée durant ces tests.

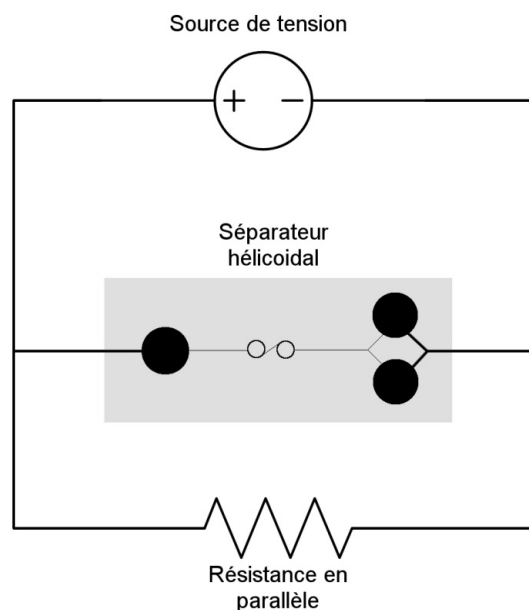


Figure 2-1 – Schéma électrique du montage expérimental de séparation.

Par la suite, le processus de fabrication du séparateur hélicoïdal a été mis au point. La déposition des hélices nécessite l'utilisation d'un mandrin rotatif entraîné par un moteur électrique. Le programme de contrôle du moteur a été mis au point afin de pouvoir contrôler le pas des hélices. Les étapes d'assemblage et de connexion des hélices et des réservoirs représentent un processus complexe qui a nécessité l'essai de plusieurs méthodes avant d'obtenir des connexions dont l'effet nuisible sur la séparation était acceptable. La méthode retenue a nécessité l'utilisation de l'écriture directe alliée à des opérations manuelles pour les connexions aux réservoirs. De plus, la

connexion entre les deux hélices a été faite après une première encapsulation et a été suivie d'une deuxième encapsulation. Ce procédé long et complexe est celui qui a donné la géométrie la moins susceptible de nuire significativement à l'efficacité de séparation. La fabrication de plusieurs prototypes a aussi permis de déterminer de façon empirique le nombre de tours nécessaire à chaque hélice. Cette méthode empirique a aussi été appuyée par une simulation numérique effectuée sur un programme Matlab.

Les tests de séparation ont ensuite été effectués sur le prototype final. Ces tests avaient pour but de séparer des particules de polystyrène de 4 et 10 μm de diamètre. Ces dimensions de particules sont similaires à celles utilisées dans certaines expériences par Zhu et Xuan[3]. Afin d'obtenir la meilleure efficacité de séparation, des tests ont été faits avec plusieurs tensions.

2.2 Présentation de l'article et cohérence avec les objectifs de recherche

L'article présenté au Chapitre 3 de ce mémoire représente l'achèvement du projet. En effet, cet article a été rédigé à la fin du projet après les tests de séparation. Il a été soumis à la revue *Nanoscale* le 24 octobre 2013. L'accusé de réception de l'article est inclus à la page suivante. Cette revue publiera un numéro spécial sur les structures hélicoïdales au début de 2014. Elle représente donc une plateforme idéale pour la présentation d'une application innovatrice des structures hélicoïdales comme un séparateur diélectrophorétique. Les principaux résultats de l'article sont :

- La capacité de fabriquer un séparateur de particules diélectrophorétique hélicoïdal en utilisant l'écriture directe.
- Une flexibilité au niveau du nombre de tours de chaque hélice que ne possèdent pas les séparateurs en spirale.
- Un encombrement inférieur de 35 % par rapport au prototype en spirale de Zhu et Xuan[3].
- Une efficacité de séparation de 94.0 % et 92.5 % pour des particules de polystyrène de 4 et 10 μm , respectivement, en utilisant une tension de 900 VDC.

En somme, cet article présente une preuve de concept pour les séparateurs diélectrophorétiques hélicoïdaux.

CHAPITRE 3 ARTICLE 1 : HELICAL DIELECTROPHORETIC PARTICLE SEPARATOR FABRICATED BY CONFORMAL SPINDLE PRINTING

N. Guérin, M. Lévesque, D. Therriault

Nanoscale

Laboratory for Multiscale Mechanics, Mechanical Engineering Department, École Polytechnique de Montréal, C.P. 6079, succ. Centre-Ville, Montréal, QC H3C 3A7, Canada

E-mail: daniel.therriaultpolymtl.ca

This paper reports the fabrication and testing of a helical cell separator that uses insulator-based dielectrophoresis as the driving force of its separation. The helical channel shape's main advantage over 2D spiral-shaped separators is its constant curvature radius which generates a constant electric field gradient. The presented separator was fabricated by extruding a sacrificial ink on rotating spindles using a computer-controlled robot. After being assembled, connected to the reservoir and encapsulated in epoxy resin, the ink was removed to create a helical microchannel. The resulting device was tested by circulating polystyrene microbeads of 4 and 10 μm diameter through its channel using a voltage of 900VDC. The particles were separated with efficiencies of 94.0% and 92.5%, respectively. However, roughness in some parts of the channel and connections that had larger diameters compared to the channel created local electric field gradients which, doubtless, hindered separation. It is a promising device that could lead the way toward portable and affordable medical devices.

3.1 Introduction

Cell separation is an essential part of the sample preparation prior to medical testing, as in the case of the concentration and separation of erythrocytes from other blood for the detection of malaria[21]. Current techniques for this key step rely on large and expensive equipment[29, 30] that cannot easily be used outside laboratories and hospitals. The miniaturization of the medical

diagnostic equipment would facilitate field testing and could reduce the time between sample collection and eventual treatment. As a matter of fact, approximately 95% of the time needed to obtain molecular diagnostic data is associated to sample collection, transportation and preparation[22].

Dielectrophoresis (DEP) is the physical process by which forces are applied to particles polarized by an inhomogeneous electric field. DEP can efficiently be used to separate particles since the magnitude and orientation of the forces depend on different properties such as the radii of the particles, the permittivities of the particles and medium as well as the electric field gradient. As such, DEP has been used to separate carbon nanotubes by chirality[68]. Moreover, DEP has been widely investigated as the operating principle for miniaturized medical devices[3, 5, 6, 8, 21, 23, 28, 33, 69].

The first type of DEP to be discovered[17] is the electrode-based DEP in which the inhomogeneity of the electric field arises from the shape of the electrodes generating the electric field such as pinlike electrodes[18] or interdigitated electrodes[70]. In a separator application, the electrodes are the driving force of the separation and must necessarily be placed where the separation occurs. This electrode placement presents some important disadvantages such as Joule heating[4, 38] and electrolysis of the suspending medium which can alter the trajectory of the particles and greatly hinder the separation[7].

In insulator-based dielectrophoresis (iDEP), the device is non-conductive and the inhomogeneity of the electric field arises from the shape of the device itself[71]. The main advantage resides in the fact that the electrodes are located away from the separation site, usually in the input and output reservoirs of the device. Joule heating and electrolysis can still occur but they do not significantly disrupt the separation process since they take place far from the location where the separation itself occurs[38].

Different iDEP-based separator shapes have been proposed such as an insulating hurdle[6], a serpentine[8] and a planar spiral shape[3]. These devices were fabricated by a conventional microfabrication technique called soft lithography. Spiral-shaped separators, such as the prototype proposed by Zhu and Xuan[3], can efficiently separate many types of particles with a simple design. One of the main challenges with spiral separators is that the force applied on a given particle is inversely proportional to the curvature radius of the channel. Depending on the

particle properties, longer channels lengths might be required for efficient separation. Longer channels imply larger curvature radius and lower separating forces. Consequently, spiral separators have a limited operational window.

This important shortcoming could be overcome by using a three-dimensional (3D) spiral equivalent: the helix. In a helical channel, the curvature radius is constant, thus resulting in constant separation forces throughout the channel regardless of its length. Despite being very powerful for the fabrication of 2D shapes, conventional microfabrication methods, such as soft lithography, are incapable of producing complex 3D shapes such as a helical microchannel.

This article reports a new 3D iDEP particle separator relying on helical microchannels fabricated by conformal spindle printing. This method consists of a computer-controlled fugitive ink deposition on rotating spindles creating helices that are assembled and connected to reservoirs before being encapsulated into an epoxy resin. The ink is removed to create the helical channels. Although 3D devices have been reported[32, 46, 69, 70, 72], this new device surpasses all existing 3D devices by the complexity of its shape.

This paper presents the operating principle of the separator, its design, its fabrication process, the particle suspension preparation and the description of the separation experiments, respectively. The fabrication capabilities and separation results are presented next, followed by concluding remarks.

3.2 Experimental Methods

3.2.1 Dielectrophoresis Theory

Particles suspended in a medium between two electrodes under tension are polarized by the ensuing electric field. Charges inside the particles accumulate near the particle-medium interfaces and attract charges inside the medium. Charges also accumulate at the interfaces on the medium side. These accumulations of electric charges form what are called electric double layers[6].

The polarizabilities of both medium and particles determine the relative quantity of charges inside and outside the particles. As negative and positive charges attract, and effectively cancel each other, electric dipoles are created. These relative differences determine the orientation of the dipoles[6].

A net dipole inside an electric field is subjected to forces resulting from the attraction of opposite charges and the repulsion of identical charges. In the case of a symmetrical electric field generated by electrodes of identical sizes and shapes, for example, the forces cancel each other and no resulting force occurs. If the electric field is inhomogeneous, when electrodes of different sizes are used for example, a resulting force is applied on each particle. This force can be expressed by[73]:

$$\mathbf{F}_{DEP} = 2\pi\epsilon_m a^3 f_{CM} \nabla |\mathbf{E}|^2 \quad (5)$$

where ϵ_m is the permittivity of the medium, a is the radius of the particle, f_{CM} is the Clausius-Mossotti factor and E is the electric field. In a DC electric field, the Clausius-Mossotti factor is given by[74]

$$f_{CM} = \frac{\sigma_p - \sigma_m}{\sigma_p + 2\sigma_m} \quad (6)$$

where σ_p and σ_m are the conductivity of each particle and the medium, respectively. This factor, which varies from -0.5 to 1, determines if the particles are attracted or repulsed by regions of high electric field intensity[75]. The Clausius-Mossotti factor also affects the value of the dielectrophoretic force. By carefully selecting the medium conductivity, f_{CM} can be tailored to obtain the required force, the absolute maxima being bounded by the extreme values of -0.5 and 1.

Particles being acted upon by dielectrophoresis accelerate inside the medium. The acceleration is dictated by the dielectrophoretic force and by the drag. As the velocity of the particles increase, so does the drag. When those two forces become equal, the particles reach their terminal velocity. Usually, the particles reach their terminal velocities inside the medium in a very short time (in the order of 10^{-4} s for 10 μm particles)[7]. The acceleration phase can then be neglected and velocity can be used instead of force to provide a clearer understanding of the particle behavior. The velocity of particles subjected to DEP is given by[43]

$$\mathbf{U}_{DEP} = \mu_{DEP} \nabla |\mathbf{E}|^2 \quad (7)$$

where μ_{DEP} , a measure of the impact of the electric field gradient on the particle velocity, is called the dielectrophoretic mobility. It is given by[43]

$$\mu_{DEP} = \frac{2\varepsilon_f a^2 f_{CM}}{3\mu_f} \quad (8)$$

where μ_f is the fluid viscosity.

3.2.2 3D separator operation principle and design

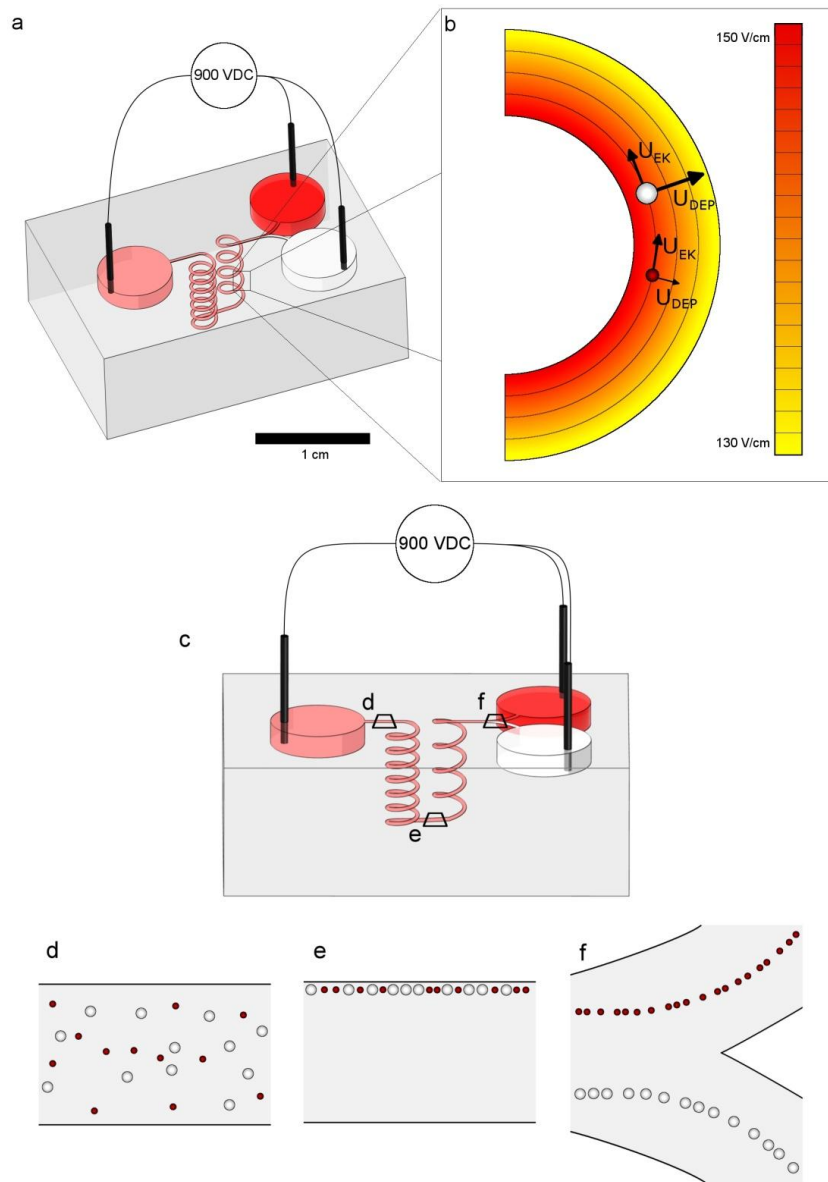


Figure 3-1 – Schematics of the design and operation of the helical separator a) Isometric view of the separator. The inlet reservoir contains a mixed suspension which is separated into its two constituents which are present in the outlet reservoirs. b) Illustration of the electric field intensity in the curved channel for a voltage of 900 VDC and its effect on particles. c) Slightly inclined side view of the separator showing three stages of particle separation with a 900VDC voltage. d) Randomly distributed particles enter the first helix. e) Particles are aligned after their transit through the first helix. f) Separated particles exit the second helix and are split toward the two output reservoirs.

Figure 3-1-a shows the design of the 3D separator that consisted of one inlet reservoir, two outlet reservoirs and a channel connecting the inlet to the outlet. In order to separate a bimodal particle dispersion, the channel and output reservoirs were filled with a conductive aqueous sodium chloride solution. The input reservoir was filled with the particle dispersion. Three electrodes made of 250 μm diameter gold wire, were immersed in the reservoirs. A DC voltage was then applied between the inlet and outlet as shown in Figure 3-1-a.

The electric field distribution for a voltage of 900 VDC is shown in Figure 3-1-b. The field values were obtained using COMSOL Multiphysics (Comsol, Burlington, MA, USA). Under the influence of the electric field, the particles were subjected to tangential forces resulting from electrically-induced phenomena called electroosmosis and electrophoresis and the resulting particle velocities are noted U_{EK} . The particles entered the channel leading to the first helix in a random arrangement as shown in Figure 3-1-c. Upon entering the first helix, the particles were subjected to radial dielectrophoretic forces resulting in velocities noted U_{DEP} and given by equation (7). These velocities were toward the outside wall of the channel and their magnitude depended on the size of the particles. The larger particles had a larger radial velocity than the smaller particles. Due to the sufficient length of the first helix, both types of particles reached the outside wall and were aligned when exiting the first helix, as shown in Figure 3-1-e. This first step was crucial in order to separate the particles because their random positions would nullify the effect of the difference in U_{DEP} rendering separation nearly impossible.

After the alignment, the particles entered the second helix which was coiled in the opposite direction and in which the outside wall became the inside wall. The electric field gradient pushed the particles with the same respective velocities toward the outside wall. The difference in velocities separated the particles until they reached the end of the second helix. That length was shorter than that of the first helix to insure that the particles did not reach the outside wall but were properly positioned with respect to the bifurcation shown in Figure 3-1-f. The particles were then collected in the outlet reservoirs.

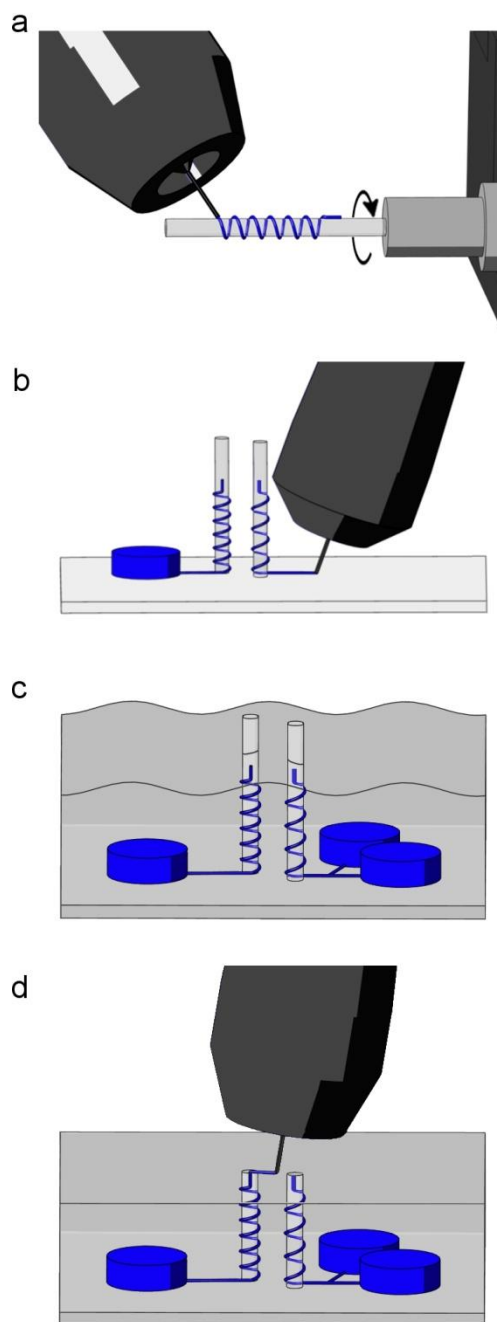


Figure 3-2 - Fabrication steps of the helical separator. a) Deposition of the fugitive ink on a rotating spindle. b) Deposition of the reservoirs and filaments linking the upright helices to the reservoirs. c) Encapsulation of the reservoirs and filaments in liquid epoxy resin. d) After curing, the top part of the epoxy is cut to expose the filaments that are connected with another fugitive ink filament.

3.2.3 Separator fabrication

The microchannels were fabricated using the direct-write fabrication method[51]. The sacrificial ink, which is made of 70 wt% of petroleum jelly (Unilever, Toronto, Canada) and 30 wt% microcrystalline wax (Strahl & Pitsch inc., West Babylon, NY, USA), was extruded through a steel nozzle by the piston.

Fugitive ink was deposited on rotating epoxy 1.2 mm diameter spindles with the direct-write method to create the helices, as shown on Figure 3-2-a. This particular diameter of spindle, which determined the curvature radius, was chosen because of ease of fabrication. These spindles were rotated using a precision electric motor (VT-80, Pi Micos GmbH, Eschbach, Germany). For each helix, a straight section was deposited first to facilitate the connection of the channels. The helix was deposited on the rotating spindle and followed by another straight section. The first helix had 6 coils and the second had 4. These numbers of coils were determined by analysis of the results of previous prototypes. They were both made using a 100 μm nozzle and a pressure of 550 kPa. This nozzle size was chosen because of its availability.

The two epoxy spindles were carefully glued upright on a glass slide. The inlet and outlet channels were deposited and connected to the lower part of the helices as shown on Figure 3-2-b. The bifurcation was completed by depositing its second branch and flattening the connection. The reservoirs were fabricated by depositing circular walls 1.5 mm high and with a diameter of 5 mm which were subsequently filled with fugitive ink to prevent epoxy resin infiltration during the encapsulation step. The entire apparatus was encapsulated with a two-part liquid epoxy (Epon 862 / Epikure 3274, Momentive, Columbus, OH, USA) and left to cure as illustrated in Figure 3-2-c. The top section of the epoxy was then carefully cut using a precision saw (Isomet Low Speed Saw, Buehler Canada, Whitby, ON, Canada) to prevent the introduction of foreign particles that could clog the channels. The two exposed filaments were then connected with a filament of fugitive ink deposited with a 100 μm nozzle thus completing the connection of all the filaments as shown on Figure 3-2-d. This last filament was encapsulated with epoxy and left to cure. The glass slide was removed to expose the filaments. The encapsulated model was heated in boiling water to melt the ink that was then removed by applying vacuum to one end of the channel. Any remaining ink residue was dissolved and removed by circulating hexane through

the channel. The remaining epoxy block had empty channels and reservoirs and constituted a finished and functional separator.

3.2.4 Suspension preparation

The particle suspension was prepared by mixing 4 and 10 μm polystyrene microbeads (Fluka Analytical, Buchs, Switzerland) with an aqueous solution of 100 ppm of sodium chloride. The solution was also used without particles to fill the channel and the outlet reservoirs. The final suspension had a conductivity measured of 210 $\mu\text{S}/\text{cm}$ and contained approximately 5×10^6 particles per mL of each type for a total of 10^7 particles per mL. The conductivities of the particles were 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$ and 4 $\mu\text{S}/\text{cm}$ for the 4 μm and 10 μm particles, respectively (these conductivities were calculated using the surface conductance recommended by Ermolina and Morgan[76]). The Clausius-Mossotti factor of both particle types were computed as -0.465 and -0.486 for the 4 μm and 10 μm particles, respectively, from Equation (6). These values are very close to the theoretical minimum of the Clausius-Mossotti factor of -0.5, which means that, during separation experiments, the particles were pushed toward the regions of low electric field value with forces very close to the maxima allowed by a negative Clausius-Mossotti factor. The specific gravity of polystyrene being 1.05, the particles tended to settle. Manual stirring was required before the particle introduction in the inlet reservoir.

3.2.5 Separation experiments

The outlet reservoirs and channel were filled with the NaCl solution using a syringe. The inlet reservoir was then filled with approximately 30 μL of particle suspension using a pipette. The gold electrodes were immersed inside the reservoirs. The voltage was supplied by a 1000 VDC electrophoresis power supply (FB1000Q, Cole-Parmer, Montréal, Canada). The inlet reservoir received the positive potential and the outlet reservoirs were grounded. The reservoirs were carefully filled to the same level to avoid the interference of a pressure induced flow.

3.2.6 Image analysis

Particle motion was captured using an Evolution VF Camera (MediaCybernetics, Rockville, MD, USA) and an SZX12 stereomicroscope (Olympus, Richmond Hill, Ontario, Canada). Close-up fluorescent optical images were taken using an Evolution VF camera and a BX61 microscope

(Olympus). Pictures were treated with Image Pro 7 (MediaCubertics). Close-up images were assembled from several images with different focus heights to extend the depth of field.

3.3 Results and discussion

3.3.1 Analysis of fabricated separator geometry

Figure 3-3-a shows the completed 3D separator having a total microchannel length of 65 mm and a planar footprint is 2.6 cm^2 . The planar footprint of the spiral separator of Zhu and Xuan[3] was 4 cm^2 . The effective separation length, which was comprised of the two helices and their connection, was 42 mm. The curvature radius of the helices at the center of the channels, which takes into account the channel roughness, was $0.650 \pm 0.004 \text{ mm}$. The channel in the helical part of the separator, which is shown in Figure 3-3-b, had a diameter of $111 \pm 6 \text{ }\mu\text{m}$. The three straight channel parts were fabricated with the same procedure. Their width should have been similar. Two of the three were similar with a width of $147 \pm 4 \text{ }\mu\text{m}$. However, the top channel (shown in Figure 3-3-c) had a width of $215 \pm 15 \text{ }\mu\text{m}$. This difference can be seen in Figure 3-3-c where the angled part is smooth and the horizontal part is wider and more jagged. The junction between the different parts of the channel, such as those visible at the bottom of Figure 3-3-b and the top of Figure 3-3-d, had a diameter of $216 \pm 54 \text{ }\mu\text{m}$.

The overall dimensions and shape of the designed separator were respected. The curvature radius was relatively constant in the device and the channel dimensions had variations of less than 7%. Despite the overall smoothness, one part of the output channel had some visible roughness that induced local electric field gradients and could potentially have hindered the separation. The difference between the total length and the effective length did not contribute to the separation but reduced the available voltage in the helices. The connections between the different parts of the channel had diameters that were nearly twice that as large as the average diameter of the helices, which also created local electric field distortions. Finally, the fabrication process is complex and heavily reliant on manual operations.

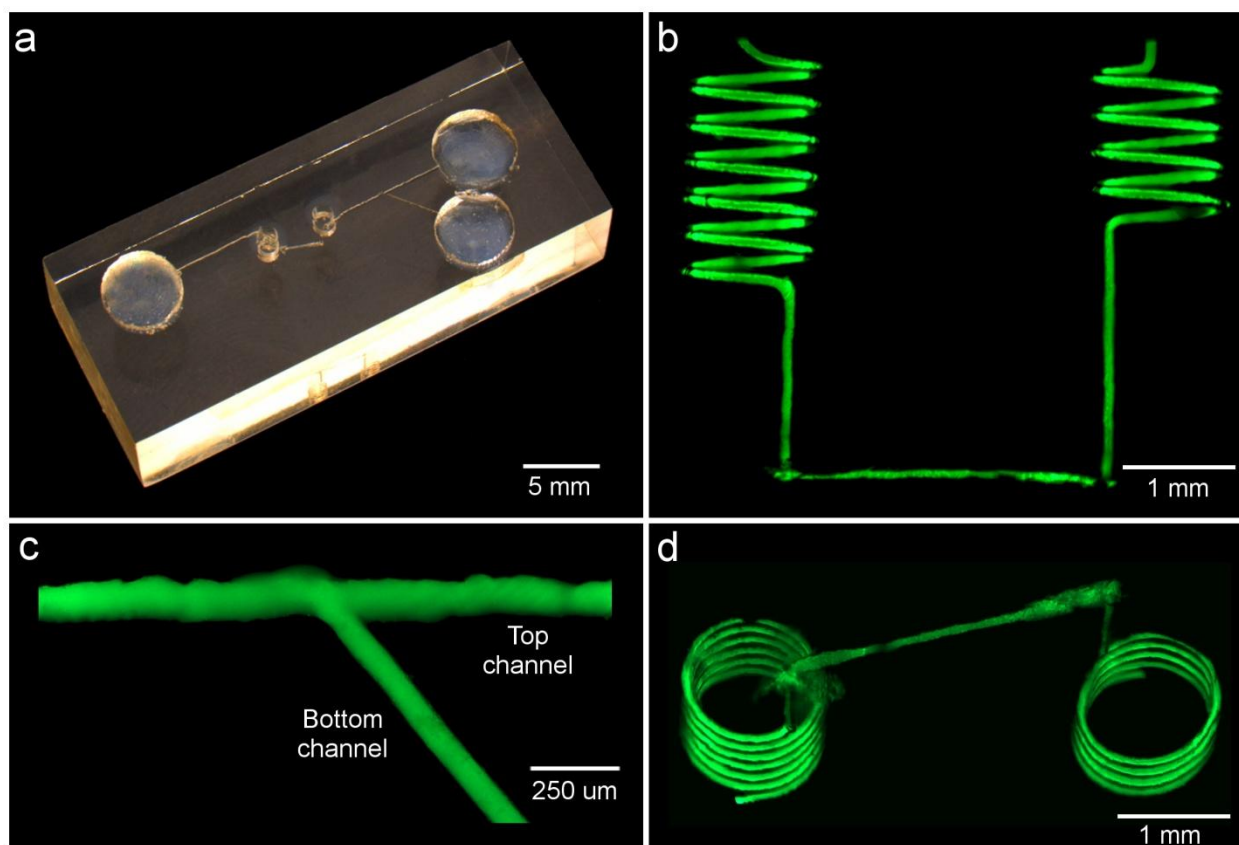


Figure 3-3 –a) Optical image of the fabricated separator. b) Fluorescent side view image of the two helices. c) Fluorescent top view image of the bifurcation. d) Fluorescent slightly inclined bottom view of the two helices.

3.3.2 Separation efficiency

Separation experiments have been performed with the method described in section 3.2.5. Voltages between 800 and 1000 VDC were tested. The highest separation efficiency was obtained using a voltage of 900 VDC.

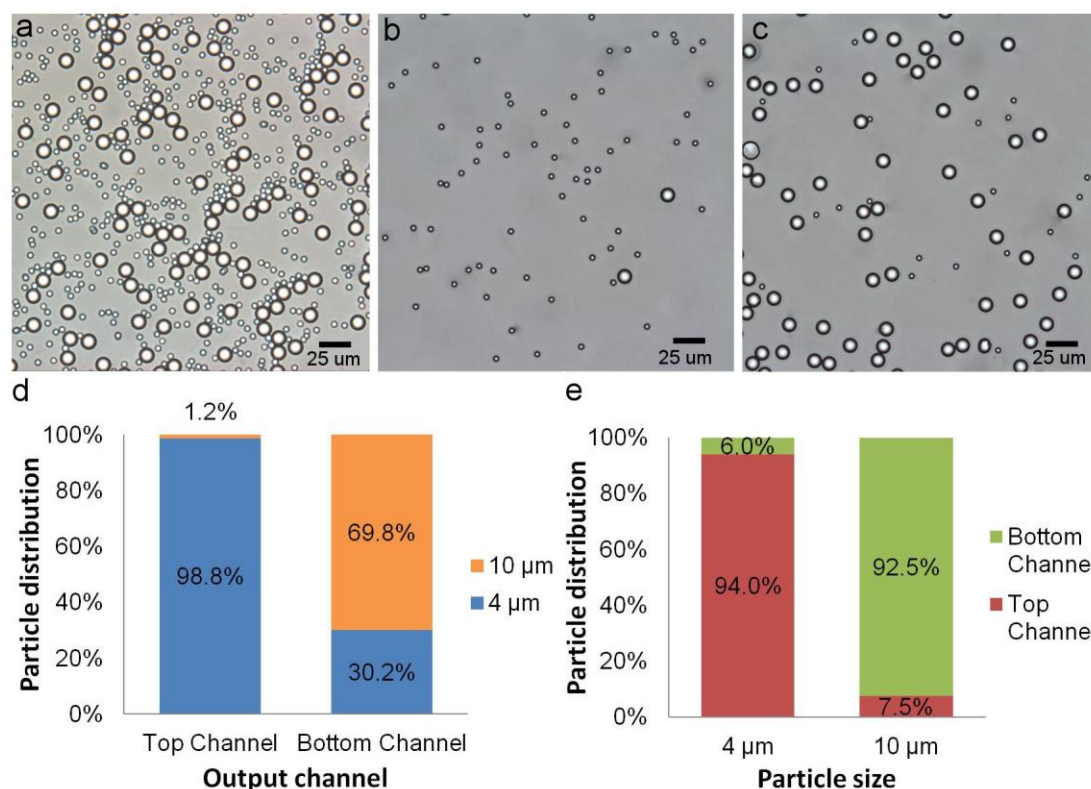


Figure 3-4 - Separation results of the 3D separator using a voltage of 900 VDC. a) Optical image of the 4 μm and 10 μm particles before separation. b) Particles collected from the top reservoir after separation. c) Particles collected from the bottom reservoir after separation. d) Distribution of the particles in each part of the bifurcation e) Destination of the particles after their transit through the separator.

Figure 3-4-a shows the particles before separation. The particles accumulated in both output reservoirs after their separation using a voltage of 900VDC. Figure 3-4-b and c show representative images of the separated particles in each of the reservoirs. Figure 3-4-d shows the separation efficiency calculated by counting the particles as they travelled past the bifurcation inside the top and bottom channels (see Figure 3-3-c). A total of 615 particles was counted from the video of the separation. In total, 98.8 % of the particles reaching the top channel were 4 μm particles and 69.8% of the particles reaching the bottom channel were 10 μm particles. Conversely, only 1.2% of the particles travelling through the top channel were 10 μm particles but 30.2% of the particles travelling through the bottom channel were 4 μm particles. The relatively high number of small particles in the bottom channel can be explained by the fact that the small particles were more numerous altogether in the experiment. This is due to the fact that

the 10 μm particles tend to settle to the bottom faster than the 4 μm particles. The particle suspension was introduced in the input reservoir approximately 30 s before the beginning of the experiment but settling was still an issue, as their sheer number skewed the results. Figure 3-4-e shows the same results but considering the destination of the particles after their transit through the separator. 94.0% of the 4 μm particles separated reached the top channel and 92.5% of the 10 μm particle reached the bottom channel. This presentation of the results is more representative because it takes into account the fact that 4 μm particles were more numerous.

Difficulties were encountered during the separation experiments. The results were difficult to reproduce because valid tests were challenging to obtain. The fine adjustment of the level of solution in each reservoir was especially difficult to make. An uneven level of solution led to pressure-induced flow which deviated the particles and prevented separation. The settling of the particles was also a problem because it skewed the proportion of each type of particles.

Reported 2D separators have efficiencies varying between 90% and a 98%[3, 8]. Church et al. separated 1 and 3 μm polystyrene particles using a serpentine-shaped channel and obtained an efficiency of approximately 90%. Zhu and Xuan[3] used a spiral-shaped separator to separate carboxyl coated and non-coated 10 μm polystyrene particles. They obtained efficiencies of 95% and 98%. These results are comparable to the results obtained in the experiments with the helical-shaped separator. The fabrication process generated geometrical flaws, such as channel roughness and increased cross-section in the connections, which most probably hindered the separation. Considering these shortcomings, the results, and how they compare with other devices, are promising.

3.4 Conclusion

The fabrication of a functional dual helix dielectrophoretic separator was presented in this paper. Separation tests at 900 VDC obtained separation efficiencies of 94.0% and 92.5% for 4 μm and 10 μm particles respectively. These results are similar to those obtained with 2D DEP-based separator that were reported in the literature. These results constitute a definite and encouraging proof of concept for the helical DEP separator because even with some geometrical flaws, the prototype was able to obtain separation efficiencies comparable to 2D devices fabricated using proven fabrication methods. A spiral-shaped separator has two intertwined spirals, thus binding

the length of the two spirals. Having two independent helices, the dual helix shape lends a flexibility in the number of coils that a 2D separator does not have. This allows a precise tailoring of the number of coils for each helix to optimize the separation efficiency. The helical separator also has a smaller planar footprint than a spiral-shaped separator. The efficient length of the helices is not limited because of its constant curvature radius. Helical DEP separators thus have the potential to outperform 2D separators while being more flexible and occupying less space.

CHAPITRE 4 RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES

4.1 Fabrication de canaux microfluidiques par dépolymérisation catalytique du PLA

Le prototype de séparateur hélicoïdal a été fabriqué avec de l'encre fugitive qui a été largement utilisée par notre groupe de recherche pour fabriquer des microcanaux[51-54, 61, 63-67, 77]. Cette méthode est bien connue, mais a nécessité beaucoup de jonctions et d'assemblage manuel. Ces problèmes avaient été envisagés au début du projet et le projet était initialement orienté vers la fabrication de microcanaux par dépolymérisation catalytique de filament d'acide polylactique polymère (PLA). L'utilisation de PLA a plusieurs avantages par rapport à l'utilisation d'encre fugitive. Un des principaux est la possibilité de plier un filament après son extrusion. Ainsi, le séparateur hélicoïdal pourrait être fabriqué avec un plus petit nombre de filaments ce qui diminuerait le nombre de jonctions et améliorerait l'efficacité de séparation.

Dong et al[55] ont présenté une méthode permettant de réduire la température de dépolymérisation du PLA d'environ 80 °C. Cette méthode consiste à immerger des filaments de PLA dans une solution d'oxalate d'étain dissout dans du trifluoroéthanol (TFE). Durant cette immersion, l'oxalate d'étain pénètre dans les filaments et permet la dépolymérisation à une température moindre que celle du PLA pur.

Afin de simplifier le processus et de permettre la déposition par écriture directe de filaments ayant des formes complexes, le catalyseur a été mélangé à la solution de PLA. Ainsi, le catalyseur a été suspendu dans du dichlorométhane (DCM) et soumis à un bain ultrasonique pour briser les agrégats de catalyseur. 25 % massique de PLA en granule ont ensuite été dissout dans cette suspension. Des concentrations de catalyseur allant de 0.25 % à 2.5 % massiques ont été testées afin de déterminer les conditions optimales pour la dépolymérisation.

Des filaments droits ont été déposés avec un embout de 100 μm à une pression d'environ 1.4 MPa sur un substrat de verre. Ils ont été chauffés à une température de 200 °C à une pression de 0.3 kPa durant 20 heures. Les filaments ayant une concentration de 2.5 % de catalyseur sont ceux qui ont été les mieux dépolymérisés. La Figure 4-1 montre des filaments après chauffage. Les filaments contenant 0 % et 0.5 % ne montrent pas de signes de dépolymérisation. Par contre,

les filaments contenant 1 % et 2.5 % de catalyseur sont bien dépolymérisés surtout celui contenant 2.5 % qui ne montre presque pas de traces d'époxy.

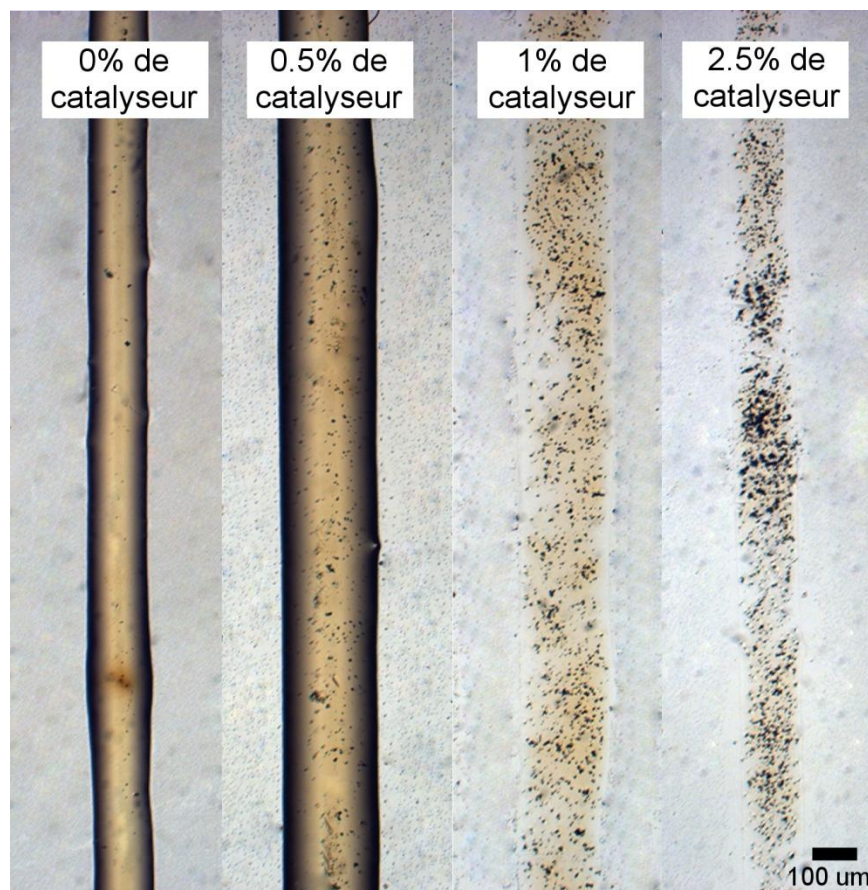


Figure 4-1 - Tests de dépolymérisation sur des filaments nus de PLA à 25 % chauffés à 200 °C à 0.3kPa durant 20 heures.

Des filaments ont ensuite été déposés afin de fabriquer des séparateurs 2D en forme de spirale en utilisant les mêmes paramètres de déposition. Des réservoirs en encre fugitive ont été déposés aux extrémités de ces filaments et le tout a été encapsulé dans de la résine d'époxy. Après durcissement, l'encre fugitive des réservoirs a été retirée pour exposer les filaments de PLA. Le temps de chauffage (200 °C et 0.3 kPa) nécessaire à la dépolymérisation était de 50 heures à cause de la surface limitée de PLA pouvant se dépolymériser lorsqu'il est encapsulé. La Figure 4-2 montre un séparateur après l'encapsulation des filaments de PLA contenant 2.5 % de catalyseur. La Figure 4-2-a) montre le filament en spirale avant le chauffage et la Figure 4-2-b) montre le filament après 50 heures de chauffage à 200 °C et à 0.3 kPa. Les bulles visibles dans le filament sont des bulles d'air qui se sont formées à la surface du filament durant la déposition. La

partie de gauche du filament dans la Figure 4-2-b) n'est pas complètement dépolymérisée ce qui rend le prototype inutilisable.

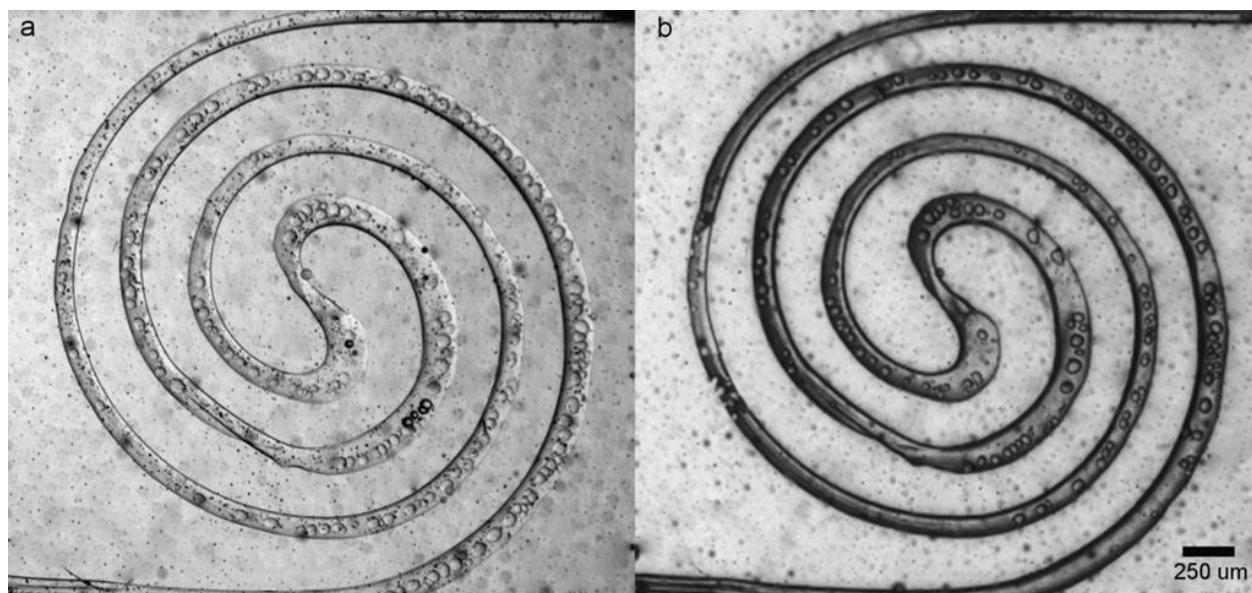


Figure 4-2 - a) Partie centrale d'un prototype de séparateur 2D en PLA (25 % massique) contenant 2.5 % de catalyseur encapsulé dans de l'époxy. b) Partie centrale du même séparateur 2D après un chauffage à 200 °C et à 0.3 kPa durant 50 heures.

La méthode de dépolymérisation catalytique du PLA a la capacité de générer des canaux microfluidiques mais certains problèmes ont été rencontrés durant les expériences de dépolymérisation. Les fronts de PLA qui reculaient dans la spirale en se dépolymérisant concentraient les impuretés présentes dans le PLA. Ces fronts se rencontraient à un point du canal en spirale et créaient un bouchon empêchant la circulation de fluide dans le canal. La Figure 4-3-a) montre un bouchon dans un canal provenant de la concentration d'impuretés durant la dépolymérisation. Ce problème a été réglé par le rinçage à l'acétone de tout le matériel utilisé dans la préparation de la solution de PLA ainsi que des granules de PLA. Aussi, durant la dépolymérisation, l'époxy se déformait ce qui rendait le canal ondulé et qui, parfois, sectionnait le canal entièrement rendant le prototype inutilisable. La Figure 4-3-b) montre un tel sectionnement dans la partie en spirale d'un prototype de séparateur 2D. Les causes de cette déformation sont inconnues, mais elle semble liée au diamètre des filaments.

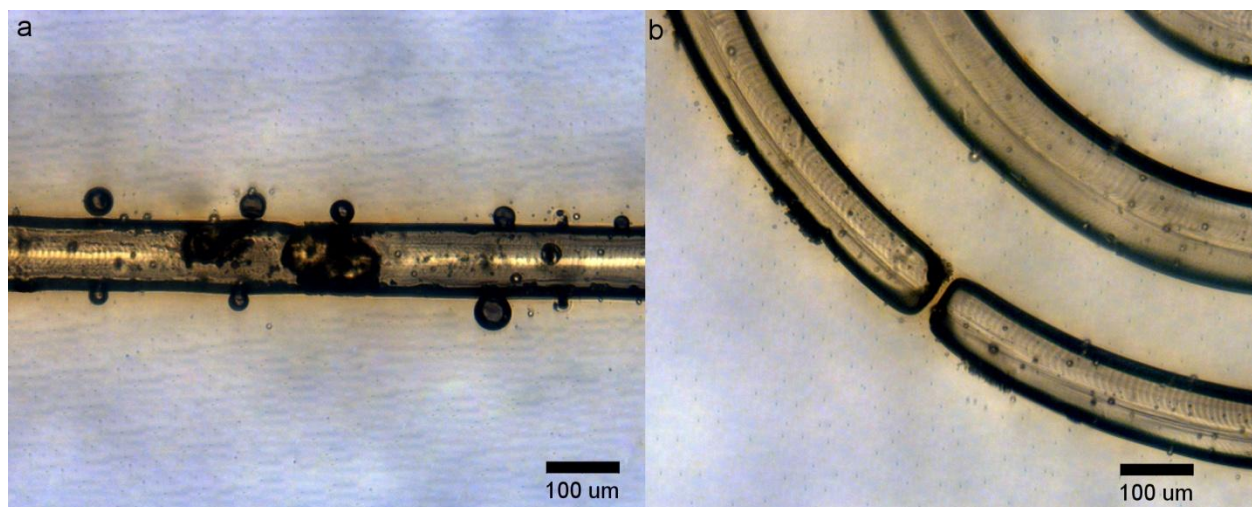


Figure 4-3 - Problèmes rencontrés durant la dépolymérisation catalytique du PLA (25 % massique) avec 2.5 % de catalyseur. a) Concentration des impuretés lors du retrait du PLA durant la dépolymérisation. b) Déformation de l'époxy menant à une coupure du microcanal.

Malgré ces difficultés, un article sur le PLA en solution publié par Guo et coll.[56] rapporte la possibilité de fabriquer des canaux microfluidiques 3D avec du PLA enrichi de catalyseur. La Figure 4-4 montre une image fluorescente du canal hélicoïdal ayant été présenté dans cet article. Cette méthode de fabrication de canaux microfluidiques a le potentiel de permettre la fabrication de dispositifs 3D plus simplement qu'avec l'encre fugitive.

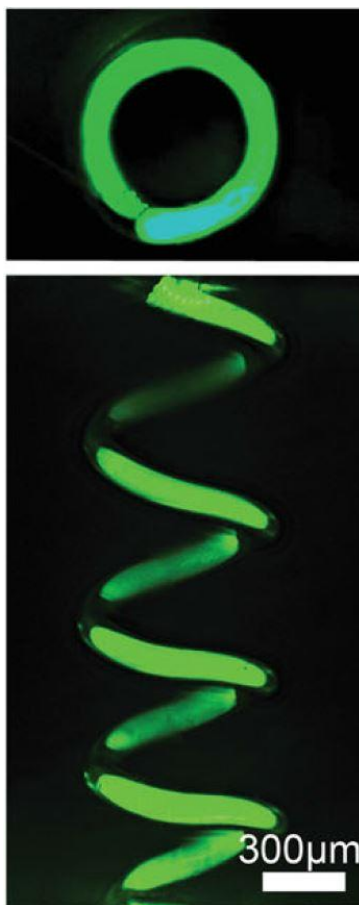


Figure 4-4 – Image fluorescente d'un canal microfluidique fabriqué par dépolymérisation catalytique de PLA à 30 % massique avec 1.5 % massique de catalyseur. Le filament a été déposé par écriture directe libre. (Guo et coll. 2013[56])

CHAPITRE 5 DISCUSSION GÉNÉRALE

5.1 Influence du design et des dimensions du séparateur

Afin de fabriquer un séparateur qui pourrait faire partie d'un appareil médical portable, il faut que le séparateur soit compact. Par contre, il faut aussi que la tension dont il a besoin soit aussi faible que possible pour éviter d'avoir besoin d'une source de tension volumineuse. Ainsi, le séparateur actuel a obtenu des résultats de séparation satisfaisant avec une tension de 900VDC ce qui est un requis peu réaliste pour un appareil portable. Une partie significative de cette tension pourrait être enlevée en raccourcissant les sections droites des canaux microfluidiques. En comparaison, les séparateurs 2D comparables ont utilisé des tensions variant de 343 à 400 VDC[3, 6, 44]. Ces tensions sont plus raisonnables, mais tout de même élevées pour un appareil portable. Le séparateur doit donc être conçu en fonction de son utilisation future. Les dimensions critiques du séparateur, c'est-à-dire le diamètre du canal et le rayon de courbure, doivent être optimisées en fonction de cette utilisation.

Dans le séparateur actuel, les dimensions ont été choisies en fonction des matériaux disponibles et des capacités du montage de déposition. Le diamètre des canaux était de l'ordre de 100 μm en raison de la disponibilité d'embouts de déposition de 100 μm . Le rayon de courbure des hélices était de 0.6 mm à cause de la capacité de fabriquer des mandrins de 1.2 mm de diamètre. De plus, cette taille facilitait la déposition, car elle s'insérait facilement sur l'axe du moteur entraînant le mandrin.

Dans des canaux larges, les particules ont besoin d'un long parcours pour atteindre le bord extérieur. Ainsi, l'hélice d'alignement (la première hélice) doit être plus longue. Ceci implique donc une longueur totale de canal plus grande ce qui nécessite une plus grande tension pour obtenir la séparation. Par contre, dans le cas de l'hélice de séparation, le diamètre plus grand permet, après la séparation dans la deuxième hélice, d'obtenir une plus grande distance entre les particules de type différent. Ceci simplifie la séparation en permettant une certaine imprécision sur la position des particules par rapport à la bifurcation. En effet, dans le cas d'un canal plus petit, comme la distance entre les types de particules est faible, les particules doivent être placées précisément par rapport à la bifurcation afin d'être envoyées vers le bon réservoir. Ainsi, afin de réduire la longueur totale du canal tout en maintenant une certaine facilité d'utilisation, un

compromis devrait être atteint entre la dimension optimale de la première hélice et celle de la seconde. Une autre possibilité est de fabriquer chaque hélice avec le diamètre de canal optimal. Ainsi, chaque hélice possède la longueur minimale nécessaire à une séparation efficace. Il s'agit ici d'un autre exemple de la flexibilité offerte par le design hélicoïdal.

Le rayon de courbure a aussi un impact majeur sur le gradient de champ électrique. Le gradient de champ est inversement proportionnel au rayon de courbure. Ainsi un rayon de courbure plus faible génère un gradient de champ plus fort et donc une plus grande vitesse radiale pour les particules. Les hélices ayant un rayon de courbure plus faible sont donc plus courtes, ce qui nécessite donc une tension plus faible tout en conservant la même efficacité de séparation.

Les sections des canaux aux réservoirs du séparateur hélicoïdal avaient une surface libre. Ceci faisait en sorte que les jonctions entre les réservoirs et les canaux étaient dans la partie supérieure des réservoirs ce qui était responsable des problèmes de sédimentation des particules. Par contre, cette configuration avait pour avantage de donner facilement accès aux canaux. En cas d'obstruction ou de la présence d'une bulle d'air, les canaux étaient facilement accessibles. Une alternative est d'inverser le séparateur et d'avoir les canaux connectés aux réservoirs dans la partie inférieure des réservoirs. Les canaux n'auraient donc pas de surface libre. La sédimentation des particules ne constituerait plus un problème, mais l'accès aux canaux serait difficile. La configuration avec surface libre simplifiait donc les expériences de séparation, mais devra être changée avant l'intégration dans un appareil diagnostic.

Le séparateur actuel avait des dimensions basées sur la commodité de fabrication. L'optimisation des dimensions critique permettrait de réduire la tension nécessaire à son opération et ainsi le rapprocher de son objectif : l'intégration dans un appareil médical portable.

5.2 Potentiel du PLA

Le séparateur actuel a été fabriqué en utilisant l'encre fugitive comme base pour le canal microfluidique. L'utilisation du PLA comme alternative a été testée et rapportée au Chapitre 4. Le PLA représente plusieurs améliorations par rapport à l'encre fugitive, mais a aussi des désavantages.

Le séparateur présenté dans ce mémoire présentait des défauts géométriques découlant du processus de fabrication. En effet, l'encre fugitive est un matériau viscoélastique qui comporte

souvent un certain niveau de rugosité qui peut créer des gradients de champ électrique locaux dans le séparateur. De plus, elle ne peut pas être manipulée ou pliée ce qui implique une fabrication en plusieurs pièces qui doivent être assemblées et connectées après leur déposition. Pour cette raison, les jonctions du séparateur ont été faites par écriture directe, mais ajustées manuellement ce qui a engendré des imperfections. La Figure 5-1 montre une jonction linéaire entre deux sections du microcanal du séparateur hélicoïdal. La forme irrégulière de la jonction ainsi que ses dimensions supérieures à celles du reste du canal induisent des gradients de champs locaux qui peuvent nuire à la séparation.



Figure 5-1 – Jonction entre deux sections du canal ayant une forme irrégulière qui cause des gradients de champ électrique locaux.

Le PLA, lorsqu'il est extrudé, est un fluide visqueux, ce qui génère, à cause de la tension de surface, un filament lisse. De plus, le PLA ne nécessite pas de réfrigération contrairement à l'encre fugitive. Le changement de température de l'encre fugitive durant l'extrusion était la cause principale de rugosité dans certaines parties du séparateur. Ainsi, le PLA a la capacité de produire des canaux microfluidiques plus lisses que l'encre fugitive. La Figure 5-2 montre deux sections de microcanaux qui ont été fabriqués avec de l'encre fugitive (Figure 5-2 – a) et du PLA (Figure 5-2 – b). Leur niveau de rugosité est visible sur les surfaces supérieures et inférieures des deux sections. Le microcanal fabriqué par dépolymérisation est moins rugueux que celui fait avec

de l'encre fugitive ce qui rend le PLA un bon candidat pour la fabrication de la nouvelle génération de séparateurs hélicoïdaux.

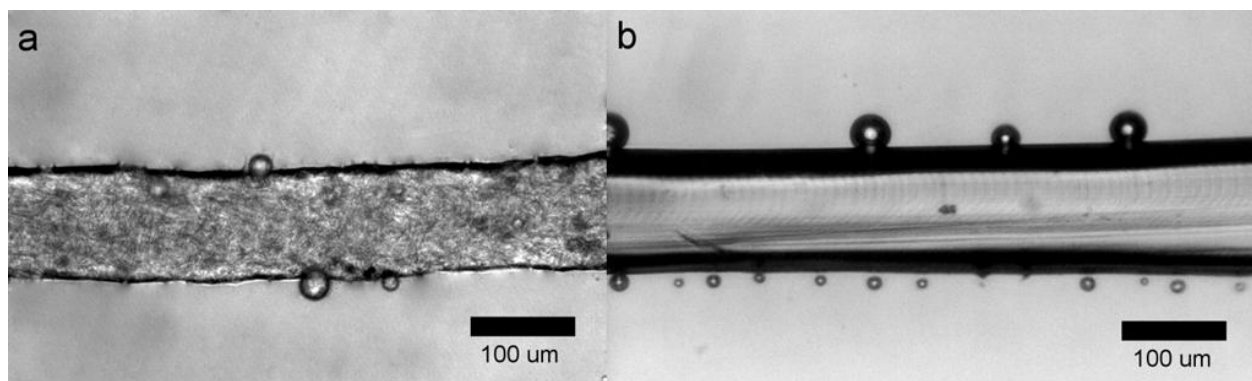


Figure 5-2 – Illustration de la rugosité de a) un canal fabriqué avec de l'encre fugitive et b) un canal fabriqué avec du PLA.

Le PLA après un temps de séchage approprié devient un solide élastique qui se détache facilement de son substrat. Ainsi, un séparateur hélicoïdal pourrait être fabriqué en un plus petit nombre de pièces ce qui limiterait le nombre de jonctions. Ainsi, une seule déposition sur mandrin pourrait produire le canal d'entrée, les deux hélices et une des branches de la bifurcation. Ce long filament pourrait être plié et collé sur un substrat de verre pour obtenir la géométrie désirée. La deuxième branche de la bifurcation serait ajoutée par la suite. Un tel processus de fabrication ne nécessite qu'une seule connexion au niveau de la bifurcation. Ceci élimine un grand nombre de manipulations et de connexions qui modifient la section du canal et causent des gradients de champs locaux nuisibles à la séparation. La Figure 5-3 montre deux jonctions à angle. La Figure 5-3-a montre une des jonctions du séparateur hélicoïdal qui comporte plusieurs irrégularités. La Figure 5-3-b montre un filament de PLA plié après séchage complet. Un microcanal fabriqué avec un tel filament plié serait plus régulier et aurait moins de changements de section qu'un microcanal fait de deux filaments d'encre fugitive joints.

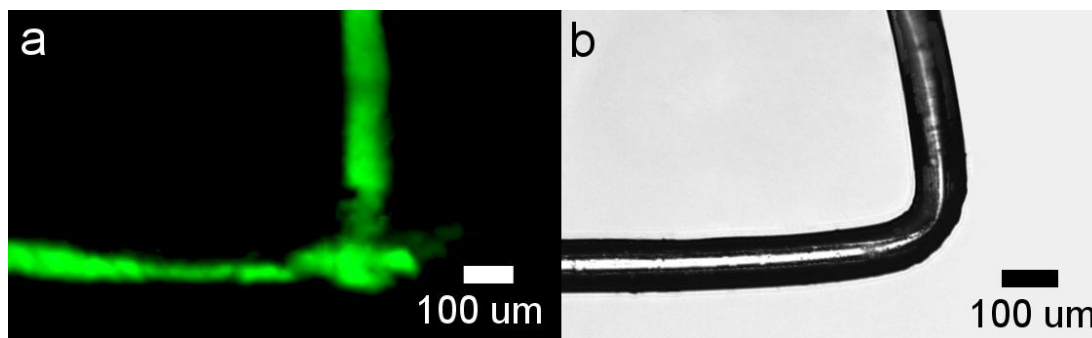


Figure 5-3 – Comparaison des imperfections liées à une jonction à angle entre les deux méthodes de fabrication de microcanaux. a) Image fluorescente de la jonction du séparateur hélicoïdal. b) Image optique d'un filament de PLA à 25 % massique plié après séchage complet.

En contrepartie, la dépolymérisation catalytique du PLA nécessite plusieurs dizaines d'heures de chauffage. De plus, le processus est toujours en investigation afin de mieux comprendre la déformation des canaux. Le PLA est donc une avenue prometteuse, mais qui nécessite encore du travail avant d'être bien contrôlée dans le contexte de la fabrication d'un séparateur de particules.

CONCLUSION

Ce mémoire a rapporté la conception, la fabrication et la caractérisation d'un séparateur de particules diélectrophorétique hélicoïdal. Le processus de fabrication a démontré sa capacité à produire un prototype fonctionnel et dont les dimensions critiques ont une variation n'excédant pas 7.2 %. Ce séparateur a été testé et a permis de séparer des particules de polystyrène de 4 et 10 μm de diamètre avec des efficacités allant jusqu'à 94.0 % et 92.5 %, respectivement. Le séparateur avait un encombrement ou « planar footprint » 20 % plus faible que les séparateurs diélectrophorétiques comparable et 35 % plus faible que le séparateur en spirale de Zhu et Xuan[3].

Les séparateurs de particules diélectrophorétiques hélicoïdaux représentent un concept prometteur qui pourrait faciliter la mise au point d'appareils médicaux portatifs et abordables. La capacité de fabriquer un canal courbé ayant un rayon de courbure constant permettra, dans la prochaine génération de séparateurs hélicoïdaux, la séparation de particules avec un canal plus court que ceux des séparateurs en forme de spirale. Cette longueur réduite nécessite une tension plus faible ce qui est aussi un avantage en regard de l'objectif de portabilité. Par contre, la géométrie tridimensionnelle nécessite le recours à des techniques de fabrication plus complexes que des géométries bidimensionnelles. Il en demeure que cette nouvelle géométrie pourrait constituer la base de nouveaux appareils médicaux portatifs.

Le processus de fabrication était, par contre, complexe et nécessitait un grand nombre d'opérations manuelles. Les jonctions entre les différentes parties du canal avaient des dimensions supérieures à celles du reste du canal. De plus, des rugosités étaient présentes ce qui a sans doute affecté l'efficacité de la séparation. Les expériences de séparation étaient difficiles à réaliser à cause des effets nuisibles de la pression hydrostatique dus au niveau de solution dans les réservoirs. Cette difficulté à obtenir le même niveau dans chaque réservoir a rendu les résultats difficiles à reproduire.

Afin d'arriver à fabriquer un séparateur de particules hélicoïdal plus performant, compact et nécessitant une tension minimale, un certain nombre d'améliorations devront être réalisées. Le diamètre du canal ainsi que le rayon de courbure des hélices devront être optimisés. Cette optimisation pourrait potentiellement mener à l'utilisation de diamètres différents pour la première et la seconde hélice. Ceci augmenterait la complexité de la fabrication, ainsi un

compromis devra être fait entre la simplicité de fabrication et l'obtention d'un diamètre optimal. Ainsi, l'utilisation d'embouts de déposition de 50 μm , de mandrins au diamètre plus faible ainsi que du nouveau montage de déposition Micos, ayant une plus grande résolution sur la vitesse, permettra d'obtenir des diamètres de canaux plus faibles et un rayon de courbure plus faible.

La conception des réservoirs est aussi une possibilité d'amélioration. Les réservoirs du prototype actuel ont causé des problèmes de reproductibilité à cause de la difficulté d'obtenir le même niveau de solution dans chaque réservoir. L'utilisation de réservoirs plus larges permettrait de limiter ce problème. Une déviation du volume optimal entraînerait une déviation beaucoup plus faible du niveau dans un réservoir large que dans un réservoir étroit. De plus, l'utilisation de réservoirs moins profonds réduirait l'influence de la sédimentation des particules en conservant les particules sédimentées plus près du canal d'entrée.

L'utilisation du PLA comme base de la fabrication du canal pourrait aussi améliorer la performance du séparateur. Contrairement à l'encre fugitive, qui est un matériau viscoélastique, le PLA, à la sortie de l'embout d'extrusion, est un fluide. En raison de la tension de surface du PLA, les filaments extr sont plus lisses et plus constants que ceux en encre fugitive. Après séchage, l'élasticité du PLA permet de le manipuler et de le plier. Ceci a le potentiel de réduire le nombre de pièces nécessaires pour la fabrication du séparateur ce qui réduirait le nombre de jonctions et simplifierait la fabrication.

La troisième génération de séparateurs de cellules diélectrophorétiques fabriqués au Laboratoire de Mécanique Multi-Échelle devra donc nécessiter une fabrication plus simple et plus fiable. L'utilisation de la méthode de dépolymérisation catalytique du PLA semble un candidat prometteur pour atteindre cet objectif. Afin de démontrer son efficacité dans le domaine médical, la prochaine génération ne devra pas se limiter à la séparation de particules inertes, des tests de séparation devront être faits avec des cellules vivantes. Pour ce faire, un collaborateur spécialisé en microbiologie ou en médecine devra être consulté. Enfin, une étude des requis de l'industrie des appareils médicaux devra être faite afin de concevoir et fabriquer un séparateur commercialisable.

RÉFÉRENCES

- [1] IBM. "System/360 Model 75". Available: http://www-03.ibm.com/ibm/history/exhibits/mainframe/mainframe_2423PH2075.html. [Accessed: 2 October 2013]
- [2] MacInTouch. "iPhone 5 review". Available: <http://www.macintouch.com/reviews/iphone5/>. [Accessed: 2 October 2013]
- [3] J. Zhu and X. Xuan, "Curvature-induced dielectrophoresis for continuous separation of particles by charge in spiral microchannels," *Biomicrofluidics*, vol. 5, no. 2, pp. 024111-13, 2011.
- [4] J. Suehiro, G. Zhou, M. Imamura, and M. Hara, "Dielectrophoretic filter for separation and recovery of biological cells in water," *IEEE Transactions on Industry Applications*, vol. 39, no. 5, pp. 1514-21, 2003.
- [5] B. H. Lapizco-Encinas, B. A. Simmons, E. B. Cummings, and Y. Fintschenko, "Dielectrophoretic Concentration and Separation of Live and Dead Bacteria in an Array of Insulators," *Analytical Chemistry*, vol. 76, no. 6, pp. 1571-9, 2004.
- [6] Y. Kang, D. Li, S. A. Kalams, and J. E. Eid, "DC-Dielectrophoretic separation of biological cells by size," *Biomedical Microdevices*, vol. 10, no. 2, pp. 243-9, 2008.
- [7] K. Hyoung Kang, X. Xuan, Y. Kang, and D. Li, "Effects of dc-dielectrophoretic force on particle trajectories in microchannels," *Journal of Applied Physics*, vol. 99, no. 6, 2006.
- [8] C. Church, J. Zhu, and X. Xuan, "Negative dielectrophoresis-based particle separation by size in a serpentine microchannel," *Electrophoresis*, vol. 32, no. 5, pp. 527-31, 2011.
- [9] M. Dainiak, A. Kumar, I. Galaev, and B. Mattiasson, "Methods in Cell Separations," in *Cell Separation*. vol. 106, A. Kumar, *et al.*, Eds., ed: Springer Berlin Heidelberg, 2007, pp. 1-18.
- [10] K. R. Chi. "Going with the flow". Available: <http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/30505/title/Going-with-the-Flow/>. [Accessed: October 17 2011]

- [11] P. Hu, M. Hegde, and P. A. Lennon, *Modern Clinical Molecular Techniques*: Springer, 2012.
- [12] M. H. Julius, T. Masuda, and L. A. Herzenberg, *Demonstration that antigen-binding cells are precursors of antibody-producing cells after purification with a fluorescence-activated cell sorter* vol. 69, 1972.
- [13] S. Y. Shulepov, S. S. Dukhin, and J. Lyklema, "Dynamic approach to colloid particle interaction," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 171, no. 2, pp. 340-, 1995.
- [14] A. Tiselius, "A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures," *Transactions of the Faraday Society*, vol. 33, no. 0, pp. 524-31, 1937.
- [15] A. Tiselius, *Electrophoresis of Serum Globulin: Electrophoretic analysis of normal and immune sera. II*: University Press, 1937.
- [16] R. Westermeier, "Electrophoresis in Gels," in *Protein Purification*, ed: John Wiley & Sons, Inc., 2011, pp. 363-77.
- [17] H. A. Pohl, "Motion and precipitation of suspensoids in divergent electric fields," *Journal of Applied Physics*, vol. 22, no. 7, pp. 869-71, 1951.
- [18] H. A. Pohl and J. S. Crane, "Dielectrophoresis of Cells," *Biophysical Journal*, vol. 11, no. 9, pp. 711-27, 1971.
- [19] P. R. C. Gascoyne and J. Vykoukal, "Particle separation by dielectrophoresis," *ELECTROPHORESIS*, vol. 23, no. 13, pp. 1973-83, 2002.
- [20] T. B. Jones and M. Washizu, "Multipolar dielectrophoretic and electrorotation theory," *Journal of Electrostatics*, vol. 37, no. 1–2, pp. 121-34, 1996.
- [21] P. Gascoyne, C. Mahidol, M. Ruchirawat, J. Satayavivad, P. Watcharasit, and F. F. Becker, "Microsample preparation by dielectrophoresis: isolation of malaria," *Lab on a Chip*, vol. 2, no. 2, pp. 70-5, 2002.
- [22] P. R. C. Gascoyne and J. V. Vykoukal, "Dielectrophoresis-based sample handling in general-purpose programmable diagnostic instruments," in *Biomedical Applications for Mems and Microfluidics*, 2004, pp. 22-42.

- [23] E. G. Cen, C. Dalton, Y. Li, S. Adamia, L. M. Pilarski, and K. V. I. S. Kaler, "A combined dielectrophoresis, traveling wave dielectrophoresis and electrorotation microchip for the manipulation and characterization of human malignant cells," *Journal of Microbiological Methods*, vol. 58, no. 3, pp. 387-401, 2004.
- [24] P. R. C. Gascoyne, J. Noshari, T. J. Anderson, and F. F. Becker, "Isolation of rare cells from cell mixtures by dielectrophoresis," *ELECTROPHORESIS*, vol. 30, no. 8, pp. 1388-98, 2009.
- [25] R. Pethig and G. H. Markx, "Applications of dielectrophoresis in biotechnology," *Trends in Biotechnology*, vol. 15, no. 10, pp. 426-32, 1997.
- [26] X. Wang, X.-B. Wang, and P. R. C. Gascoyne, "General expressions for dielectrophoretic force and electrorotational torque derived using the Maxwell stress tensor method," *Journal of Electrostatics*, vol. 39, no. 4, pp. 277-95, 1997.
- [27] C. Zhang, K. Khoshmanesh, A. Mitchell, and K. Kalantar-Zadeh, "Dielectrophoresis for manipulation of micro/nano particles in microfluidic systems," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 396, no. 1, pp. 401-20, 2010.
- [28] X. Hu, P. H. Bessette, J. Qian, C. D. Meinhart, P. S. Daugherty, and H. T. Soh, "Marker-specific sorting of rare cells using dielectrophoresis," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 102, no. 44, pp. 15757-61, 2005.
- [29] C. Yu, J. Vykoukal, D. M. Vykoukal, J. A. Schwartz, L. Shi, and P. R. C. Gascoyne, "A three-dimensional dielectrophoretic particle focusing channel for microcytometry applications," *Journal of Microelectromechanical Systems*, vol. 14, no. 3, pp. 480-7, 2005.
- [30] N. Lewpiriyawong, K. Kandaswamy, C. Yang, V. Ivanov, and R. Stocker, "Microfluidic characterization and continuous separation of cells and particles using conducting poly(dimethyl siloxane) electrode induced alternating current-dielectrophoresis," *Analytical Chemistry*, vol. 83, no. 24, pp. 9579-85, 2011.

- [31] G. Medoro, N. Manaresi, M. Tartagni, and R. Guerrieri, "CMOS-only sensors and manipulators for microorganisms," in *International Electron Devices Meeting. Technical Digest. IEDM, 10-13 Dec. 2000*, Piscataway, NJ, USA, 2000, pp. 415-18.
- [32] J. Voldman, M. L. Gray, M. Toner, and M. A. Schmidt, "A microfabrication-based dynamic array cytometer," *Analytical Chemistry*, vol. 74, no. 16, pp. 3984-90, 2002.
- [33] P. R. C. Gascoyne, X.-B. Wang, Y. Huang, and F. F. Becker, "Dielectrophoretic separation of cancer cells from blood," *IEEE Transactions on Industry Applications*, vol. 33, no. 3, pp. 670-8, 1997.
- [34] J. M. Alison and R. J. Sheppard, "Dielectric properties of human blood at microwave frequencies," *Physics in Medicine and Biology*, vol. 38, no. 7, pp. 971-, 1993.
- [35] R. Pethig, "DIELECTRIC PROPERTIES OF BIOLOGICAL MATERIALS: BIOPHYSICAL AND MEDICAL APPLICATIONS," *IEEE transactions on electrical insulation*, vol. EI-19, no. 5, pp. 453-74, 1984.
- [36] Y.-Z. Wei and S. Sridhar, "Technique for measuring the frequency-dependent complex dielectric constants of liquids up to 20 GHz," *Review of Scientific Instruments*, vol. 60, no. 9, pp. 3041-6, 09/00/ 1989.
- [37] A. Gencoglu and A. Minerick, "Chemical and morphological changes on platinum microelectrode surfaces in AC and DC fields with biological buffer solutions," *Lab on a Chip*, vol. 9, no. 13, pp. 1866-73, 2009.
- [38] S. K. Srivastava, A. Gencoglu, and A. R. Minerick, "DC insulator dielectrophoretic applications in microdevice technology: A review," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 399, no. 1, pp. 301-21, 2011.
- [39] C. Church, J. Zhu, G. Wang, T.-R. J. Tzeng, and X. Xuan, "Electrokinetic focusing and filtration of cells in a serpentine microchannel," *Biomicrofluidics*, vol. 3, no. 4, pp. 044109-10, 2009.
- [40] C. Church, J. Zhu, J. Nieto, G. Keten, E. Ibarra, and X. Xuan, "Continuous particle separation in a serpentine microchannel via negative and positive dielectrophoretic focusing," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 20, no. 6, 2010.

- [41] J. Zhu and X. Xuan, "Particle electrophoresis and dielectrophoresis in curved microchannels," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 340, no. 2, pp. 285-90, 2009.
- [42] J. Zhu, T.-R. J. Tzeng, and X. Xuan, "Continuous dielectrophoretic separation of particles in a spiral microchannel," *ELECTROPHORESIS*, vol. 31, no. 8, pp. 1382-8, 2010.
- [43] J. Zhu, T.-R. J. Tzeng, G. Hu, and X. Xuan, "DC dielectrophoretic focusing of particles in a serpentine microchannel," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 7, no. 6, pp. 751-6, 2009.
- [44] J. Zhu, R. C. Canter, G. Keten, P. Vedantam, T.-R. J. Tzeng, and X. Xuan, "Continuous-flow particle and cell separations in a serpentine microchannel via curvature-induced dielectrophoresis," no. pp. 1-10, 2011.
- [45] E. B. Cummings and A. K. Singh, "Dielectrophoresis in microchips containing arrays of insulating posts: Theoretical and experimental results," *Analytical Chemistry*, vol. 75, no. 18, pp. 4724-31, 2003.
- [46] C. Hyunjung, D. Il, and C. Young-Ho, "A three-dimensional (3D) particle focusing channel using the positive dielectrophoresis (pDEP) guided by a dielectric structure between two planar electrodes," *Lab on a Chip*, vol. 9, no. 5, pp. 686-91, 2009.
- [47] C.-P. Jen, C.-T. Huang, and C.-H. Weng, "Focusing of biological cells utilizing negative dielectrophoretic force generated by insulating structures," *Microelectronic Engineering*, vol. 87, no. 5-8, pp. 773-7, 2010.
- [48] C.-P. Jen and H.-H. Chang, "A handheld preconcentrator for the rapid collection of cancerous cells using dielectrophoresis generated by circular microelectrodes in stepping electric fields," *Biomicrofluidics*, vol. 5, no. 3, 2011.
- [49] D. C. Duffy, J. C. McDonald, O. J. A. Schueller, and G. M. Whitesides, "Rapid prototyping of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane)," *Analytical Chemistry*, vol. 70, no. 23, pp. 4974-84, 1998.
- [50] J. A. Lewis, "Direct-write assembly of ceramics from colloidal inks," *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, vol. 6, no. 3, pp. 245-50, 6// 2002.

- [51] D. Therriault, S. R. White, and J. A. Lewis, "Chaotic mixing in three-dimensional microvascular networks fabricated by direct-write assembly," *Nature Materials*, vol. 2, no. Compendex, pp. 265-71, 2003.
- [52] E. Ghafar-Zadeh, M. Sawan, D. Therriault, S. Rajagopalan, and V. P. Chodavarapu, "A direct-write microfluidic fabrication process for CMOS-based Lab-on-Chip applications," *Microelectronic Engineering*, vol. 86, no. 10, pp. 2104-9, 2009.
- [53] R. B. Oueslati, D. Therriault, and S. Martel, "PCB-integrated heat exchanger for cooling electronics using microchannels fabricated with the direct-write method," *IEEE Transactions on Components and Packaging Technologies*, vol. 31, no. 4, pp. 869-74, 2008.
- [54] D. Therriault, R. F. Shepherd, S. R. White, and J. A. Lewis, "Fugitive inks for direct-write assembly of three-dimensional microvascular networks," *Advanced Materials*, vol. 17, no. Compendex, pp. 395-9, 2005.
- [55] H. Dong, A. P. Esser-Kahn, P. R. Thakre, J. F. Patrick, N. R. Sottos, S. R. White, and J. S. Moore, "Chemical treatment of poly(lactic acid) fibers to enhance the rate of thermal depolymerization," *ACS Applied Materials and Interfaces*, vol. 4, no. 2, pp. 503-9, 2012.
- [56] S.-Z. Guo, F. Gosselin, N. Guerin, A.-M. Lanouette, M.-C. Heuzey, and D. Therriault, "Solvent-Cast Three-Dimensional Printing of Multifunctional Microsystems," *Small*, no. 2013.
- [57] M. Kuhn, T. Napporn, M. Meunier, D. Therriault, and S. Vengallatore, "Direct-write microfabrication of single-chamber solid oxide fuel cells with interdigitated electrodes," in *2006 MRS Fall Meeting, November 27, 2006 - December 1, 2006*, Boston, MA, United states, 2007, pp. 211-6.
- [58] M. Kuhn, T. Napporn, M. Meunier, D. Therriault, and S. Vengallatore, "Fabrication and testing of coplanar single-chamber micro solid oxide fuel cells with geometrically complex electrodes," *Journal of Power Sources*, vol. 177, no. 1, pp. 148-53, 2008.
- [59] M. Kuhn, T. W. Napporn, M. Meunier, and D. Therriault, "Experimental study of current collection in single-chamber micro solid oxide fuel cells with comblike electrodes," *Journal of the Electrochemical Society*, vol. 155, no. 10, pp. B994-B1000, 2008.

- [60] L. L. Lebel, B. Aissa, M. A. El Khakani, and D. Therriault, "Ultraviolet-assisted direct-write fabrication of carbon nanotube/polymer nanocomposite microcoils," *Advanced Materials*, vol. 22, no. 5, pp. 592-6, 2010.
- [61] L. L. Lebel, B. Aissa, O. A. Paez, M. A. El Khakani, and D. Therriault, "Three-dimensional micro structured nanocomposite beams by microfluidic infiltration," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 19, no. 12, 2009.
- [62] R. D. Farahani, H. Dalir, V. Le Borgne, L. A. Gautier, M. A. El Khakani, M. Levesque, and D. Therriault, "Direct-write fabrication of freestanding nanocomposite strain sensors," *Nanotechnology*, vol. 23, no. 8, 2012.
- [63] R. D. Farahani, M. Pahlavanpour, H. Dalir, B. Aissa, M. A. E. Khakani, M. Levesque, and D. Therriault, "Manufacturing composite beams reinforced with three-dimensionally patterned-oriented carbon nanotubes through microfluidic infiltration," *Materials and Design*, vol. 41, no. pp. 214-25, 2012.
- [64] E. Ghafar-Zadeh, M. Sawan, M. Jalali, and D. Therriault, "CMOS-based capacitive sensor array dedicated to microfluidic studies," in *IEEE 18th International Conference Application-specific Systems, Architectures and Processors, ASAP07, July 8, 2007 - July 11, 2007*, Montreal, QC, Canada, 2007, pp. 42-3.
- [65] E. Ghafar-Zadeh, M. Sawan, and D. Therriault, "Novel direct-write CMOS-based laboratory-on-chip: Design, assembly and experimental results," *Sensors and Actuators, A: Physical*, vol. 134, no. Compendex, pp. 27-36, 2007.
- [66] E. Ghafar-Zadeh, M. Sawan, and D. Therriault, "A 0.18-m CMOS capacitive sensor Lab-on-Chip," *Sensors and Actuators, A: Physical*, vol. 141, no. 2, pp. 454-62, 2008.
- [67] E. Ghafar-Zadeh, M. Sawan, and D. Therriault, "A microfluidic packaging technique for lab-on-chip applications," *IEEE Transactions on Advanced Packaging*, vol. 32, no. 2, pp. 410-6, 2009.
- [68] C. N. R. Rao, R. Voggu, and A. Govindaraj, "Selective generation of single-walled carbon nanotubes with metallic, semiconducting and other unique electronic properties," *Nanoscale*, vol. 1, no. 1, pp. 96-105, 2009.

- [69] P. A. Zellner, A. Sahari, Y. Hosseini, B. Behkam, and M. Agah, "Selective E. coli trapping with 3D insulator-based dielectrophoresis using DC-biased, AC electric fields," in *34th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS 2012, August 28, 2012 - September 1, 2012*, San Diego, CA, United states, 2012, pp. 6285-8.
- [70] M. Yamamoto, T. Yasukawa, M. Suzuki, S. Kosuge, H. Shiku, T. Matsue, and F. Mizutani, "Patterning with particles using three-dimensional interdigitated array electrodes with negative dielectrophoresis and its application to simple immunosensing," *Electrochimica Acta*, vol. 82, no. pp. 35-42, 2012.
- [71] Y. Ai, S. Park, J. Zhu, X. Xuan, A. Beskok, and S. Qian, "DC electrokinetic particle transport in an l-shaped microchannel," *Langmuir*, vol. 26, no. 4, pp. 2937-44, 2010.
- [72] C.-T. Huang, C.-H. Weng, and C.-P. Jen, "Three-dimensional cellular focusing utilizing a combination of insulator-based and metallic dielectrophoresis," *Biomicrofluidics*, vol. 5, no. 4, pp. 044101-11, 2011.
- [73] H. Pohl, K. Pollock, and J. Crane, "Dielectrophoretic force: A comparison of theory and experiment," *Journal of Biological Physics*, vol. 6, no. 3, pp. 133-60, 1978.
- [74] H. Morgan and N. G. Green, *AC Electrokinetics: Colloids and Nanoparticles*: Research Studies Press Limited, 2003.
- [75] T. B. Jones, *Electromechanics of Particles*: Cambridge University Press, 2005.
- [76] I. Ermolina and H. Morgan, "The electrokinetic properties of latex particles: comparison of electrophoresis and dielectrophoresis," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 285, no. 1, pp. 419-28, 2005.
- [77] E. Ghafar-Zadeh, M. Sawan, and D. Therriault, "Novel direct-write CMOS-based laboratory-on-chip: Design, assembly and experimental results," *Sensors and Actuators, A: Physical*, vol. 134, no. 1, pp. 27-36, 2007.