

Électroanalyse et laboratoire sur puce

Imène Ait Ali et Rosaria Ferrigno

Résumé Combiner microfluidique et électrochimie en vue du développement d'un laboratoire sur puce permet de répondre aux défis du diagnostic médical délocalisé et des analyses environnementales *in situ*. Cet article présente et illustre les avantages et enjeux liés à cette approche.

Mots-clés Laboratoire sur puce, microfluidique, microfabrication, électroanalyse.

Abstract **Lab-on-a-chip and electroanalysis**

Combining microfluidics and electrochemistry is a powerful approach to develop lab-on-a-chip for point-of-care applications. Advantages and challenges are discussed and illustrated in this short article.

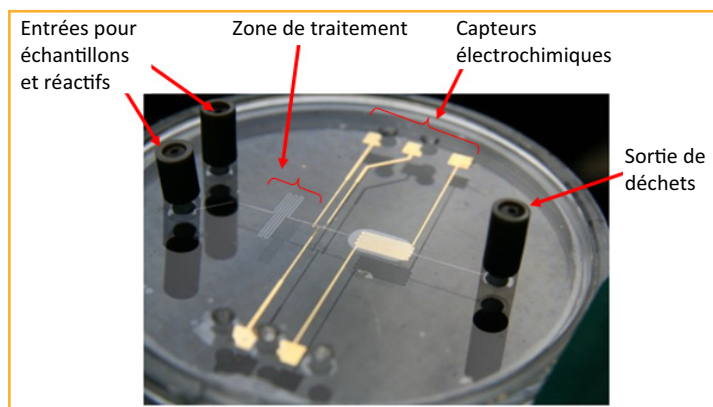
Keywords Lab-on-a-chip, microfluidics, microfabrication, electroanalysis.

La révolution de la miniaturisation en sciences analytiques

Les progrès réalisés depuis plusieurs décennies dans le domaine des micro- et nanotechnologies ont conduit à l'émergence et à la démocratisation d'outils permettant à de nombreux domaines scientifiques de tirer les bénéfices de la miniaturisation. L'application des outils de fabrication parallèle utilisés en microélectronique aux systèmes électromécaniques et opto-électromécaniques a ainsi fait émerger des microsystèmes électromécaniques (MEMS et bio-MEMS) et électro-optiques (MOEMS) qui ont révolutionné notre vie quotidienne. Ces dispositifs trouvent aujourd'hui des applications très variées : micro-acceleromètres permettant le déclenchement d'airbags dans les voitures, microcapteurs de pression sur des lentilles de contact pour le diagnostic du glaucome et microcaméras dans des pilules utilisées en endoscopie. En sciences analytiques, cette révolution a émergé à partir des années 1990 où sont apparus les concepts de μ TAS (« micro total analysis systems ») et de laboratoire sur puce qui trouvent aujourd'hui des applications dans les domaines du diagnostic médical, de l'analyse environnementale, de la sécurité alimentaire et de la défense, entre autres. L'idée est de rassembler sur une surface de quelques cm^2 l'ensemble des fonctions nécessaires à une analyse, de la préparation de l'échantillon jusqu'à la détection et la quantification de l'analyte (voir *figure*). L'intégration de toutes ces étapes dans un microsystème analytique de type laboratoire sur puce ouvre de nombreuses perspectives en termes de rapidité, sensibilité, portabilité et débit d'analyse. De plus, l'intégration massive peut laisser présager la possibilité de conduire des analyses multiparamétriques dans ces dispositifs.

Le développement de ces dispositifs repose sur la microfluidique, science s'intéressant à la manipulation de faibles volumes de fluides (10^{-9} à 10^{-18} L) dans des environnements micrométriques. Comme l'a défini G.M. Whitesides [1], l'un des pionniers dans ce domaine, cette science pluridisciplinaire s'intéresse autant aux enjeux liés à la fabrication de ces environnements micrométriques qu'à la compréhension de la physique des écoulements à ces échelles et aux applications qui en découlent. Du point de vue économique, ce domaine est en pleine croissance. Ainsi, d'après un rapport récent de Yole Développement [2], le marché des systèmes microfluidiques dans le domaine des sciences de la vie est supposé atteindre 5,7 milliards de dollars en 2018 (pour 1,4 milliards en 2013).

Parmi les nombreux défis auxquels est confrontée l'arrivée de ces dispositifs dans notre vie courante, leur production de masse et à bas coût est primordiale, tout comme la capacité d'intégration de systèmes de détection suffisamment sensibles. La miniaturisation d'électrodes



Exemple de réalisation d'un laboratoire sur puce associant gestion et manipulation des fluides et détection électrochimique.

a démontré un intérêt certain en électroanalyse et les méthodologies de la microélectronique sont bien adaptées à la fabrication et à l'intégration de microélectrodes dans ces dispositifs. De plus, en électrochimie, les signaux mesurés sont directement proportionnels à la concentration, permettant ainsi d'atteindre de très faibles limites de détection, même dans de faibles volumes d'échantillon mis en jeu dans ces dispositifs. L'instrumentation associée est relativement simple du fait de la transduction directe du signal chimique en signal électrique, ce qui en fait une méthode d'analyse particulièrement adaptée pour des analyses délocalisées (« point-of-care »), contrairement à des méthodes tout aussi sensibles comme la fluorescence. Il est néanmoins vrai que cet écart tend à se réduire ces dernières années du fait de l'avancée de la miniaturisation de composés optiques.

Après la présentation des caractéristiques de ces dispositifs laboratoire sur puce et des avantages et limitations qui en découlent, cet article introduit la problématique d'intégration de microélectrodes dans ces dispositifs, et enfin donne une illustration de dispositifs intégrant une détection électrochimique.

Caractéristiques à ces échelles

La miniaturisation d'un système d'analyse a plusieurs conséquences qui doivent être prises en compte lors de la conception d'un dispositif laboratoire sur puce :

Réduction des volumes : les environnements micrométriques définis sous forme de canaux microfluidiques permettent aujourd'hui de

manipuler des volumes jusqu'au pL et ainsi de réaliser des analyses avec des échantillons et des réactifs en réduisant les coûts ou en améliorant le confort du patient. L'une des premières retombées de la réduction des volumes de travail est la réduction de la quantité de matière disponible.

Augmentation du rapport surface sur volume : ce rapport augmente lorsque la dimension caractéristique est réduite, entraînant la prépondérance des phénomènes de surface (capillarité et électro-osmose) devant les phénomènes de volume.

Écoulement laminaire : du fait des faibles dimensions, le nombre de Reynolds dans des réseaux microfluidiques peut être faible (< 10), même pour des vitesses d'écoulement de l'ordre du cm/s. Ainsi, il en résulte un écoulement laminaire qui présente de nombreux avantages, notamment une meilleure compréhension des profils de vitesse au sein de ces dispositifs. Mais cette caractéristique a également un impact crucial sur le transport de matière. Ainsi dans ces dispositifs, il n'est plus possible d'utiliser la turbulence pour mélanger des liquides entre eux et le mélange repose essentiellement sur le phénomène de diffusion.

Fabrication de systèmes laboratoiresur puce et intégration de microélectrodes

Historiquement, les premiers démonstrateurs ont été réalisés en silicium et en verre en utilisant les procédés technologiques issus de l'industrie de la microélectronique et des MEMS. L'arrivée de la microfluidique dans des laboratoires de chimie et de biologie a permis de faire émerger de nouveaux matériaux ainsi que les procédés de microstructuration associés. Les polymères ont rapidement été identifiés comme une alternative. Parmi eux, le plus populaire et celui ayant permis une démocratisation de la microfluidique est le polydiméthylsiloxane (PDMS) qui a conduit à l'émergence d'une nouvelle filière technologique sous l'impulsion du Pr. Whitesides : la lithographie douce (ou « soft-lithography »). Cette technologie a véritablement favorisé l'essor de la recherche en microfluidique en permettant à de nombreux laboratoires d'aborder ce domaine, même avec un accès limité à des salles blanches. Sous le terme « lithographie douce » sont regroupées un ensemble de technologies qui reposent toutes sur l'utilisation de ce matériau élastomère dont les plus connues sont la réplique par moulage et le microtamponnage. Plus tard, les matériaux thermoplastiques comme le copolymère d'oléfine cyclique (COC) ont émergé en raison de la capacité de fabrication de masse à bas coût de l'industrie de la plasturgie. La fin des années 2000 a vu apparaître des systèmes microfluidiques à base cellulose qui se sont développés notamment dans le contexte de systèmes de diagnostic pour les pays en voie de développement. L'intégration de fonctionnalités électrochimiques en microfluidique requiert de résoudre des problématiques d'intégration hétérogène. Il faut donc associer aux étapes de microstructuration des réseaux microfluidiques une étape permettant l'intégration de différents matériaux conducteurs pouvant jouer le rôle d'électrodes. La métallisation sélective de substrat isolant reste une problématique très largement étudiée.

Illustrations

Microdispositif d'électrophorèse capillaire avec détection électrochimique

Les premiers exemples d'intégration d'électrochimie en microfluidique ont concerné des systèmes microfluidiques d'électrophorèse capillaire où la détection était réalisée par ampérométrie. La problématique soulevée dans ces travaux est l'interférence de la différence de potentiel utilisée pour la séparation (kV) avec celle utilisée lors de la détection ($< V$). Deux configurations d'électrodes ont ainsi été proposées pour réduire cette perturbation. Dans le cas de la configuration « off-channel », les électrodes utilisées pour la détection sont positionnées dans le canal microfluidique juste après l'électrode imposant le champ électrique de séparation. Cette électrode reliée à la masse joue ainsi le rôle de découpleur de champ. Dans la configuration « in-channel », les électrodes de détection sont positionnées

dans le champ électrique de séparation et nécessitent l'utilisation d'un potentiostat flottant. Les analytes qui ont ainsi été détectés et quantifiés sont multiples : neurotransmetteurs, composés pharmaceutiques, pesticides et explosifs. Même si pendant longtemps les travaux ont été confinés uniquement à la miniaturisation de la puce microfluidique, l'intérêt de miniaturiser l'instrumentation associée a émergé dans l'optique de mesures *in situ*. L'un des premiers démonstrateurs développé dans l'équipe de R.P. Baldwin [3] a une taille de $102 \times 152 \times 25$ mm et pèse 350 g. Il est constitué d'un module de haute tension alimenté par quatre batteries AA NiMH rechargeables et peut délivrer à une puce microfluidique une tension pouvant aller jusqu'à 1 360 V DC et un courant maximum de 380 μA DC. Ce module est associé à un module de détection électrochimique alimenté par une batterie de 9 V et pouvant polariser une électrode de travail jusqu'à 2 V. Les auteurs ont ainsi démontré la possibilité de réaliser une détection (μM) après une séparation électrophorétique en utilisant cet instrument ayant une autonomie de 15 h.

Intégration de capteurs électrochimiques dans des dispositifs microfluidiques à base de cellulose

Depuis quelques années, on observe un intérêt croissant pour l'intégration de capteurs électrochimiques dans des puces microfluidiques à base de cellulose. Ce substrat présente de nombreux avantages qui sont sa simplicité de microstructuration et d'utilisation, sa capacité à véhiculer des liquides par capillarité, son coût et son impact environnemental réduits. L'équipe de R.M. Crooks a ainsi démontré le couplage d'une puce microfluidique en papier comportant une batterie air/métal qui alimente à la fois une cellule de lecture électrochromique et un capteur électrochimique [4]. Cette association a permis la détection de glucose dans des échantillons d'urine artificielle en atteignant des limites de détection comparables à des appareils commerciaux.

Conclusion

Cet article montre le fort potentiel de l'électroanalyse comme étape de détection dans des puces microfluidiques en vue du développement d'un dispositif laboratoire sur puce. L'électroanalyse présente de nombreux atouts : simplicité d'utilisation, rapidité d'analyse, sélectivité et sensibilité. Néanmoins, l'attrait de l'électrochimie dans ce domaine ne se limite pas qu'aux aspects détection. En effet, l'électrochimie a d'autres atouts pour répondre aux enjeux du développement de ces microsystèmes, notamment en ce qui concerne l'autonomie énergétique de ces dispositifs pour le diagnostic délocalisé.

Références

- [1] Whitesides G.M., The origins and the future of microfluidics, *Nature*, **2006**, *442*, p. 368.
- [2] Roussel B., Microfluidic applications in the pharmaceutical, life sciences, *in vitro* diagnostic and medical device markets, *Yole Développement*, **2013**.
- [3] Jackson D.J., Naber J.F., Roussel T.J., Crain M.M., Walsh K.M., Keynton R.S., Baldwin R.P., Portable high-voltage power supply and electrochemical detection circuits for microchip capillary electrophoresis, *Anal. Chem.*, **2003**, *75*, p. 3643.
- [4] Liu H., Crooks R.M., Paper-based electrochemical sensing platform with integral battery and electrochromic read-out, *Anal. Chem.*, **2012**, *84*, p. 2528.



Imène Ait Ali

est ingénieur Capteurs chez City Zen Sciences*.

Rosaria Ferrigno

est professeur des universités à l'Institut des Nanotechnologies de Lyon**.



R. Ferrigno

I. Ait Ali

* City Zen Sciences, 208 rue Garibaldi, F-69003 Lyon.

Courriel : iaitali@cityzensciences.fr

** Institut des Nanotechnologies de Lyon (INL), CNRS UMR 5270, École Centrale de Lyon, Bât. F7, 36 avenue Guy de Collongue, F-69134 Écully Cedex. Courriel : rosaria.ferrigno@univ-lyon1.fr