

UNIVERSITE DE LIMOGES

ECOLE DOCTORALE n° 521 – Sciences et Ingénierie pour l'Information

FACULTE des Sciences et Techniques
XLIM - Département Ondes et Systèmes Associés

Année : 2010

Thèse N° 45-2010

Thèse
pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Limoges

Discipline : Electronique des Hautes Fréquences, Photonique et systèmes

Présentée et soutenue par
Mohamad KENAAN

Le 25 octobre 2010

**Développement d'applicateurs pour étudier le comportement
des cellules biologiques soumises à des impulsions
électromagnétiques ultracourtes**

Thèse dirigée par Philippe LEVEQUE & co-dirigée par Liliana-Delia ARNAUD-CORMOS

JURY :

Président :

Mr Patrick VAUDON

Professeur

Université de Limoges, XLIM, Dépt. « O.S.A. », Limoges

Rapporteurs :

Mr François BURET

Professeur

Ecole Centrale de Lyon, Lab. Ampère, Dépt. « E.E.A. », Ecully

Mr Renaud LOISON

Professeur

Université de Rennes 1, INSA-IETR, Départ. « S.R.C. », Rennes

Examineurs :

Mme Liliana-Delia ARNAUD-CORMOS

Maître de Conférences

Université de Limoges, XLIM, Dépt. « O.S.A. », Limoges

Mr Olivier FRANCAIS

Maître de Conférences

E.N.S. de Cachan, Laboratoire SATIE, Equipe BIOMIS, Cachan

Mr Philippe LEVEQUE

Chargé de Recherche C.N.R.S. (H.D.R.)

Université de Limoges, XLIM, Dépt. « O.S.A. », Limoges

A mes parents
Je serai là toujours pour vous

A mon étoile Jihane
Je serai toujours à toi

A mes amis

Remerciements:

Ce manuscrit de thèse synthétise le travail de trois années de recherche à la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université de Limoges, au sein du laboratoire Xlim.

J'adresse mes remerciements Monsieur le Professeur Dominique CROS, directeur du laboratoire pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire Xlim, ainsi que Monsieur Bernard JECKO, Professeur à l'université de Limoges, pour m'avoir accueilli au sein du département Ondes et Systèmes Associés (OSA).

J'exprime toute ma gratitude à Monsieur Renaud LOISON, Professeur à l'INSA-IETR à l'université de Rennes, et Monsieur François BURET, Professeur à l'école centrale de Lyon, pour avoir accepté de rapporter ce manuscrit. Merci pour leur disponibilité et leurs conseils.

J'exprime mes sincères remerciements à Messieurs Olivier FRANÇAIS et Patrick VAUDON pour avoir examiné et jugé mon travail.

Je tiens à remercier mes responsables de thèse Monsieur Philippe LEVEQUE, chargé de recherche CNRS et Madame Delia ARNAUD-CORMOS, Maître de conférence à l'Université de Limoges, de m'avoir proposé ce sujet passionnant sur le développement d'applicateurs pour étudier le comportement des cellules biologiques soumises à des impulsions électromagnétiques ultracourtes. J'ai apprécié durant ces trois années leur enthousiasme, leurs idées et leur soutien. Leurs compétences scientifiques, théoriques expérimentales, m'ont été également d'une grande aide pour avancer. Je tiens particulièrement à leur remercier pour la grande liberté qu'ils m'ont laissée et pour m'avoir énormément impliqué dans les activités du laboratoire. Cette confiance qu'ils m'ont accordée a été mon moteur pendant les trois années passées au laboratoire. Je leur remercie également pour la relecture du manuscrit. Leurs remarques ont toujours permis d'insister sur les points intéressants de ce travail.

Un grand merci à Nadine AYMARÉ, pour son aide, et son soutien aux moments difficiles où elle était toujours présente pour me soulager. Merci pour son efficacité, sa gentillesse, et surtout les compétitions qu'elle a organisées, à la gym avec mes collègues de bureau.

Je tiens à remercier toutes les personnes que j'ai rencontrées durant la thèse et qui ont partagé avec moi les pauses café à 10 heures.

Je remercie mon ancienne collègue de bureau Alice COLLIN « la cheftounette » qui était présente pour m'aider à apprendre les outils de base au début de ma thèse. Je lui exprime ma gratitude pour ses encouragements et ses conseils qui m'ont permis d'avancer dans mon travail

Une pensée à ma collègue de bureau détestable Marylène CUEILLE, pour sa gentillesse et son temps qu'elle avait consacré à m'écouter au bureau et discuter avec moi avec amitié. Je te remercie Mary et j'affirme que je ne t'ai jamais détestée.

Un merci à mon « cousinito mimi » Rémy VILLENEUVE au fait qu'il était la première personne dans l'équipe à venir discuter avec moi et de m'avoir aidé à améliorer mon français avec ses corrections. Merci aussi pour les bons moments avec les toutes les blagues qui ne m'ont jamais gêné.

J'exprime mes sincères remerciements à Julien LINTIGNAT pour ses conseils qu'il m'a donnés pendant ma thèse. Je les ai toujours appréciés. Merci beaucoup.

Je remercie Catarouna « caterina MERLA », d'être toujours à côté de moi pour dépasser les difficultés de simulation et de me motiver à avancer et m'encourager. Merci gentill catarouna.

Un grand merci à quelqu'une avec laquelle j'ai partagé mon bureau aux moments de stress, fatigue que nous les avons dépassés par les discussions discrètes par « e-miel ». Merci Thi-Dan-Thaoooo Déjà VUE, Grâce à toi, le temps a bien passé vite.

J'arrive à Monsieur l'élégant « Saad EL-AMARI » qui n'a pas arrêté de lancer ses blagues « mignonnes ». Merci de m'avoir aidé dans les mesures et de porter « l'oscilloscope » avec moi. Merci pour tout.

Je tiens à remercier également Monsiuer « bibi em ess n » Nicolas TICAUDS, Je t'exprime mes sincères remerciements pour ta gentillesse et pour avoir être toujours prêt pour faire des pauses café avec moi.

Un grand merci à Sophie KOHLER de m'avoir aidé plusieurs fois à dépasser les problèmes de word. Merci Sophie pour ta gentillesse.

Je remercie également « annalou » Madame DEPP, pour son ambiance martini blanc. Merci pour toutes les séances de langue italienne que tu nous as faites.

Enfin, une pensée à mes amis Sayed, Naim et Jad pour toutes les soirées chicha pour partager les moments difficiles durant nos thèses. Merci à vous.

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	15
CHAPITRE I : CONTEXTE DE L'ETUDE ET ETAT DE L'ART	21
I. INTRODUCTION	23
II. HISTORIQUE.....	24
III. INTERACTION ENTRE LE CHAMP ELECTRIQUE ET LA CELLULE.....	26
<i>III.1. Effets primaires : Electroporation classique et irréversible.....</i>	<i>26</i>
<i>III.2. Effets secondaires.....</i>	<i>29</i>
III.2.1. Apoptose.....	29
III.2.2. Dégagement intracellulaire du Calcium.....	29
III.2.3. Augmentation des expressions des gènes	29
IV. APPLICATIONS MEDICALES.....	30
<i>IV.1. Traitement des tumeurs.....</i>	<i>30</i>
<i>IV.2. Traitement des plaies.....</i>	<i>30</i>
V. ETUDES IN VITRO ET IN VIVO	30
VI. LES IMPULSIONS.....	31
<i>VI.1. Types d'impulsions</i>	<i>32</i>
<i>VI.2. Les paramètres d'impulsions en jeu</i>	<i>33</i>
<i>VI.3. Vers des impulsions plus courtes</i>	<i>34</i>
<i>VI.4. Energie et impulsions électriques</i>	<i>37</i>
<i>VI.5. Synthèse des impulsions.....</i>	<i>38</i>
VII. SYSTEMES D'EXPOSITION : GENERATEURS	39
<i>VII.1. Générateurs : Circuit de base</i>	<i>40</i>
<i>VII.2. Générateurs à décharge de condensateurs.....</i>	<i>41</i>
<i>VII.3. Générateurs de Marx.....</i>	<i>42</i>
<i>VII.4. Générateur Blumlein</i>	<i>43</i>
<i>VII.5. Générateur à ondes gelées</i>	<i>44</i>
<i>VII.6. Commutateur</i>	<i>46</i>
VII.6.1. Commutateur à éclateur à gaz	46
VII.6.2. Commutateur à diode	47
VII.6.3. Commutateur à transistor	47

VIII. SYSTEMES D'EXPOSITION : APPLICATEURS	47
VIII.1. Géométrie et couplage avec le générateur.....	48
VIII.1.1. Electrodes à aiguilles: exposition de cellules uniques.....	48
VIII.1.2. Electrodes planaires : Microélectrodes	50
VIII.1.3. Electrodes planaires: Micro-chambre	51
VIII.1.4. Electrodes planaires: Cuvette biologique à électrodes	52
VIII.2. Interface électrode/échantillon	54
VIII.3. Mesure de tension	54
VIII.4. Les différents paramètres entrant en jeu.....	55
IX. CONCLUSION.....	57
X. REFERENCES.....	58
CHAPITRE II : OUTILS NUMERIQUES ET EXPERIMENTAUX.....	65
I. INTRODUCTION	67
II. MATERIAUX DIELECTRIQUES ET MILIEU BIOLOGIQUE	68
II.1. Milieux dissipatifs.....	68
II.2. Milieux dispersifs.....	69
III. PARAMETRES CARACTERISTIQUES D'UN MILIEU	69
IV. PERMITTIVITE ET POLARISATION.....	72
IV.1.1. Modèle de Cole-Cole.....	73
IV.1.2. Modèle de Debye.....	74
V. MOYENS NUMERIQUES : MODELISATION.....	77
V.1. La méthode FDTD	77
V.2. Discrétisation spatio-temporelle.....	78
V.3. L'échelle microscopique : Microdosimétrie.....	80
V.4. L'échelle macroscopique : Dosimétrie.....	81
V.5. Débit d'Absorption Spécifique DAS (SAR terme anglais).....	82
V.5.1. Définition.....	82
V.5.2. Calcul du DAS à partir de la FDTD.....	83
V.6. Cartographie temporelle.....	84
V.7. Cartographie fréquentielle.....	84
V.8. Rayonnement.....	85
VI. MOYENS EXPERIMENTAUX.....	85
VI.1. Les générateurs:	86
VI.1.1. Générateur Pulse labs	86
VI.1.2. Générateur FID Technology	87
VI.1.3. Générateur Horus	89
VI.1.4. Générateur à ligne microruban	91
VI.2. Mesure d'impulsions.....	92
VI.2.1. Extracteur des signaux.....	92
VI.2.2. Sonde Haute tension.....	93
VI.2.3. Oscilloscope	94

VI.3. <i>Caractérisation fréquentielle</i>	94
VI.3.1. Analyseur de réseau vectoriel.....	94
VI.3.2. Sonde diélectrique	95
VI.4. <i>Connectiques</i>	96
VI.5. <i>Atténuateurs</i>	96
VI.6. <i>Charges</i>	97
VII. PROTOCOL DE MESURE	97
VIII. CONCLUSION	100
IX. REFERENCES	101
CHAPITRE III : APPLICATEURS : CUVETTE BIOLOGIQUE	103
I. INTRODUCTION :	105
II. CARACTERISATION DES MILIEUX BIOLOGIQUES	106
II.1. <i>Introduction</i>	106
II.2. <i>Etudes théorique et expérimentale</i>	106
II.3. <i>Conclusion</i>	110
III. DOSIMETRIE D'UN SYSTEME D'EXPOSITION IN VITRO A 2.45 GHZ	110
III.1. <i>Introduction</i>	110
III.2. <i>Description du système et des moyens de mesure expérimentaux</i>	112
III.3. <i>Caractérisation électromagnétique</i>	114
III.3.1. Modélisation numérique	114
III.3.2. Adaptation d'impédance.....	115
III.3.3. Distribution du SAR	117
III.4. <i>Mesure de température</i>	119
III.5. <i>Mesures de polarisation membranaire généralisée</i>	119
III.6. <i>Conclusion</i>	121
IV. CUVETTE BIOLOGIQUE AVEC DES ELECTRODES	123
IV.1. <i>Introduction</i>	123
IV.2. <i>Caractérisation fréquentielle</i>	124
IV.2.1. Impédance théorique de la cuvette	124
IV.2.2. Etude paramétrique de la l'impédance	125
IV.2.3. Impédance mesurée de l'ensemble câble-cuvette	130
IV.2.4. Modélisation de l'impédance de l'ensemble « câble-cuvette »	134
IV.2.5. Comparaison théorie mesure	135
IV.2.6. Identification des résonances.....	137
IV.2.7. Bande passante par mesure.....	138
IV.2.8. Conclusion.....	139
IV.3. <i>Mesures temporelles</i>	139
IV.3.1. Mesure basse tension : caractérisation.....	141
IV.3.2. Traitement et analyse des résultats	143
IV.3.3. Effet de la désadaptation	143
IV.3.4. Connectique.....	144
IV.3.5. Mesure haute tension 10 ns	147

IV.3.6. Mesures haute tension 3 ns : monopolaire et bipolaire	147
IV.3.7. Conclusion.....	149
IV.4. Modélisation numérique	151
IV.4.1. Impédance d'entrée	152
IV.4.2. Cartographie spatio-temporelle	154
IV.4.3. Cartographie fréquentielle	157
IV.4.4. Rayonnement champ lointain	159
IV.4.5. Débit d'absorption spécifique.....	160
V. CONCLUSION	164
VI. REFERENCES	165
CHAPITRE IV : APPLICATEUR MICRODISPOSITIF	167
I. INTRODUCTION	169
II. REPOUSSEMENT DE LA LIMITE FREQUENTIELLE DE LA CUVETTE : BASSE IMPEDANCE	169
III. CELLULE TRIPLAQUE TEM ET CUVETTE.....	172
<i>III.1. Caractérisation fréquentielle.....</i>	<i>173</i>
III.1.1. Exposition par conduction : contact électrodes-solution.....	173
III.1.2. Exposition par électrodes isolées:.....	178
<i>III.2. Mesure temporelle</i>	<i>182</i>
III.2.1. Conclusion.....	183
IV. MICRODISPOSITIF : BIOPUCE.....	184
<i>IV.1. Description du microdispositif.....</i>	<i>185</i>
<i>IV.2. Adaptation et Impédance</i>	<i>187</i>
<i>IV.3. Réponse temporelle aux impulsions :.....</i>	<i>190</i>
IV.3.1. Impulsion monopolaire 10 ns	191
IV.3.2. Impulsion monopolaire 3 ns	192
IV.3.3. Impulsion bipolaire 3 ns	193
<i>IV.4. Adaptation haute fréquence</i>	<i>193</i>
IV.4.1. Impulsion monopolaire 10 ns	196
IV.4.2. Impulsion monopolaire 3 ns	196
IV.4.3. Impulsion bipolaire 3 ns	197
<i>IV.5. Débit d'absorption spécifique.....</i>	<i>198</i>
IV.5.1. Distribution spatiale et histogramme de DAS en fonction de la fréquence	198
<i>IV.6. Influence de l'écoulement de la solution sur les électrodes.....</i>	<i>201</i>
IV.6.1. Influence sur l'adaptation	202
IV.6.2. Influence sur la distribution du champ électrique.....	203
<i>IV.7. Conclusion</i>	<i>205</i>
CONCLUSION GENERALE	207
LISTES DES COMMUNICATIONS ET DES PUBLICATIONS	211
PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS	213

Chapitre I

Figure I.1 : Schéma général de l'étude	24
Figure I.2 : a) Schéma d'un modèle simpliste de cellule, b) la cellule placée entre deux électrodes, c) la cellule après exposition au champ électrique	27
Figure I.3 : Schéma illustrant les applications de l'électroporation [11].	28
Figure I.4 : Caractéristiques d'une impulsion	32
Figure I.5: Forme temporelle d'une impulsion gaussienne et son spectre	32
Figure I.6: Forme temporelle d'une impulsion rectangulaire et son spectre	33
Figure I.7: Forme temporelle d'une impulsion bipolaire et son spectre	33
Figure I.8: Potentiel à travers la membrane cellulaire et la membrane d'une organelle en fonction de la fréquence [22]	35
Figure I.9 : Amplitude du champ électrique en fonction de la durée des impulsions pour les différentes applications biologiques [23].	36
Figure I.10: Schéma bloc du système de génération d'impulsion	41
Figure I.11: Circuit de générateur à décharge de condensateurs [10].	42
Figure I.12 : Circuit principal du générateur de Marx en phases de charge et décharge.	43
Figure I.13 : Signaux de sortie du générateur Blumlein	44
Figure I.14: Schéma de principe du générateur à ondes gelées développé à Xlim.	45
Figure I.15 : Profils temporels des impulsions du générateur Xlim	46
Figure I.16: Système avec commutateur à gaz.	47
Figure I.17: Electrodes à aiguilles :a) Position des électrodes et d'une micropipette de verre contact avec les cellules exposées, tel que vu par le microscope, b) Schéma du système d'application [38].	48
Figure I.18: Applicateur à électrodes aiguilles au bout d'un câble coaxial [39].	49
Figure I.19 (a) Applicateur à 5 électrodes à aiguilles (b) applicateur en anneau avec une électrode à aiguille.	50
Figure I.20: Applicateur à électrodes planaires [42].	50
Figure I.21 : a) Electrodes planaires reliés directement sur le câble coaxial, b) Electrodes planaires reliés à l'aide de fils métalliques sur le câble coaxial [16]	51
Figure I.22: Applicateur à micro-chambres d'électrodes [43].	51
Figure I.23 : Applicateur à micro-chambre à la fin d'un câble coaxial [34].	52
Figure I.24 : Applicateur cuvette biologique à deux électrodes[32].	53
Figure I.25 : a) cuvette d'électroporation et ses dimensions, b) cuvette reliée au générateur c) schéma illustrant la façon de connexion de la cuvette [44].	53
Figure I.26 : Sonde à diviseur de tension capacitif [46]	55
Figure II.1: Variation de la permittivité et des pertes diélectriques en fonction de la fréquence.[2]	72
Figure II.2 : Parties réelle et imaginaire de la permittivité relative complexe de l'eau avec le modèle de Debye sans pertes de conduction	75

Figure II.3 : Pertes diélectriques équivalentes pour l'eau salée _____	77
Figure II.4: Volume de calcul et maille élémentaire _____	79
Figure II.5 : Modèle biologique simplifié de la cellule. (b) Modèle électrique de la cellule exposé entre les électrodes _____	80
Figure II.6: Décomposition du parcours de l'onde qui rencontre un obstacle _____	82
Figure II.7: Maillage FDTD _____	84
Figure II.8: Schéma du système d'exposition _____	86
Figure II.9 : Générateur pulse lab (Puls lab picosecond 2600C) _____	87
Figure II.10: Profil des différentes impulsions entre 2 et 15 ns au niveau du générateur _____	87
Figure II.11: Générateur FID (FPG 10-1SM10, FID Technology, Allemagne) _____	88
Figure II.12: Profil des différentes impulsions générées par le générateur FID pour différentes amplitudes _____	88
Figure II.14: Générateur Horus d'impulsions unipolaire et bipolaire (Horus HT, Limoges, France) : a) source haute tension continue b) système de commande et c) source laser et commutation _____	89
Figure II.13: Spectre des impulsions délivrées par le générateur FID _____	89
Figure II.15: Profil des impulsions générées par le générateur Horus a) impulsion unipolaire, b) impulsion bipolaire _____	90
Figure II.16: Spectres des impulsions fournies par le générateur Horus _____	90
Figure II.18: Extracteur des signaux (245 NMFFP-100, Barth Electronics Technology, USA) _____	92
Figure II.17: Spectres des impulsions fournies par le générateur Horus _____	91
Figure II.19: Coefficient de transmission S_{21} entre l'accès 1 et 2 de l'extracteur des signaux _____	93
Figure II.20: Sonde haute tension (2440, Barth Electronic Technology, USA) _____	94
Figure II.21: Oscilloscope Tektronix (DSO, TDS 6124C, Tektronix, USA) _____	94
Figure II.22: Analyseur de réseaux vectoriel (Agilent technology) _____	95
Figure II.23: Sonde diélectrique (85070E Dielectric probe kit, Agilent, USA) _____	95
Figure II.24: Connecteur haute tension et transition HNB (Barth Electronics Technology, USA) _____	96
Figure II.25: Atténuateur Haute tension de connecteur GHV (GHMF, Barth Electronics, USA) _____	97
Figure II.26: Charges 50 Ω haute tension (GHMF, Barth Electronics, USA) _____	97
Figure II.27: Chronogramme des impulsions sur le système d'exposition _____	98
Figure II.28: Diagramme illustrant la procédure des mesures expérimentales _____	99
Figure III.1: Partie réelle $\epsilon'_{eq}(\omega)$ mesurée et théorique pour la solution NaCl (1.6 S/m). _____	107
Figure III.2: Partie imaginaire $\epsilon''_{eq}(\omega)$ mesurée et théorique (Debye) pour la solution NaCl (1.6 S/m). _____	107
Figure III.3 : Conductivité équivalente $\epsilon'_{eq}(\omega)$ mesurée et théorique (Debye) pour la solution NaCl (1.6 S/m). _____	109
Figure III.4: Partie imaginaire de la permittivité équivalente complexe pour la solution NaCl (1.6 S/m) _____	109
Figure III.5: Schéma du système d'exposition MW avec l'antenne coaxiale _____	113
Figure III.6 : Système d'exposition étudié. a) Cuvette spectrofluométrique avec la solution $a=40$ mm, $b=28$ mm, $c=2$ mm, $d=23.5$ mm, $e=4$ mm, $f=30$ mm. b) Cuvette dans le holder. _____	114

<i>Figure III.7 : Applicateur étudié : a) image de l'antenne coaxiale b) la cuvette et l'antenne coaxiale modélisées, c) la cuvette et l'antenne coaxiale avec le holder modélisé vue latérale, d) la cuvette et l'antenne coaxiale avec le holder modélisé vue de dessus (Dimensions en mm)</i>	116
<i>Figure III.8: Module de coefficient de réflexion de l'applicateur (cuvette et antenne coaxiale)</i>	117
<i>Figure III.9: Distribution du SAR dans le milieu biologique placé dans la cuvette</i>	118
<i>Figure III.10: Distribution du SAR le long du faisceau de lumière à travers la cuvette à 2,45 GHz à 1,2 W de puissance incidente</i>	118
<i>Figure III.11 : Température mesurée dans la solution en fonction du temps pour une puissance 1.2 W</i>	119
<i>Figure III.12: Polarisation générale de la suspension GUV chauffée par une puissance incidente 1,2 W</i>	121
<i>Figure III.13: Cuvette biologique avec deux électrodes</i>	123
<i>Figure III.14 : Impédance théorique de la cuvette pour différentes valeurs de distance entre les électrodes</i>	127
<i>Figure III.15 : Impédance théorique de la cuvette pour différentes valeurs de surface d'électrodes</i>	128
<i>Figure III.16 : Impédance théorique de la cuvette pour différentes valeurs de conductivité électrique</i>	129
<i>Figure III.17 : Cuvette et mesure à l'analyseur de réseau vectoriel.</i>	130
<i>Figure III.18 : Module de coefficient de réflexion mesuré à l'entrée de l'ensemble câble cuvette pour les différentes configurations</i>	131
<i>Figure III.19 : Impédance mesurée à l'entrée de l'ensemble câble cuvette</i>	132
<i>Figure III.20: Impédance mesurée à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette à vide et câble ouvert</i>	133
<i>Figure III.21 : Zoom de la partie haute fréquence de l'impédance mesurée à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette à vide et câble ouvert</i>	133
<i>Figure III.22 : Coefficient k obtenu par mesures</i>	135
<i>Figure III.23 : Impédance mesurée et théorique à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette avec une solution adaptée en échelle linéaire</i>	136
<i>Figure III.24 : Impédance mesurée et théorique à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette pour une solution adaptée en échelle semi-logarithmique</i>	137
<i>Figure III.25: Impédance mesurée à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette et impédance mesurée de la cuvette pour une solution adaptée</i>	138
<i>Figure III.26: Puissance réfléchi et puissance transmise de la cuvette pour une solution adaptée</i>	138
<i>Figure III.27: Schéma détaillé du système d'exposition complet</i>	140
<i>Figure III.28 : Impulsions mesurées au niveau de tap off pour des durées différentes</i>	141
<i>Figure III.29: Impulsions mesurées avec la sonde haute tension au niveau de la cuvette</i>	142
<i>Figure III.30: Signaux incident, réfléchi, différence incident –réfléchi et transmis (Sonde).</i>	143
<i>Figure III.31 : Spectres des impulsions 2 et 10 ns après le générateur et au niveau de la cuvette</i>	144
<i>Figure III.32 : Impédance de la cuvette mesurée avec différents types de câble a) Partie réelle, b) Partie imaginaire</i>	145
<i>Figure III.33 : Signaux mesurés au niveau du tap off pour différents types de câble</i>	146
<i>Figure III.34 : Signaux mesurés au niveau de la cuvette pour différents types de câble</i>	146
<i>Figure III.35 : Allure temporelle des l'impulsion 10 haute tension : incidente, réfléchi et transmise</i>	147

Figure III.36: Allure temporelle des l'impulsion 3 ns monopolaire haute tension : incidente, réfléchie et transmise	148
Figure III.37 : Allure temporelle des l'impulsion 3 ns bipolaire haute tension : incidente, réfléchie et transmise	149
Figure III.38: a) câble de transmission relié à la cuvette, b) cuvette modélisée avec les dimensions	151
Figure III.39: Impédance d'entrée de l'ensemble câble-cuvette pour deux longueurs de câble différentes : a) Echelle linéaire, b) Echelle semi-logarithmique	153
Figure III.40 : Impédance d'entrée de l'ensemble câble-cuvette par simulation et mesure	153
Figure III.41: La cuvette reliée au câble de transmission par modélisation	154
Figure III.42 : Impulsion avec les instants de calcul du champ électrique temporel	154
Figure III.43: Cartographie temporelle du champ E_y à l'instant t_1 pour trois plans z différents	155
Figure III.44 : Cartographie temporelle du champ E_y à l'instant t_2 pour trois plans z différents	156
Figure III.45: Cartographie temporelle du champ E_y à l'instant t_3 pour trois plans z différents	156
Figure III.46: Distribution spatio-temporelle de la tension dans la cuvette :a) Impulsion 10 ns rectangulaire, b) Impulsion 3 ns bipolaire	157
Figure III.47 : Distribution du champ électrique à la fréquence 50 MHz :a) E_z à $x=cte$, b) E_z à $y=cte$, c) E_z à $z=cte$, d) E_x à $z=cte$	158
Figure III.48: Ensemble câble cuvette placé dans le repère cylindrique	159
Figure III.49: Diagramme de rayonnement de l'ensemble câble-cuvette : a) E_{total} dans le plan $(\varphi=0^\circ$ b) E_{total} dans le plan $(\varphi=90^\circ$ c) E_{total} dans le plan $(\theta=0^\circ$, c) E_{total} dans le plan $(\theta=90^\circ$	160
Figure III.50: Valeurs moyennes du DAS en fonction de la fréquence pour 1 W de puissance incidente	161
Figure IV.1 : Schéma du système d'exposition constitué du générateur 10 Ω et la cuvette avec la connexion	170
Figure IV.2: Impulsion délivrée par le générateur 10 Ω obtenue par la simulation FDTD	170
Figure IV.3 : a) Profil temporel de l'impulsion au niveau de la cuvette 10 Ω par simulation et mesure,	171
Figure IV.4: Cellule TEM avec une cuvette placée entre le septum et la masse	172
Figure IV.5: a) Cellule TEM vide, b) Cellule TEM avec la cuvette vide, c) Cellule TEM avec la cuvette remplie d'une solution 50 Ω	173
Figure IV.6: Module de S_{11} pour la cellule TEM avec la cuvette à électrodes en contact	174
Figure IV.7: Impédance pour la cellule TEM avec la cuvette à électrodes en contact : a) Partie réelle, b) Partie imaginaire	175
Figure IV.8: schéma équivalent de la cellule TEM avec la cuvette et la charge	175
Figure IV.9: Cellule TEM chargée à circuit ouvert en sortie avec la cuvette remplie d'une solution 50 Ω	175
Figure IV.10: Impédance pour la cellule TEM avec la cuvette à électrodes en contact d'impédance équivalente 50 Ω a) Partie réelle, b) Partie imaginaire.	176
Figure IV.11: a) Cellule TEM chargée à 100 Ω en sortie avec la cuvette remplie d'une solution 100 Ω ,	177
Figure IV.12 : Module du coefficient de réflexion de la cellule TEM avec la cuvette d'impédance 100 Ω	177
Figure IV.13: Electrodes en contact avec la solution et électrodes isolées	178

<i>Figure IV.14 : Module du coefficient de réflexion pour a) la cellule TEM à vide chargée 50 Ω, b) la cellule TEM avec la cuvette 50 Ω à électrodes isolées, c) la cuvette 50 Ω à électrodes</i>	179
<i>Figure IV.15 : Module du coefficient de réflexion de la cuvette à électrodes isolées pour $\sigma = 0.31$ S/m, la cellule TEM avec la cuvette 50 Ω à électrodes isolées pour $\sigma = 0.31$ S/m, la cellule TEM avec la cuvette 50 Ω à électrodes isolées pour $\sigma = 1.5$ S/m.</i>	180
<i>Figure IV.16: Puissance transmise la cellule TEM avec la cuvette 50 Ω à électrodes isolées</i>	181
<i>Figure IV.17: Puissance absorbée la cellule TEM avec la cuvette 50 Ω à électrodes isolées</i>	181
<i>Figure IV.18: Impulsion mesurée au niveau du tap off pour la cellule TEM avec cuvette 50Ω à électrodes en contact avec la solution</i>	182
<i>Figure IV.19: Système d'exposition « biopuce »</i>	185
<i>Figure IV.20: Ligne coplanaire</i>	185
<i>Figure IV.21: Structure modélisée de l'applicateur biopuce</i>	186
<i>Figure IV.22: Schéma illustrant le microdispositif « biopuce » avec les paramètres géométriques</i>	188
<i>Figure IV.23 : Schéma du microdispositif modélisé avec les dimensions géométriques</i>	189
<i>Figure IV.24: Module de S_{11} à l'entrée du microdispositif en fonction de la fréquence</i>	189
<i>Figure IV.25: Impédance d'entrée du microdispositif en fonction de la fréquence</i>	190
<i>Figure IV.26 : Profil temporel des impulsions appliquées au microdispositif</i>	191
<i>Figure IV.27: Impulsion 10 ns au niveau des électrodes en fonction du temps et tout au long de la structure (adaptée BF)</i>	191
<i>Figure IV.28 Impulsion rectangulaire 3 ns au niveau des électrodes en fonction du temps et tout au long de la structure (adaptée BF)</i>	192
<i>Figure IV.29 : Impulsion bipolaire 3 ns au niveau des électrodes en fonction du temps et tout au long de la structure (adaptée BF)</i>	193
<i>Figure IV.30 : Comportement général de l'impédance en fonction de la fréquence</i>	194
<i>Figure IV.31 : Structure adaptée BF (gauche) et à f_0 (à droite)</i>	194
<i>Figure IV.32 : Impédance du microdispositif adaptée à f_0</i>	195
<i>Figure IV.33 : module de S_{11} du microdispositif adaptée à f_0</i>	195
<i>Figure IV.34 : Impulsion rectangulaire 10 ns au niveau des électrodes en fonction du temps et tout au long de la structure (adaptée f_0)</i>	196
<i>Figure IV.35 Impulsion rectangulaire 3 ns au niveau des électrodes en fonction du temps et tout au long de la structure (adaptée f_0)</i>	197
<i>Figure IV.36 Impulsion bipolaire 3 ns au niveau des électrodes en fonction du temps et tout au long de la structure (adaptée f_0)</i>	197
<i>Figure IV.37 : valeurs moyennes du SAR en fonction de la fréquence</i>	198
<i>Figure IV.38 : Schéma des électrodes illustrant la déformation</i>	201
<i>Figure IV.39 : Différents cas de simulation pour différentes hauteurs de canal</i>	202
<i>Figure IV.40: Coefficient de réflexion pour les différentes hauteurs du canal</i>	203

Figure IV.41 : Cartographie fréquentielle du champ électrique pour la même hauteur du canal et des électrodes

204

Figure IV.42 : Cartographie fréquentielle du champ électrique pour une hauteur du canal triple de celle des électrodes

204

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le bio-électromagnétisme est une branche de la physique qui consiste à étudier les effets des ondes électromagnétiques sur les milieux biologiques. Les propriétés électromagnétiques des tissus biologiques variés font état d'une forte dépendance à la fréquence des ondes électromagnétiques environnantes incidentes. Ces dernières sont caractérisées par des bandes de fréquence différentes suivant l'application que l'on envisage obtenir.

De nombreuses études ont été menées sur cette thématique pluridisciplinaire entre la physique et la biologie. Initialement tournées vers les dispositifs permettant l'évaluation des effets sanitaires éventuels liés à la téléphonie mobile, les études récentes s'orientent aujourd'hui vers les nouveaux signaux de communications sans fil (UMTS, Wifi, EDGE,...) mais aussi vers les signaux impulsionnels ultra rapides appelés « nsPEF » (NanoSecond Pulsed Electromagnetic Field) ou « nanopulse ». Ce type de champ, selon les études présentes dans la littérature, a des effets biologiques qui peuvent être considérés pertinents et peuvent être exploités pour des diverses applications biologiques et médicales telles que la thérapie génétique.

Les milieux biologiques caractérisés par leur complexité et inhomogénéité présentent de nombreux phénomènes physiques et biologiques différents. Chacun de ces phénomènes peut être associé à une certaine bande de fréquence. Ce qui fait que l'influence des impulsions sur les cellules biologiques dépend très largement de la forme temporelle des impulsions appliquées. Ainsi, la réponse d'un milieu biologique dépend des conditions d'exposition et exige la maîtrise des procédures d'expérimentation et de mesure pour assurer la reproductibilité et l'analyse des résultats obtenus. L'étape expérimentale consiste à être capable de générer des impulsions et les amener vers le milieu biologique. Ainsi, il faut développer des systèmes d'exposition composés d'un part du générateur qui permet de délivrer les impulsions électriques et d'autre part de l'applicateur qui contient le milieu cellulaire.

En plus, il est nécessaire de mettre en place une approche numérique qui permettra d'effectuer l'analyse dosimétrique pour la conception et l'interprétation de ces études bioélectromagnétiques. L'aspect numérique est nécessaire pour étudier l'influence des différents paramètres physiques et géométriques sur la réponse et le fonctionnement des systèmes d'exposition. Il permet aussi le calcul de la quantification des champs électriques dans le milieu biologique exposé aux impulsions électriques surtout les paramètres d'exposition spécifique comme le DAS (**D**ébit d'**A**bsorption **S**pécifique). D'autre part, l'approche numérique doit être validée par des mesures expérimentales. L'analyse

dosimétrie des systèmes d'exposition dans les études électromagnétiques prend donc toute son importance.

Les travaux de cette thèse avaient pour objectif le développement et la caractérisation d'applicateur à des impulsions électromagnétiques ultracourtes et de haute amplitude afin de trouver leurs limites et préciser les bonnes conditions de fonctionnement. Mes travaux s'appuyaient sur les mesures expérimentales et l'approche numérique (simulation) pour atteindre ces objectifs. Ces travaux ont été effectués dans le cadre de plusieurs projets de recherche, à savoir le projet « **Champ ElectroMagnétique Impulsionnel Rapide et BIOlogie (CEMIRBIO)** », le projet « **NANopulsebiochip** » et finalement le projet « **Recherche Exploratoire et Innovative** ». Ces projets ont été organisés en collaboration avec l'Agence Nationale de **Recherche (ANR)** et la **Direction Générale d'Armement (DGA)**. En plus, un projet nommé « **Carol Davila** » a été réalisé en collaboration avec l'université de Carol Davila à Budapest.

Ainsi, dans le premier chapitre, le contexte de l'étude sera présenté. Nous commencerons par expliquer les mécanismes et les phénomènes de base de l'interaction du milieu biologique avec les impulsions. Ensuite les principales applications médicales seront présentées brièvement. Une synthèse sur les impulsions sera aussi montrée afin de mettre en évidence les raisons d'utiliser des impulsions ultracourtes (ns, ps) et les effets supplémentaires par rapport aux impulsions de durée plus longue (ms, μ s). Enfin, nous présenterons les systèmes d'exposition en décrivant d'une façon générale les différents types de générateurs. La partie applicateur sera décrite afin de bien préciser la problématique par rapport aux limites des différents types applicateurs vis-à-vis des impulsions. Les différents paramètres en jeu seront définis surtout l'adaptation de l'applicateur avec le générateur, leur couplage et les notions d'énergie et du courant.

Dans le deuxième chapitre, nous présenterons une étude théorique des propriétés électromagnétiques des milieux diélectriques. Les équations reliant ces propriétés aux champs électromagnétiques seront expliquées afin de comprendre le comportement fréquentiel du milieu biologique et le situer par rapport aux spectres des impulsions utilisées. Ensuite, une partie sera consacrée à l'aspect numérique et la méthode des différences finies sera notre outil de base pour faire des simulations numériques. Enfin, les différents moyens expérimentaux existants au laboratoire XLIM seront présentés avec leurs caractéristiques.

Le troisième chapitre est constitué de trois parties. La première concernera la caractérisation électromagnétique des milieux biologiques par théorie et mesure. La deuxième partie sera consacrée à l'étude dosimétrique d'un système d'exposition in vitro utilisé pour

des expositions microondes à 2.45 GHz. Ce système est basé sur une cuvette biologique et antenne coaxiale enfoncée dans le milieu biologique. La troisième partie consistera à étudier un applicateur qui est la cuvette biologique avec des électrodes métalliques. Le comportement fréquentiel ainsi que la réponse temporelle de la cuvette aux différentes impulsions seront étudiés dans le but de définir les limites de fonctionnement de la cuvette.

Pour finir, le quatrième et dernier chapitre sera composé de deux parties. La première consistera à proposer les solutions pour affranchir les limites de la cuvette à électrodes et augmenter sa bande passante pour qu'elle soit adaptée pour des impulsions plus courtes. Dans ce but, un système sera proposé et basé sur la cellule triplaque TEM dans laquelle est placée une cuvette biologique. La deuxième partie sera l'étude d'un applicateur nommé « microdispositif ou biopuce » basé sur la géométrie des lignes coplanaires et il est utilisé pour des applications microfluidiques. Une étude dosimétrique et numérique sera détaillée et présentée pour cet applicateur.

Ce mémoire se termine par une conclusion sur les travaux présentés et par les perspectives de développement possibles.

CHAPITRE I : CONTEXTE DE L'ÉTUDE ET ÉTAT DE L'ART

I. INTRODUCTION

Notre étude concerne l'effet des impulsions électriques de courte durée (ns, ps) et de haute amplitude (dizaine de kilovolts) sur les cellules biologiques. Les premiers travaux de base sur les champs électriques pulsés appelés en anglais « NanoSecond Pulsed Electric Fields » (nsPEF) se sont concentrés autour de diverses applications biologiques comme la décontamination bactérienne athermique et la pasteurisation athermique de la nourriture en appliquant des impulsions de durée entre 300 μ s et 50 ns.

L'application des nsPEF sur un milieu biologique exige la mise en place des bancs d'exposition qui permettent de réaliser des expérimentations dans des conditions précises et maîtrisées sur les deux aspects physique et biologique. L'influence des champs électromagnétiques sur des cellules dépend très largement des caractéristiques des impulsions appliquées (forme temporelle, durée, amplitude..). Pour cela il faut être capable de générer des impulsions dont on maîtrise la forme, la durée, et l'amplitude. Il faut ensuite amener ces impulsions vers le milieu biologique de façon à appliquer le maximum d'énergie ou de tension sur ce milieu.

L'utilisation des champs électriques forts et de durée ultracourte a amené les chercheurs à se poser des questions sur la consommation d'énergie et les effets thermiques à cause des niveaux d'amplitude élevés (de l'ordre de dizaines de kV), la limite en tension (claquage) pour les différents matériaux utilisés, et la maîtrise des formes d'onde se propageant du générateur vers l'applicateur.

L'objectif général de notre travail (Figure I.1) est d'étudier et caractériser des systèmes d'exposition composés d'une part du générateur qui permet de délivrer les impulsions électriques et d'autre part de l'applicateur qui contient le milieu cellulaire. Ces systèmes sont réalisés dans le but d'étudier l'effet des champs électriques sur les cellules biologiques en faisant de la dosimétrie et des expériences biologiques (sanitaire, thérapeutique...).

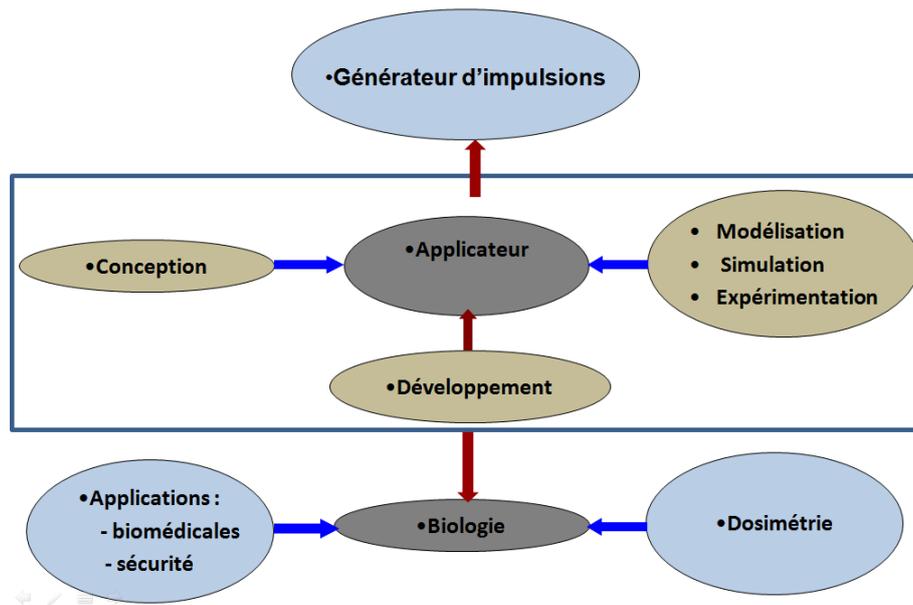


Figure I.1 : Schéma général de l'étude

Notre travail se focalise sur la conception et la caractérisation de la partie « applicateur » des systèmes d'exposition d'un milieu biologique à des impulsions électriques de très courtes durées et de hautes amplitudes. Les applicateurs sont caractérisés théoriquement en s'appuyant sur la modélisation numérique et expérimentalement par des mesures effectuées en basse et haute tension. L'étude des applicateurs a été faite dans le cadre de collaboration avec l'équipe de Lluís Mir à l'institut de Gustave Roussy à Villejuif.

Ce chapitre présente le contexte de l'étude avec les deux aspects biologique et physique. Dans une première partie, nous présentons un historique qui décrit les premières études sur les effets des champs électromagnétiques sur les cellules biologiques avec les premiers résultats obtenus. Ensuite, les phénomènes de base de l'interaction entre les impulsions et les cellules biologiques sont décrits.

Enfin, les différents systèmes d'exposition, parties génération et applicateur, présents dans la littérature sont présentés et analysés.

II. HISTORIQUE

L'article [1] reprend l'historique des premières études sur les effets des champs électriques pulsés sur la viabilité des micro-organismes qui ont débuté au début des années 60. Les premiers résultats expérimentaux sur les paramètres électriques et microbiologiques montraient une perturbation irréversible aux niveaux de la membrane de cellules. Une

première utilisation des champs électriques pulsés pour la décontamination des bactéries a vu le jour avec une approche différente des méthodes et techniques traditionnelles (la filtration, le traitement chimique). La décontamination bactérienne employant des impulsions élevées de champ électrique a été rapportée d'abord dans les articles parus en 1967 par Sale et al [2][3] en 1967 et 1968. Le mécanisme causant la réduction de la viabilité de la cellule est supposé être basé sur l'augmentation de la perméabilité de la membrane externe exposée à des impulsions de durées relativement longues (ordre de grandeur de la milliseconde). Une telle augmentation dans la perméabilité de la membrane de cellules avec l'augmentation de l'amplitude du champ électrique avait été déjà prévue par Coster et al dans l'article [4] en 1965 comme mécanisme pouvant lyser les cellules. Dans les années 70, le groupe de Zimmermann à l'université de Würzburg en Allemagne, continuait sur le concept de la décharge diélectrique des membranes de cellules. Dans les années 80, les chercheurs à Hanovre, Allemagne, se sont également concentrés sur les effets mortels des champs électriques pulsés sur les bactéries et les cellules de levure. Après ces études de base, une partie des travaux de recherche sur les champs électriques pulsés s'est concentrée sur la décontamination bactérienne, avec dans la plupart des études des impulsions microseconde et milliseconde. Une revue sur la pasteurisation athermique de nourriture avec les champs électriques pulsés a été éditée par Wouters et al [5] en 1997.

Plus récemment, des équipes de recherche sur l'effet des impulsions électriques ultracourtes sur les cellules biologiques pour des applications cliniques ont continué leurs travaux sur deux voies :

- La première se basant sur l'électroperméabilisation des cellules, menée par les équipes de Lluís Mir [6], Justin Tessié [7] et Damijan Miklavcic [8] pour des applications d'électrochimiothérapie à savoir le traitement des cellules cancéreuses et transfert d'ADN. Dans ce cas, la membrane des cellules est affectée et il y a création de pores sans qu'elle soit détruite et le phénomène de l'électroporation est réversible. Ces études ont été menées dans le cadre des projets européens « ESOPE », « ANGIOSKIN » et « Cliniporateur » pour faire l'électrotransfert d'ADN.
- Au cours des trois dernières décennies, l'électroporation irréversible a été considérée comme un effet secondaire indésirable et a été étudiée seulement pour définir la limite supérieure de paramètres électriques qui induisent l'électroporation réversible. Toutefois, au cours des dernières années,

l'électroporation irréversible a émergé en exposant les cellules à des niveaux de champs électriques de façon à avoir la destruction irréversible de leur membrane extérieure. Ce type d'étude a été fait par Rubinsky [9] pour faire de l'ablation de tissus avec l'électroporation irréversible.

L'effet des nsPEF sur les cellules biologiques ainsi que les mécanismes sont expliqués et détaillés dans la partie suivante.

III. INTERACTION ENTRE LE CHAMP ÉLECTRIQUE ET LA CELLULE

Dans cette section, le phénomène d'interaction de la cellule avec un champ électrique du point de vue électromagnétique va être décrit. Les principaux effets (primaires et secondaires) sont des phénomènes électriques qui se produisent sur les structures cellulaires et provoquent un changement de l'état des structures cellulaires.

III.1. Effets primaires : Electroporation classique et irréversible

Une cellule biologique est composée essentiellement d'une membrane entourant un liquide appelé le cytoplasme (figure I.2). La membrane des cellules biologiques peut être assimilée du point de vue électrique à un isolant constitué d'une bicouche bilipidique d'épaisseur environ 5 nm contenant des protéines. Cette bicouche représente 50 % de la masse de la plupart des membranes de la cellule. Elle est la structure de base et sert de barrière qui est relativement imperméable au passage de molécules plus petites et des ions. La membrane est caractérisée électriquement par la permittivité (ϵ). D'autre part, le cytoplasme peut être assimilé à un milieu qui est modérément conducteur et qui a une résistivité ρ ($\Omega.m$) ou par sa conductivité électrique σ (S/m) qui est l'inverse de la résistivité. L'application d'un champ électrique à la cellule en plaçant cette dernière entre deux électrodes induit un déplacement de charges (Force de Coulomb). Il en résulte un courant qui entraîne l'accumulation des charges électriques de part et d'autre de la membrane cellulaire (figure I.2) et en conséquence une tension à travers la membrane [10].

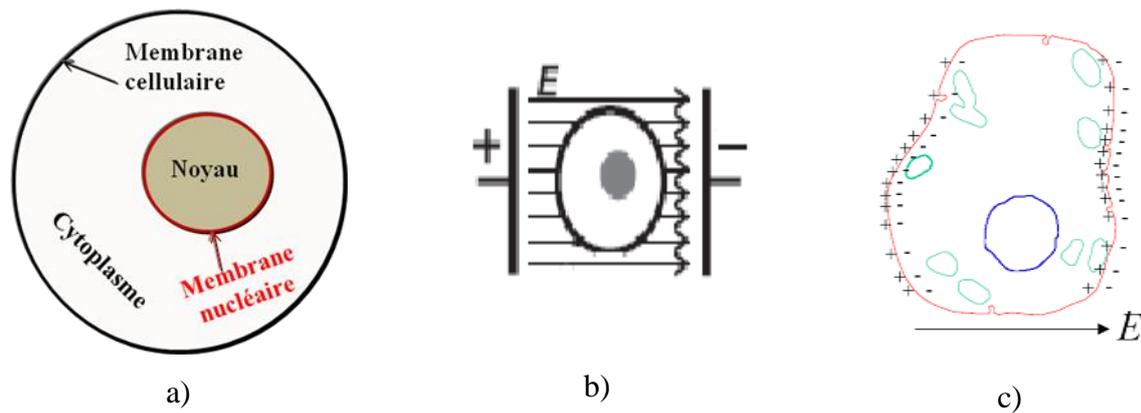


Figure I.2 : a) Schéma d'un modèle simpliste de cellule, b) la cellule placée entre deux électrodes, c) la cellule après exposition au champ électrique

Le premier effet résultant de l'interaction des impulsions électriques avec la cellule est l'électroporation classique qui peut être définie par le changement de la structure de la cellule suite à la formation de pores dans la membrane lors de l'exposition à un champ électrique. Un effet observable est l'augmentation rapide de la conductivité électrique de la cellule. Cette augmentation est due à la formation des pores dans la membrane de la cellule. Donc, sous l'application des champs électriques, la cellule devient de plus en plus perméable et transparente. En effet, une électroperméabilisation de la cellule a lieu, se traduisant par l'augmentation significative de la perméabilité de la membrane. Il y aura la formation de pores qui représente également l'augmentation de la conductivité de la membrane ou également la diminution de la résistance au passage des ions à travers la membrane. Dans ce cas, l'électroperméabilisation des cellules est un phénomène général, non thermique et réversible. Il permet l'entrée de molécules non perméantes directement dans le cytoplasme cellulaire, tout en préservant l'intégrité des vésicules internes. Dans l'état de perméabilité élevée, la membrane plasmique permet le passage des petites et grandes molécules et des ions dans le cytoplasme. En revanche, à l'état normal, cette membrane représente une barrière considérable pour ces particules [11] [12] [13] [14].

Les charges accumulées de part et d'autre de la membrane expliquent le « comportement capacitif » de la cellule exposée et impliquent la présence d'une tension appelée « potentiel transmembranaire » dont l'ordre de grandeur est de quelques millivolts à quelques volts. L'électroporation reste un phénomène réversible tant qu'on n'a pas dépassé un seuil critique de potentiel transmembranaire. La cellule survivra si le champ n'est ni très fort ni très long et elle revient à son état physiologique normal. Si ce seuil critique est dépassé, il y aura formation de pores de rayon assez grand et ce phénomène sera irréversible et la mort de la cellule surviendra. L'électroporation classique et irréversible est utilisée pour introduire des

molécules dans des cellules. De nombreuses applications commencent à émerger comme le montre la figure I.3:

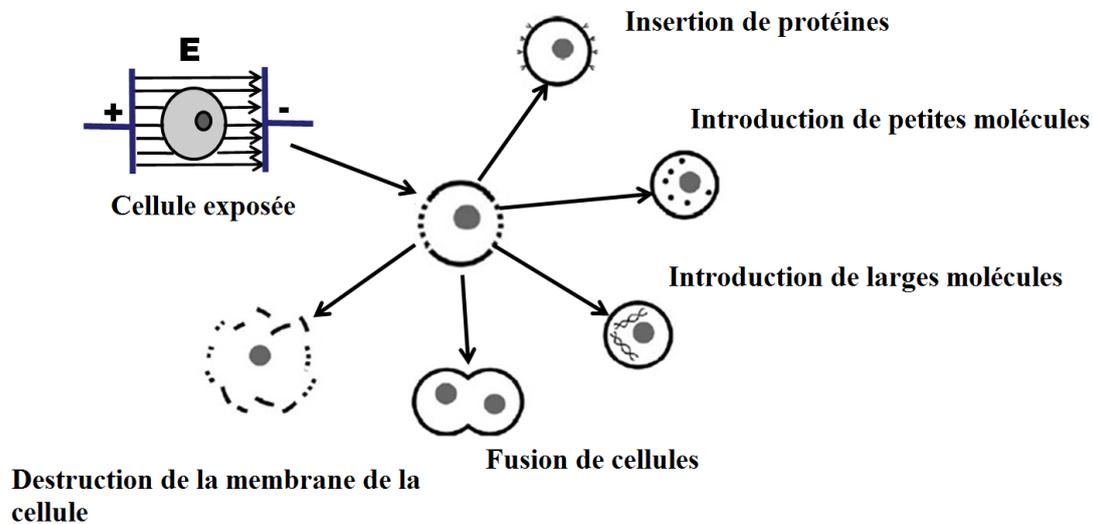


Figure I.3 : Schéma illustrant les applications de l'électroporation [11].

Les cellules ont des diamètres de l'ordre de quelques μm . La membrane et le cytoplasme de la cellule sont caractérisés par une résistivité et une valeur de permittivité. Par exemple, pour les cellules mammifères, le diamètre est égal à $10 \mu\text{m}$, la capacité de la membrane plasmique est d'environ $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, et la résistivité du cytoplasme est l'ordre de $100 \Omega\cdot\text{cm}$. Le temps de charge de la membrane cellulaire est environ 75 ns . Il dépend des dimensions de la cellule et ses propriétés diélectriques. Ainsi si on émet des impulsions de durée plus grande que le temps de charge de la membrane extérieure, alors seule cette dernière se charge. Dans ce cas, les membranes des sous structures cellulaires ne sont plus affectées [15]. Si la durée des impulsions devient très courte, le champ électrique peut traverser la membrane extérieure et affecter les structures sous cellulaires. Ceci rend possible la modification des fonctions de la cellule sans endommagement permanent de la membrane extérieure [11] [15].

La membrane plasmique étant un milieu diélectrique d'épaisseur de quelques nanomètres, ceci conduit à des champs électriques au niveau de la membrane de la cellule de la centaine de kV/cm . Il est donc nécessaire, pour perturber électriquement l'édifice membranaire, d'imposer un champ électrique intense pendant un certain temps. L'application des impulsions doit être faite de façon à éviter l'échauffement thermique par effet Joule pour ne pas endommager les cellules exposées suite à une augmentation importante de température.

III.2. Effets secondaires

Les effets secondaires représentent les applications dues au changement du fonctionnement de la cellule biologique exposée aux nsPEF. Ces effets sont maintenant présentés et succinctement décrits.

III.2.1. Apoptose

L'apoptose est la mort programmée de la cellule. Elle peut être définie par un processus par lequel des cellules déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal appliqué à ces cellules. Afin d'étudier l'induction d'apoptose par des impulsions ultracourtes, des expériences sur des cellules de Jurkat et des cellules HL-60 soumises à cinq impulsions de 10, 60, et 300 ns ont été effectuées avec les champs électriques s'étendant de 300 kV/cm (pour 10 ns) à plusieurs dizaines de kilovolts par centimètre pour les longues impulsions. La suspension de cellules a été placée dans une cuvette à électrodes métalliques. Les expériences effectuées sur l'intégrité de membrane extérieure ont montré que des impulsions de durée égale à 10 ns et d'amplitude de champ 300 kV/cm n'affectent pas l'intégrité de la membrane plasmique et produisent l'apoptose. Pour les impulsions de durée 60 ns, seules les valeurs de champ électrique élevées (60 kV/cm) ont entraîné un léger effet sur la membrane externe [16].

III.2.2. Dégagement intracellulaire du Calcium

Les impulsions ultracourtes dont les amplitudes de champ électrique sont inférieures à celles exigées pour induire l'apoptose, ont été utilisées pour déclencher des réponses physiologiques dans les cellules. L'une de ces réponses est le dégagement intracellulaire de calcium. Ce dernier est stocké dans les sous structures cellulaires et surtout la mitochondrie. A titre d'information, une élévation de concentration du Calcium a été obtenue en appliquant des impulsions de durée 300 ns et d'amplitude de champ électrique de l'ordre de 12 kV/cm [16].

III.2.3. Augmentation des expressions des gènes

Les impulsions ultracourtes semblent avoir des effets prédominants sur les membranes sous cellulaires. Elles pourraient être employées pour modifier la membrane nucléaire et pour augmenter la livraison de gène au noyau après une électroporation classique de membrane plasmique. Ceci permettrait l'introduction de l'ADN de plasmide à travers la membrane de cellules. Ce phénomène peut être relié à l'augmentation progressive de la perméabilité de la membrane nucléaire [16].

D'autres applications biologiques comme la thérapie génique, décontamination bactérienne [18][19], peuvent être obtenues sous l'application d'impulsions électriques ultracourtes et de haute tension.

IV. APPLICATIONS MÉDICALES

IV.1. Traitement des tumeurs

Une des applications médicales principales des nanopulses est le traitement de tumeurs, et en particulier le traitement du cancer de la peau. Des impulsions électriques de durée de 300ns et d'amplitude 40kV/cm peuvent provoquer la disparition totale du cancer de la peau (mélanome) chez la souris [20].

IV.2. Traitement des plaies

Il a été montré que l'exposition à des impulsions de 300 ns d'amplitude de 30 kV/cm provoque l'association des plaques et la production d'un gel de plaques qui aide à la fermeture des blessures.

Donc, l'interaction des impulsions électriques avec les cellules biologiques présente des effets qui peuvent être manipulés dans le but d'atteindre des applications médicales et sanitaires. Les applications citées ci-dessus, sont dues soit au changement de la structure des cellules exposées (effets primaires), soit au changement de leurs fonctions (effets secondaires).

V. ETUDES IN VITRO ET IN VIVO

L'exposition des milieux biologiques aux impulsions électriques peut être effectuée de deux façons:

In vitro : des cellules biologiques et des tissus (animaux et humains) sont mis dans leurs milieux de culture pour évaluer les interactions particulières, observables à l'échelle des cellules et des tissus.

In vivo : le corps biologique (être humain ou animal) est exposé en temps réel dans un laboratoire permettant d'évaluer les effets biologiques potentiellement dangereux et de réaliser en milieux hautement conditionnés des expériences qui ne seraient pas envisageables, au plan logistique avec des sujets humains.

La synthèse bibliographique met en évidence qu'un nombre restreint de groupes travaille sur le domaine du bioélectromagnétisme et notamment sur l'effet des impulsions électromagnétiques ultracourtes sur les cellules biologiques. On peut citer parmi les principaux :

- Karl Schoenbach (BioElectrics Center, Old Dominion University, Norfolk, Virginie USA)
- Thomas Vernier et Martin Gunderson (University of Southern California, Los Angeles)
- J. Weaver (HST Biomedical Engineering Center, Harvard-MIT Division of Health Sciences and Technology, Cambridge, MA USA)
- Zimmerman (University of Wisconsin, Madison, WI 53706 USA)
- Damijan Miklavcic (University of Ljubljana, Faculty of Electrical Engineering, Ljubljana, Slovenia)
- Lluís MIR (UMR CNRS, Institut Gustave-Roussy, F-94805 Villejuif, France)
- Justin TESSIE (Institut de pharmacologie et de biologie structurale, UMR 5089 CNRS, Toulouse, France)

VI. LES IMPULSIONS

L'efficacité des phénomènes de l'électroperméabilisation et l'électroporation dépend fortement des paramètres des impulsions électriques (figure I.4) auxquelles sont exposées les cellules. Les impulsions sont des signaux qui varient en fonction du temps sans porteuse. Une impulsion est caractérisée par les paramètres suivants:

- La durée
- L'amplitude
- Le temps de montée
- La forme temporelle

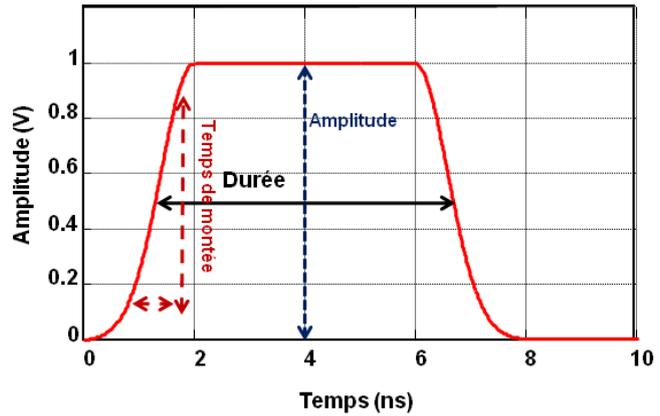


Figure I.4 : Caractéristiques d'une impulsion

VI.1. Types d'impulsions

Les figures I.5, I.6 et I.7 montrent trois types d'impulsions avec leurs caractéristiques:

La première impulsion est de forme gaussienne. La durée peut être calculée à mi-hauteur. Le temps de montée est calculé de la façon suivante : $t_{90\%}-t_{10\%}$. Le spectre est également présenté. Il a une forme gaussienne.

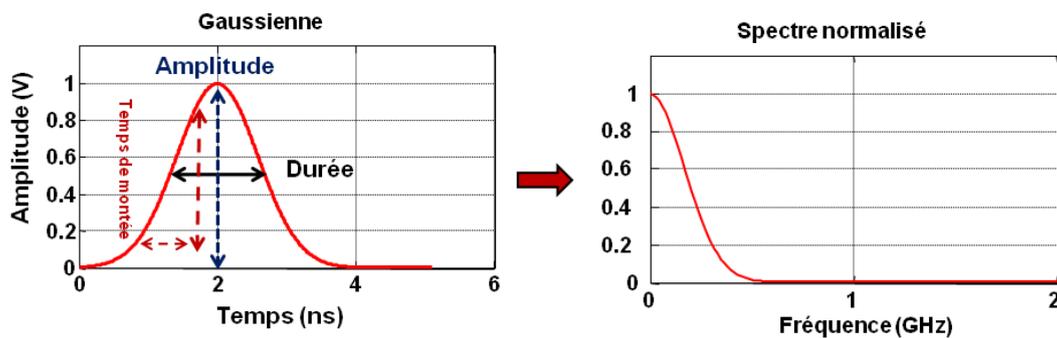


Figure I.5: Forme temporelle d'une impulsion gaussienne et son spectre

Un autre type est l'impulsion monopolaire rectangulaire. Elle est caractérisée par une amplitude unipolaire. Sa durée est définie par la largeur à mi-hauteur. Le temps de montée est calculé de la même façon que celui de l'impulsion gaussienne : $t_{90\%}-t_{10\%}$. Le spectre de ce type d'impulsion est de forme sinus cardinal.

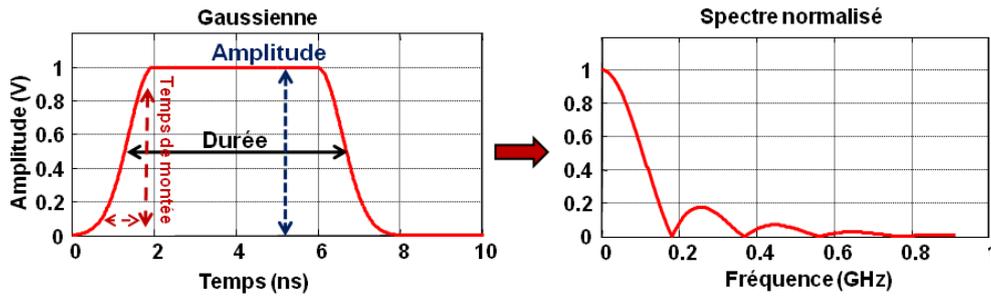


Figure 1.6: Forme temporelle d'une impulsion rectangulaire et son spectre

Il existe aussi des impulsions de type bipolaire. Ce type d'impulsions présente deux polarités, à savoir positive et négative. La différence avec les impulsions précédentes est que le spectre est maximum à une fréquence f_0 qui dépend de la forme de l'impulsion.

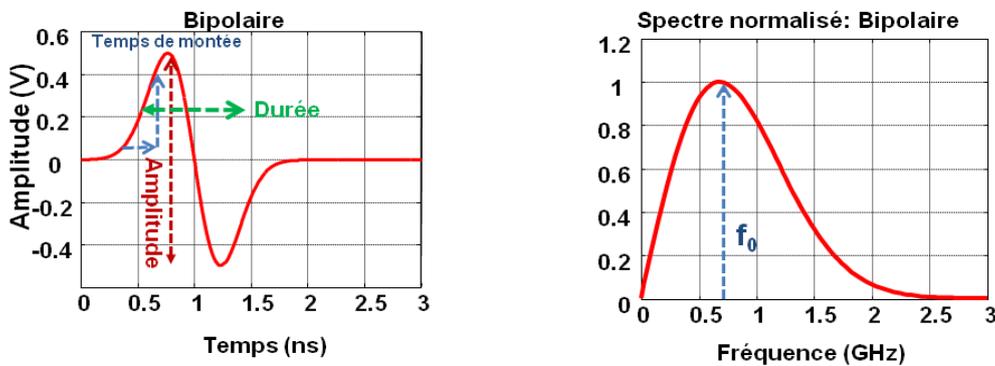


Figure 1.7: Forme temporelle d'une impulsion bipolaire et son spectre

VI.2. Les paramètres d'impulsions en jeu

Les paramètres qui contrôlent l'interaction des cellules biologiques avec les impulsions électriques sont présentés et expliqués ci-après :

- **La forme temporelle:** à chaque forme temporelle d'une impulsion correspond un spectre fréquentiel spécifique. Le temps de montée correspond aux composantes hautes fréquences (HF) du spectre et la partie constante ou continue représente la partie basse fréquence du spectre. Le spectre détermine donc la distribution de l'énergie en fonction de la fréquence. Le milieu biologique est caractérisé par des propriétés qui varient en fonction de la fréquence (voir chapitre 2). Ainsi le comportement du milieu est limité par des phénomènes physiques associés à des bandes de fréquence différentes. La réponse du milieu dépend fortement de la forme de l'impulsion et de son spectre.

- **La durée et le temps de montée** de l'impulsion sont très importants vis-à-vis des cibles à exposer au niveau de la cellule. La durée de l'impulsion est comparée au temps de charge de la membrane cellulaire. En plus, la durée de l'impulsion joue un rôle important pour la quantification de l'énergie fournie et la possibilité d'avoir un échauffement thermique.
- **L'amplitude** de l'impulsion permet d'atteindre des niveaux de champ électrique permettant de perturber les structures cellulaires. La formation des pores dans la membrane de la cellule dépend de la valeur du potentiel créé et d'un niveau critique de champ électrique qui permet d'avoir d'un diamètre critique de pore. Pour des tensions inférieures à la valeur critique, les pores ouverts se referment avant d'avoir atteint leur diamètre critique. Au-dessus de la valeur critique de champ, les diamètres des pores augmentent considérablement et la membrane ne revient pas à son état initial. Dans l'article [1], afin de réduire la concentration de micro-organismes d'un pourcentage déterminé, on a montré que toute réduction de la durée de l'impulsion doit être compensée par une augmentation de l'intensité du champ électrique pour garder le même niveau d'énergie.

VI.3. Vers des impulsions plus courtes

Le mécanisme de base dû à l'interaction de la cellule avec le champ électrique est déjà expliqué. Les impulsions de durée relativement longues (ms, μ s) permettent la charge de la membrane externe de la cellule (75 ns). L'électroporation classique de la membrane cellulaire se produit. Si une impulsion de très courte durée et dont le temps de montée est faible devant la constante de temps propre de la membrane est appliquée, la membrane n'a pas le temps de se charger et les charges électriques ne s'accumulent pas aux bords de la membrane d'autant plus qu'elle a une faible conductivité. Dans ce cas, l'impulsion traverse la membrane cellulaire vers les membranes des sous-structures cellulaires. C'est l'électroporation des membranes intracellulaires qui a lieu car ces dernières ont une épaisseur plus petite que celle de la membrane externe et elles ont une constante de temps de plus petite (15 ns). Pour comprendre ce processus, la figure I.8 montre les potentiels créés au niveau de la cellule (membrane externe) et d'une organelle à l'intérieur de la cellule (mécanisme intracellulaire) en fonction de la fréquence [22]. Aux basses fréquences, c'est le potentiel au niveau de la cellule qui est majeur et l'organelle présente un potentiel presque nul. Lorsque la fréquence

augmente, le potentiel de la membrane commence à décroître et celui de l'organelle augmente sans pour autant dépasser la valeur maximale du potentiel de la membrane (figure I.8).

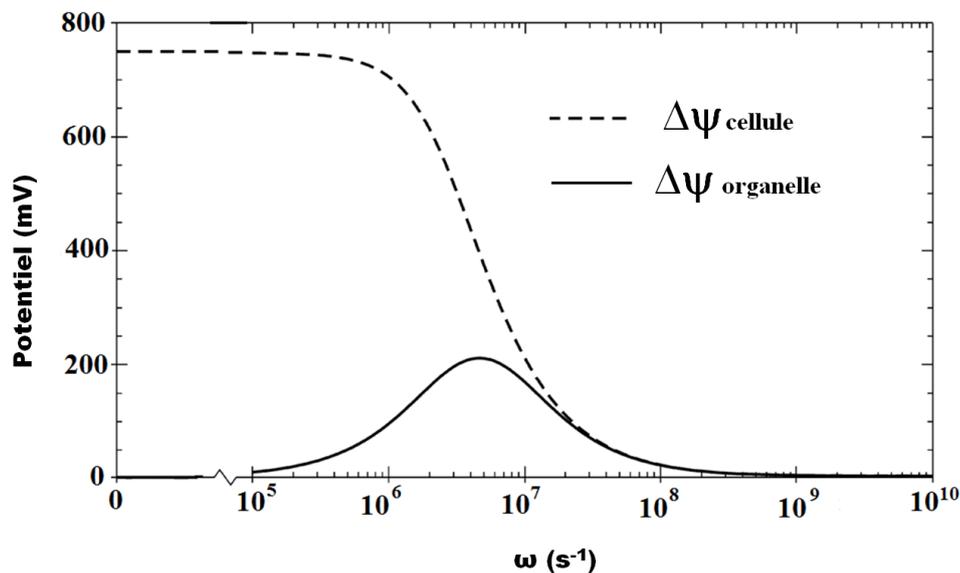


Figure I.8: Potentiel à travers la membrane cellulaire et la membrane d'une organelle en fonction de la fréquence [22]

Trois grandes catégories d'effets peuvent être mises en évidence suivant la configuration du champ électromagnétique impulsionnel appliqué :

- les impulsions lentes (domaine de la milliseconde), d'amplitude inférieure à 10 kV/m permettent d'accélérer le déplacement des molécules à travers la membrane et de pouvoir traiter plus efficacement le milieu intracellulaire,
- les impulsions relativement rapides (domaine de la microseconde) et d'amplitude moyenne (quelques dizaines de kV/m) rendent poreuse la membrane externe de la cellule permettant ainsi l'introduction de substances appropriées dans le milieu cellulaire : l'électroporation classique,
- les impulsions ultra rapides (domaine de la nanoseconde) et de très grande amplitude (supérieure au MV/m) ont peu d'effet sur la membrane externe de la cellule mais les champs appliqués pénètrent dans le milieu interne et agissent sur les membranes des sous-systèmes cellulaires (mitochondries, organelles ou encore le noyau par exemple) permettant d'entrevoir alors des applications particulièrement essentielles comme

l'introduction d'ADN dans le noyau (thérapie génique) ou la destruction de cellules par un effet sélectif des champs sur certaines sous-structures.

Les différents paramètres notamment la durée de l'impulsion et l'amplitude du champ électrique peuvent être déterminées en fonction de l'application biologique (figure I.9). Les premières applications ont été exploitées avec des impulsions relativement longues de l'ordre des millisecondes comme le transfert de gènes. Dans le cas d'utilisation de ces impulsions, la limite de viabilité des cellules exposées est précisée par l'augmentation de la température et le seuil critique du potentiel transmembranaire. L'étude menée par K. Schoenbach et al dans l'article [23] a montré que pour les cellules mammifères, le seuil de tension critique est égal à 1 V et la valeur de température critique est 10 K.

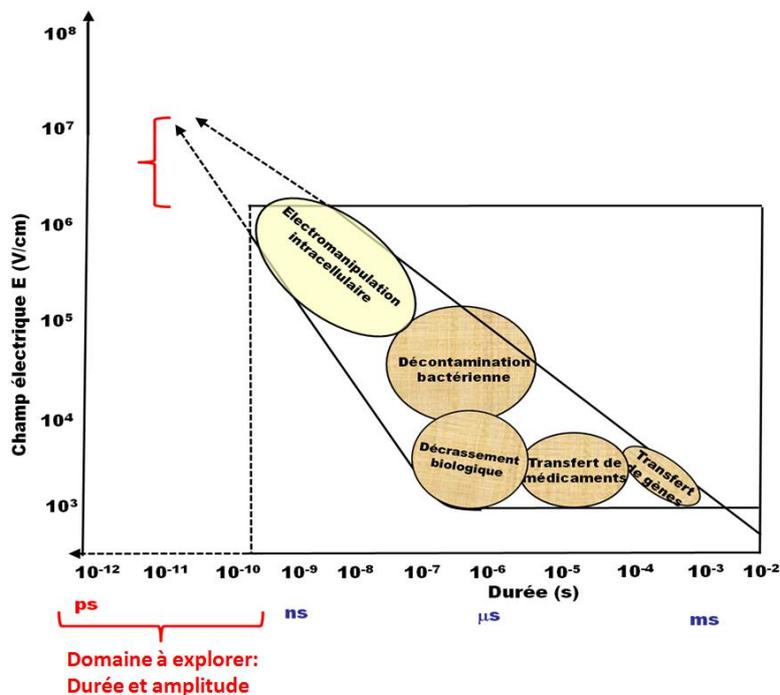


Figure I.9 : Amplitude du champ électrique en fonction de la durée des impulsions pour les différentes applications biologiques [23].

Afin de pousser les limites de la destruction des cellules exposées aux nsPEF, des impulsions plus courtes et d'amplitudes plus grandes ont été utilisées. La durée plus courte permet davantage d'affecter les structures intracellulaires et il en résulte d'autres applications biologiques (figure I.9).

Aujourd'hui de nouvelles applications sont en train d'apparaître et nécessitent des impulsions très courtes et des champs électriques de très haute amplitude (gauche du

diagramme dans la figure I.9). Ces applications ou effets s'appellent « électromanipulation intracellulaire ». Vu leur durée ultracourte, de l'ordre de nanoseconde, ces impulsions ont des effets sur les structures subcellulaires qui peuvent servir pour des applications comme la thérapie génique et le traitement des tumeurs.

L'utilisation des impulsions plus courtes exigent des niveaux de champs plus élevés. Ceci nécessite l'étude des quantités d'énergie produites afin de déterminer leur effet sur le milieu exposé. La partie suivante présente une synthèse de la quantité d'énergie en fonction des impulsions mises en place.

VI.4. Energie et impulsions électriques

La densité d'énergie absorbée par le milieu exposé à une impulsion appliquée est calculée à partir de la formule suivante :

$$w = \frac{E^2 \times T}{\rho}$$

Avec :

- E l'amplitude du champ électrique appliqué (V/m)
- T la durée de l'impulsion (s)
- ρ la résistivité du milieu biologique ($\Omega.m$)

L'énergie dépend ainsi à la fois de l'impulsion appliquée (durée et amplitude) et du milieu exposé.

L'article de Garner et al paru en 2004 [24] étudie la densité d'énergie pour des impulsions de durées différentes et des niveaux de champs électriques différents. Le milieu biologique utilisé dans les expérimentations a une résistivité égale à 1,1 k Ω .cm. Cette valeur est typique pour un milieu biologique. Deux durées différentes d'impulsions ont été utilisées :

- Une impulsion de durée égale à 50 μ s avec des niveaux de champ électriques égaux à 1.1 kV/cm et 2 kV/cm.
- Une impulsion de durée égale 10 ns avec des niveaux de champs électriques égaux 78.5 kV/cm et 140 kV/cm.

A partir de ces données, il est possible de calculer les valeurs numériques de l'énergie données dans le tableau I.1:

Durée	Amplitude	Energie
50 μ s	1.1 kV/cm	55 mJ/cm ³
	2 kV/cm	180 mJ/cm ³
10 ns	78.5 kV/cm	55 mJ/cm ³
	140 kV/cm	179 mJ/cm ³

Tableau I.1 : Energie électrique des impulsions en fonction de la durée et l'amplitude

Les densités d'énergie ont été choisies afin de minimiser les effets thermiques de sorte que seuls les effets électriques des impulsions soient importants. Comme on le voit, la même quantité d'énergie est obtenue pour des impulsions de durées et d'amplitudes différentes. Pour une durée d'impulsion plus courte, on applique une tension plus grande pour atteindre le même niveau d'énergie qu'une impulsion plus longue et d'amplitude plus petite. Sachant que la capacité calorifique spécifique de l'eau est égale à $4,184 \text{ J/}^\circ\text{C}^{-1}/\text{g}^{-1}$, et sa masse volumique étant 1 g/cm^3 , l'élévation de température due aux valeurs d'énergie 55 mJ/cm^3 et 180 mJ/cm^3 ont été respectivement $0,013 \text{ }^\circ\text{C}$ et $0,053 \text{ }^\circ\text{C}$.

D'autre part, l'article de BEEBE et al paru en 2002 [5] a montré des expériences réalisées sur des cellules de type JURKAT dont la valeur de résistivité est $100 \text{ } \Omega \cdot \text{cm}$. Des impulsions de durées 10, 60 et 300 ns et d'amplitude de champ électrique respectivement 150, 60 et 26 kV/cm permettent d'avoir une énergie entre 1 et 2 J/cm^3 .

En outre, l'article de Deng et al [13] présente des expérimentations dans lesquelles des cellules de type Jurkat ont été exposées à des impulsions de durées 100 μ s et 300 ns avec des amplitudes de champ électrique qui sont respectivement 3 kV/cm et 55 kV/cm. Le milieu cellulaire a une résistivité $100 \text{ } \Omega \cdot \text{cm}$. La quantité d'énergie est la même pour les deux types d'impulsions et égale à 9 J/cm^3 .

VI.5. Synthèse des impulsions

Pour observer l'évolution des études concernant l'effet des impulsions électromagnétiques sur les cellules biologiques, le tableau I.2 présente le bilan des impulsions utilisées ainsi que leurs caractéristiques:

Durée	Temps de montée	Amplitude	Forme	Energie	Fréquence	Référence
300	30 ns	4-8 kV	Créneau		0.5 Hz	[25]
280	40ns	5 kV/cm	Trapèze			[16]
60 ns		12 kV/cm	Créneau	85mJ/cm ³	1.6 Hz	[20]
	2 ns	100 kV/cm	Carrée			[26]
		9 MV/m	Trapèze	0.49J/0.1mL		[27]
50 ns		20-300 kV/cm	carré		20 Hz	[28]
32 ns	8 ns	100 kV/cm				[29]
20 ns	2-3 ns	60 kV/cm	carré		20 Hz	[30]
11 ns	1.7 ns	25 kV/cm	Trapèze			[16]
10 ns	1ns	150 kV/cm	Créneau	55 J/cm ³	0.1 Hz	[31]
		80-90 et 120- 30			2 Hz	[32]
		60-150-300 kV/cm		1-2 J/cm ³		[33]
	2-3 ns	60 kV/cm	carrée		20 Hz	[30]
7 ns	2-3 ns	25 kV/cm			20 Hz	[30]
5 ns		75 kV/cm	Créneau		20 Hz	[12]
3-4 ns		8 kV/cm	Créneau			[24]
0.8 ns	67.5 ps	380-600 kV/cm, 1	Créneau		10 Hz	[34]

Tableau I.2 : Bilan des impulsions électriques et leurs caractéristiques

Les informations qui ne sont pas renseignées ne sont pas citées dans les références correspondantes.

Enfin, nous pouvons déduire que des impulsions relativement longues (ms, μ s) et d'amplitude de champ électrique élevée (quelques kV/cm) ne touchent que la membrane cellulaire externe et l'énergie correspondante dépend de l'amplitude du champ électrique, la durée de l'impulsion et de la résistivité du milieu exposé. En utilisant des impulsions ultracourtes (ns, ps) avec des amplitudes de champ électrique beaucoup plus grandes (quelques dizaines, centaines de kV/cm), l'énergie n'est pas plus faible et elle est transmise aux sous-structures cellulaires.

Après avoir analysé l'aspect mécanisme de l'interaction des cellules biologiques avec les nsPEF, nous présentons dans la partie qui suit les différents systèmes d'exposition avec leurs différentes parties en les analysant du point de vue physique.

VII. SYSTÈMES D'EXPOSITION : GÉNÉRATEURS

Le système d'exposition comprend deux grandes parties : le générateur et l'applicateur. Une fois l'impulsion générée, il faut l'acheminer vers le milieu biologique et l'exposer au

moyen de l'applicateur. Ce dernier qui contient le milieu biologique, représente une charge pour le générateur. L'exposition du milieu biologique peut être faite de deux façons :

- Une première consiste à avoir un applicateur dont l'impédance équivalente est adaptée avec celle du générateur afin de transmettre le maximum de courant au milieu biologique. L'énergie ainsi sera complètement transmise vers le milieu biologique.
- Une deuxième qui consiste à utiliser un applicateur présentant une grande valeur d'impédance auquel une impédance 50Ω est branchée en parallèle. Dans ce cas, le courant passe en majorité dans la charge 50Ω alors qu'on a une tension importante au niveau de l'applicateur.

Suivant ces deux principes, de nombreux systèmes d'exposition ont été développés. Dans cette partie, une étude sur les différents types de générateurs est présentée.

VII.1. Générateurs : Circuit de base

Le générateur est l'élément qui permet de délivrer l'impulsion électrique. Les formes d'onde électromagnétique particulières qui doivent être appliquées en terme d'amplitude, durée, fréquence de répétition, exigent la mise en œuvre de sources paramétrables qui assurent la reproductibilité et le contrôle des impulsions souhaitées.

L'objectif général d'un générateur est de transformer un signal continu en une impulsion électrique de courte durée (de l'ordre de ns ou moins) et de forte amplitude (kV). Un schéma bloc de base du système de génération d'impulsion est présenté dans la figure I.10.

Un générateur est constitué :

- d'une source haute tension continue permettant de charger le système.
- d'un élément de stockage déterminant l'énergie et la durée de l'impulsion
- d'un commutateur (switch) permettant de délivrer les pulses et influant sur la durée et la forme des impulsions (temps de montée et de descente).



Figure I.10: Schéma bloc du système de génération d'impulsion

La source de haute tension permet d'alimenter le système en tension continue. Le deuxième bloc représenté stocke l'énergie qui est ensuite transférée sous la forme d'une impulsion dont les caractéristiques (durée, amplitude...) dépendent des paramètres du circuit du générateur. Les commutateurs ont pour rôle de contrôler la durée de l'impulsion et son temps de montée. Un premier commutateur principal (switch) est utilisé pour déclencher et permettre le passage de l'impulsion lorsqu'il est fermé. Sa vitesse de réponse détermine le temps de montée de l'impulsion. Un deuxième commutateur est utilisé pour contrôler la durée en se fermant à l'instant correspondant à la durée que l'on souhaite obtenir.

La partie suivante présente les principaux types de générateurs d'impulsions ultracourtes dans la littérature du domaine bioélectromagnétique. Les circuits des générateurs changent suivant les applications et les besoins d'impulsions en termes d'amplitude et durée. Ainsi, nous présentons les différents types de générateurs pour mettre en évidence les contraintes concernant les caractéristiques d'impulsions et le couplage avec les différents types d'applicateurs de différentes géométries et impédances.

VII.2. Générateurs à décharge de condensateurs

C'est la technique de base qui est utilisée pour générer des signaux afin de produire l'électroperméabilisation des milieux principalement in vitro. Le dispositif se compose d'une source d'alimentation haute tension, d'un condensateur, d'un commutateur, et éventuellement une résistance (figure I.11). Ce type de générateurs fonctionne en deux phases, la charge et la décharge et génère des impulsions à décroissance exponentielle. Au cours de la phase de charge, l'interrupteur (S) est en position 1 et la source d'alimentation charge le condensateur (C). Dans la phase de décharge, le commutateur est en position 2 et le condensateur se décharge à travers la charge reliée à la sortie. La durée ou la constante de temps de décharge est de l'ordre du produit $Z_L C$, où C est la capacité du condensateur et Z_L est la valeur de l'impédance de charge. Cependant, la plupart des dispositifs disponibles dans le commerce ont intégré des résistances qui sont connectées en parallèle à la charge. Leur principal objectif est de définir exactement la durée de la décharge car l'impédance de milieu varie en fonction de la fréquence.

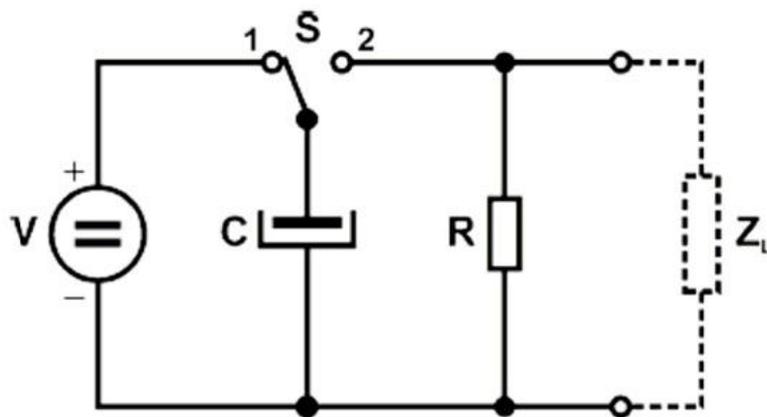


Figure I.11: Circuit de générateur à décharge de condensateurs [10].

L'inconvénient de cette configuration est que le commutateur n'est pas toujours capable de tenir les hautes tensions surtout pour des applications qui nécessitent des tensions de l'ordre de la centaine de kV. Pour résoudre ce problème, une autre configuration est proposée basée sur le même principe mais en utilisant une série de commutateurs afin de répartir la tension aux bornes de chacun. La tension au niveau de chaque commutateur sera V/n où n est le nombre de commutateurs et V la tension aux bornes du condensateur. Par contre, l'utilisation de plusieurs commutateurs nécessite la synchronisation pour l'ouverture et la fermeture des commutateurs.

VII.3. Générateurs de Marx

Ce type de générateur est basé sur la charge de plusieurs capacités en parallèle et leur décharge en série. Le circuit est présenté dans la figure I.12. Lorsque le premier interrupteur est fermé, la tension du premier condensateur est transférée vers le deuxième interrupteur, entraînant sa fermeture et la création d'une réaction en chaîne menant à la fermeture de tous les commutateurs. Lorsque tous les interrupteurs sont fermés, les condensateurs deviennent chargés en série. La tension résultante est égale au nombre des capacités chargées multiplié par la tension V d'alimentation.

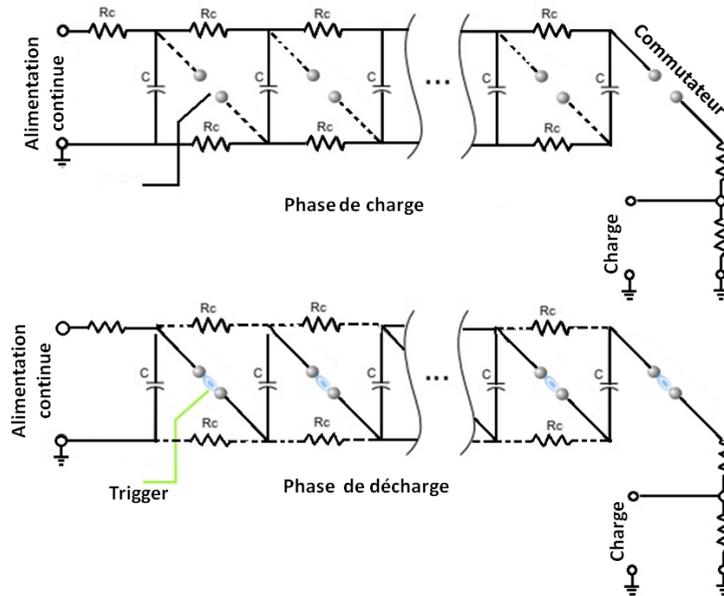


Figure I.12 : Circuit principal du générateur de Marx en phases de charge et de décharge.

La charge à travers les résistances fonctionne bien pour les fréquences de répétition relativement faibles. Par exemple, le temps de charge complet d'un circuit formé de 5 étages est environ $\tau = 5n^2RC$ n est le nombre d'étages du circuit, R la résistance de chaque étage en Ω , C la capacité de chaque étage en F). La valeur élevée de la résistance réduit l'efficacité du processus de chargement. Pour les applications nécessitant une fréquence de répétition élevée, les résistances peuvent être remplacées par des selfs, afin d'obtenir un processus de charge plus rapide et plus efficace. En outre, le couplage mutuel entre les deux bobines d'une même cellule peut encore augmenter les performances du système [35]. Généralement, les commutateurs utilisés dans les générateurs de type Marx sont des commutateurs à éclateurs à gaz. Ils présentent la possibilité d'avoir une tension très grande. Par contre, avec ce type de générateur il est difficile d'avoir une bonne reproductibilité des impulsions et il présente la complexité du contrôle des conditions des commutateurs à éclateurs à gaz (pression, décharge électrique...). Un autre inconvénient de ce système est la difficulté d'obtenir une adaptation d'impédance sur une large bande de fréquence.

VII.4. Générateur Blumlein

Ce type de générateur permet de créer une impulsion rectangulaire dont les propriétés temporelles sont fixées par la configuration du circuit correspondant. Le principe général d'un tel générateur (figure I.13) est basé sur l'utilisation de deux lignes de transmission identiques (de même impédance caractéristiques Z_0) alimentées par une source continue haute tension.

L'extrémité d'une des lignes est reliée à la masse et l'extrémité de l'autre est raccordée à un commutateur. Les deux lignes sont ainsi alimentées à une tension V_{HT} . Le dispositif est mis en fonctionnement lorsque le commutateur est déclenché à l'instant $t = 0$: une impulsion de tension parcourt alors la première ligne. Quand l'impulsion atteint l'extrémité après un temps τ_C qui correspond au temps de propagation dans la ligne, une impulsion est produite dans la charge. L'impulsion de tension en sortie V_S , a dans ce cas, une amplitude V_{HT} et une durée $2\tau_C$. La durée de l'impulsion dépend de la longueur du câble de transmission et elle peut être calculée à partir de la formule suivante :

$$\tau = \frac{2 \times l \sqrt{\epsilon_r}}{c}$$

Où ϵ_r est la permittivité relative du diélectrique utilisé dans la ligne Blumlein, c est la vitesse de la lumière dans le vide et l la longueur de la ligne de transmission. Le niveau de tension de l'impulsion est égal au niveau de tension de la source.

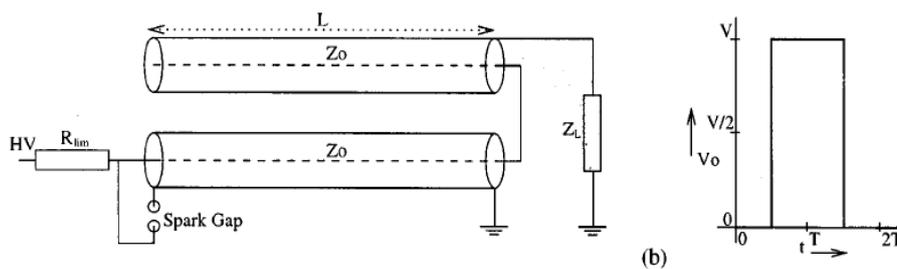


Figure I.13 : Signaux de sortie du générateur Blumlein

VII.5. Générateur à ondes gelées

Le laboratoire Xlim à Limoges réalise des travaux sur les générateurs optoélectroniques pouvant délivrer des impulsions haute tension à spectre ultra-large avec un profilage temporel modifiable [36]. Le schéma de principe du générateur optoélectronique, présenté sur la figure I.14, repose sur la décharge d'une ligne de transmission délimitée par deux photocommutateurs. Cette ligne est chargée préalablement à l'aide d'une source de haute tension continue. Après l'illumination des deux photocommutateurs, une onde double est alors libérée vers la charge selon le principe du générateur à ondes gelées [36]. Ainsi, une onde stationnaire se propage entre les deux commutateurs et elle est composée d'une partie progressive et une autre régressive. Ces deux ondes peuvent avoir une forme carrée ou bipolaire en fonction de l'état des deux commutateurs. Si le commutateur 1 est illuminé par le

laser, ceci permet le passage de l'état bloqué ($10 \text{ M}\Omega$) à l'état débloqué (5Ω). Ainsi la ligne microstrip est court-circuitée, et, par conséquent, la polarité de l'onde régressive est inversée conduisant à une impulsion bipolaire. Si le commutateur reste ouvert (résistance à l'état bloqué), et que le commutateur est illuminé, un signal carré est généré à cause de la réflexion positive. Les impulsions générées montrent une tension crête à crête égale à la valeur d'alimentation DC pour les impulsions bipolaires et égale à la moitié de la tension continue pour les impulsions carrées. La durée de l'impulsion correspond à deux fois le temps de propagation des ondes sur la ligne et son amplitude est égale à la moitié de la tension d'alimentation.

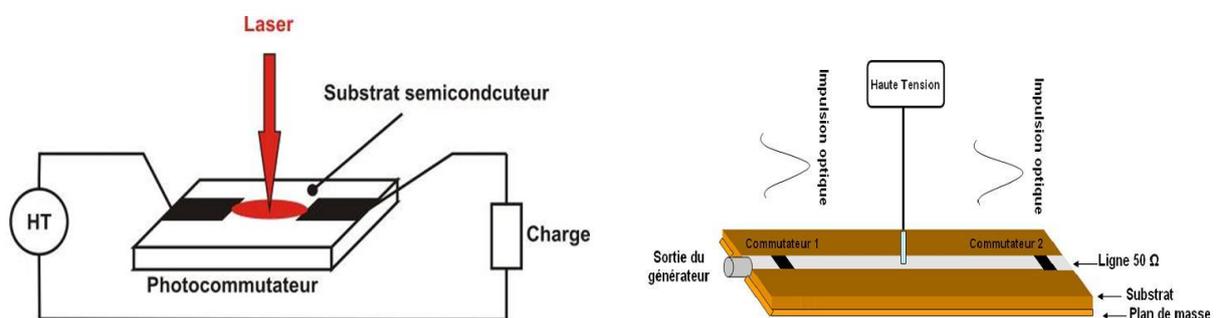


Figure I.14: Schéma de principe du générateur à ondes gelées développé à Xlim.

Dans ce contexte, il est possible de maîtriser la forme temporelle et le spectre des impulsions. Ces générateurs sont particulièrement intéressants et présentent l'avantage que les profils obtenus sont très peu bruités et permettent d'avoir une bonne reproductibilité des impulsions (figure I.15) [37].

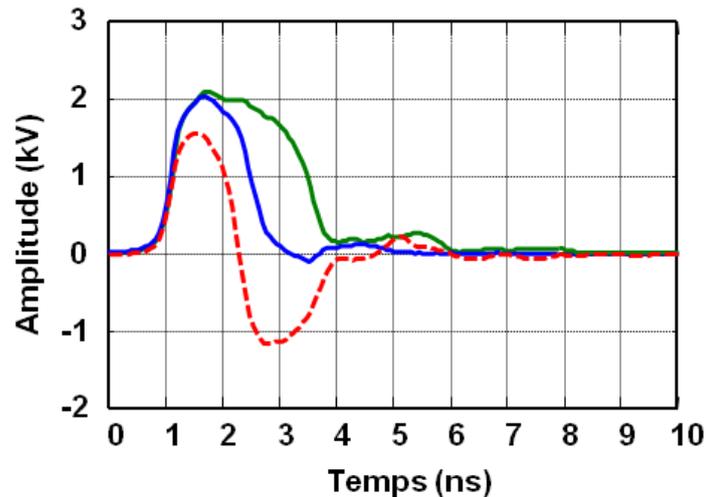


Figure I.15 : Profils temporels des impulsions du générateur Xlim

Nous avons vu que le fonctionnement d'un générateur est basé en partie sur des commutateurs. Ces derniers sont utilisés pour le déclenchement des impulsions et ont un rôle important pour préciser la forme et la durée des impulsions. Les différents types de commutateurs sont présentés ci-après.

VII.6. Commutateur

Le choix d'un commutateur repose sur les caractéristiques physiques du matériau le constituant ainsi que sur le type d'impulsions que l'on veut engendrer. Le commutateur joue un rôle essentiel dans la formation de l'impulsion au niveau des temps de montée et la durée qui dépendent du temps de la réponse du commutateur. Il existe plusieurs types de commutateurs :

VII.6.1. Commutateur à éclateur à gaz

Les commutateurs à éclateur à gaz (partie commutateur sur la figure I.16) représentent une des méthodes initiales et anciennes utilisée pour la commutation des impulsions courtes. Leur fonctionnement est basé sur la décharge électrique qui se produit dans le milieu placé entre deux conducteurs (le gaz) sous l'action d'une tension électrique. Cette tension doit avoir une amplitude qui permet de produire un niveau de champ électrique correspondant au champ limite de l'ionisation du gaz.

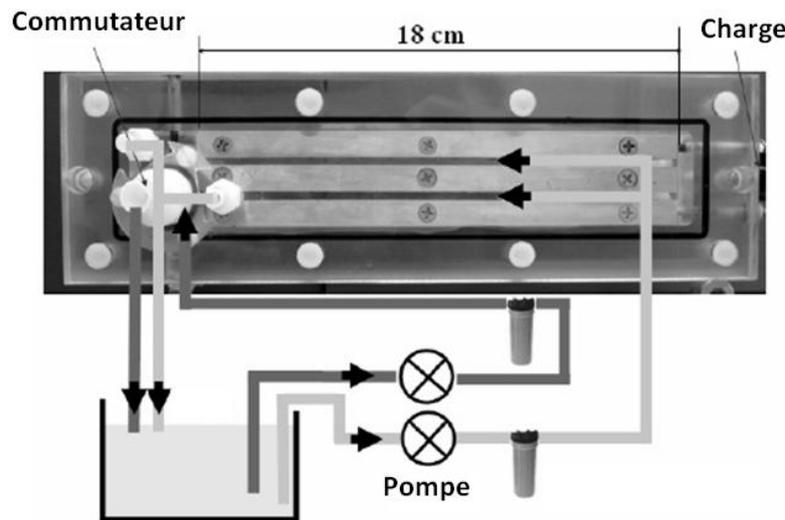


Figure I.16: Système avec commutateur à gaz.

VII.6.2. Commutateur à diode

Une diode spécifique et bien conçue commandée par un courant électrique peut être utilisée comme un commutateur. La diode présente l'avantage de commutation rapide (quelques ns) [12]. Elle peut tenir des hautes tensions de l'ordre de dizaine de kV et de courant de valeurs élevées (jusqu'à 1 kA).

VII.6.3. Commutateur à transistor

Ce type de commutateur est généralement utilisé avec les lignes Blumlein et il est très rapide. L'article de Schoenbach et al présente un générateur d'impulsions dans lequel il a utilisé un commutateur MOSFET qui permet de réaliser des impulsions d'amplitude jusqu'à 1 kV et à temps de montée 3 ns (figure I.17) [16].

Le dernier élément d'un système d'exposition aux nsPEF est constitué par l'applicateur. La partie suivante présente la synthèse des différents types d'applicateurs suivant leurs géométries, le type de couplage avec le générateur et les applications biologiques.

VIII. SYSTÈMES D'EXPOSITION : APPLICATEURS

L'applicateur est la partie du système d'exposition qui permet d'exposer le milieu biologique aux champs électriques. Un applicateur doit permettre d'exposer les échantillons biologiques aux impulsions électromagnétiques tout en répondant aux conditions des expériences physiques et biologiques.

La problématique pour l'applicateur se situe dans les formes particulières des signaux utilisés (impulsions, amplitude maximale, contenu spectral ...). Puisque les impulsions ont une durée qui varie entre quelques dizaines de picosecondes et quelques dizaines de

nanosecondes, le spectre correspondant présente une large bande de fréquence. Dans ces conditions, les applicateurs doivent manipuler les impulsions sans perte du continu spectral.

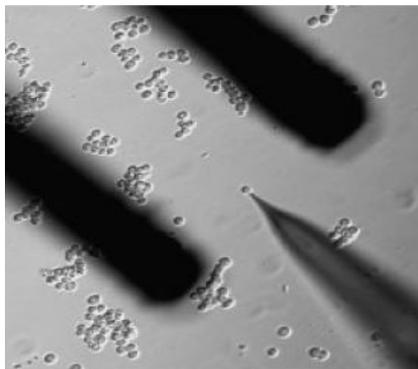
Donc le développement de ces applicateurs est lié à la définition des besoins de biologistes (type de cellule, milieux de culture...), et des paramètres de l'exposition (les niveaux des champs électromagnétiques, formes d'impulsions et leur largeur...).

Les géométries d'applicateur les plus courantes sont présentées ci-après.

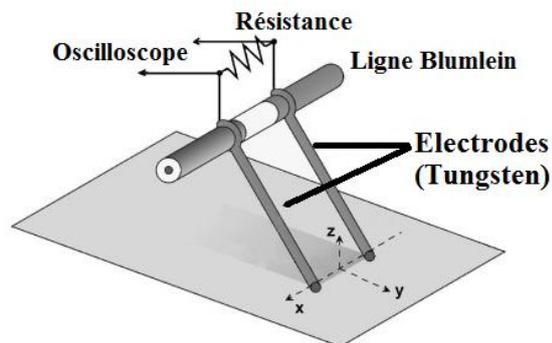
VIII.1. Géométrie et couplage avec le générateur

VIII.1.1. Electrodes à aiguilles: exposition de cellules uniques

Ce type d'applicateur peut former un système spécialisé pour l'exposition des cellules individuelles posées sur un support en verre (figure I.17). Il présente l'avantage d'exposer les cellules d'une façon efficace. Les impulsions sont amenées à la cellule par une paire d'électrodes cylindriques en tungstène qui sont branchées en parallèle avec une résistance 100 Ω . Un exemple de ce type d'applicateur est utilisé dans les articles [38]. Les électrodes ont un diamètre de 0,125 mm et la distance qui les sépare est égale à 0,31 mm. Les électrodes ont été placées avec un micromanipulateur sur les côtés de la cellule.



a)



b)

Figure I.17: Electrodes à aiguilles :a) Position des électrodes et d'une micropipette de verre contact avec les cellules exposées, tel que vu par le microscope, b) Schéma du système d'application [38].

Cet applicateur a été utilisé avec un générateur Blumlein d'impédance 100 Ω qui délivre des impulsions rectangulaires de durée 60 ns et d'amplitude 540-580 V. Les valeurs et la distribution du champ électrique au niveau de la cellule placée entre les électrodes sont déterminées à l'aide des simulations 2D et 3D. Au niveau et au voisinage de l'emplacement de la cellule, le champ électrique E est d'environ de 12 kV / cm. A ce niveau de champ, la densité d'énergie est de 85 mJ / cm³, ce qui entraîne une élévation de température de 0.028°C. A l'extérieur des électrodes, le champ électrique a rapidement chuté autour de zéro à une distance de l'électrode égale à 50 μ m. Ainsi les cellules situées à une distance supérieure,

peuvent être considérées comme non affectées par l'exposition aux impulsions. Enfin, il a été montré qu'une petite imperfection du positionnement de la cellule et / ou des électrodes (par exemple, de 20-40 μm) n'a pas sensiblement changé le champ électrique E . Les électrodes sont utilisées avec un générateur Blumlein. Elles sont connectées directement sur le câble coaxial du générateur. Elles sont placées avec un micromanipulateur sur les côtés de la cellule.

Un autre applicateur basé sur le même type d'électrodes « à aiguilles » est montré dans [39]. L'applicateur est placé à la terminaison d'un câble coaxial composé d'une électrode centrale et 4 autres en laiton plaqué or ($0.5 \text{ mm} \times 3.75 \text{ mm}$) alignées axialement et soudées équidistantes autour du conducteur extérieur du câble coaxial. Cet applicateur est utilisé pour des études concernant les traitements de la tumeur *in vivo* et *in vitro* sur les souris (figure I.18). Les impulsions utilisées ont une durée de 7, 10 et 20 ns et un temps de montée est 2-3 ns. Les valeurs de champ électrique sont entre 20 et 35 kV/cm. L'impédance de l'applicateur utilisé dans les études *in vitro* est égale à 10 Ω .

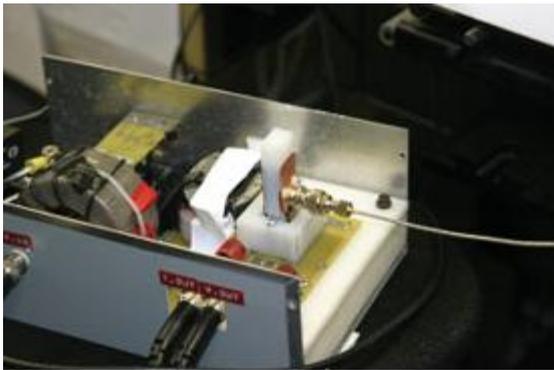


Figure I.18: Applicateur à électrodes aiguilles au bout d'un câble coaxial [39].

Dans un travail plus récent [40], J. KOLB a développé un applicateur basé sur des électrodes à aiguilles pour des études *in vitro*. Il a conçu deux types de géométrie dans lesquelles les électrodes sont directement posées sur l'extrémité d'un câble coaxial. La première consiste à mettre 5 électrodes à aiguilles sur l'extrémité du câble. Quatre aiguilles sont réparties en carré avec une distance diagonale de 8 mm et sont reliées à la masse. La cinquième est mise au centre (figure I.19 (a)). Le diamètre des électrodes est de 0.4 mm. La deuxième géométrie consiste à utiliser une seule électrode aiguille au centre du câble coaxial terminé par un anneau (figure I.19 (b)). Les impulsions envoyées sont de durées 30 et 100 ns.



Figure I.19 (a) Applicateur à 5 électrodes à aiguilles (b) applicateur en anneau avec une électrode à aiguille.

Enfin, une étude sur l'effet du nombre d'électrodes sur la distribution du champ électrique est réalisée dans l'article [41].

VIII.1.2. Electrodes planaires : Microélectrodes

L'applicateur basé sur les électrodes planaires permet l'observation de l'évolution de la fluorescence et présente l'avantage de faciliter les observations microscopiques pour voir les changements dans les cellules exposées aux impulsions électriques. L'article [42] présente une chambre d'exposition (Figure I.20) qui est composée de deux électrodes en acier inoxydable fixées à la surface d'un support de verre de dimensions 51×76 mm.

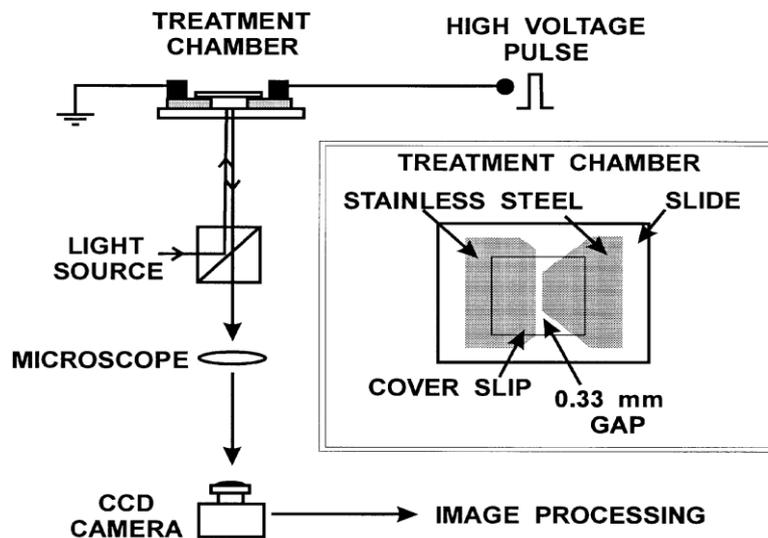


Figure I.20: Applicateur à électrodes planaires [42].

Les électrodes ont une épaisseur de 0.1 mm et une longueur de 5 mm. Elles sont connectées au générateur à l'aide d'une plaque métallique posée au dessus des électrodes. Des cellules de type Jurkat sont exposées à des impulsions de durées 60 ns, 300 ns, 10 μ s et 100 μ s. Les valeurs de champ électrique correspondant varient entre 3 et 150 kV/cm.

L'article [16] présente deux applicateurs basés sur les électrodes planaires. La figure I.21 (a) montre deux électrodes planaires reliées directement au câble provenant du

générateur. Dans la figure I.21 (b), les électrodes sont reliées au câble d'un générateur Blumlein à l'aide de deux fils métalliques.

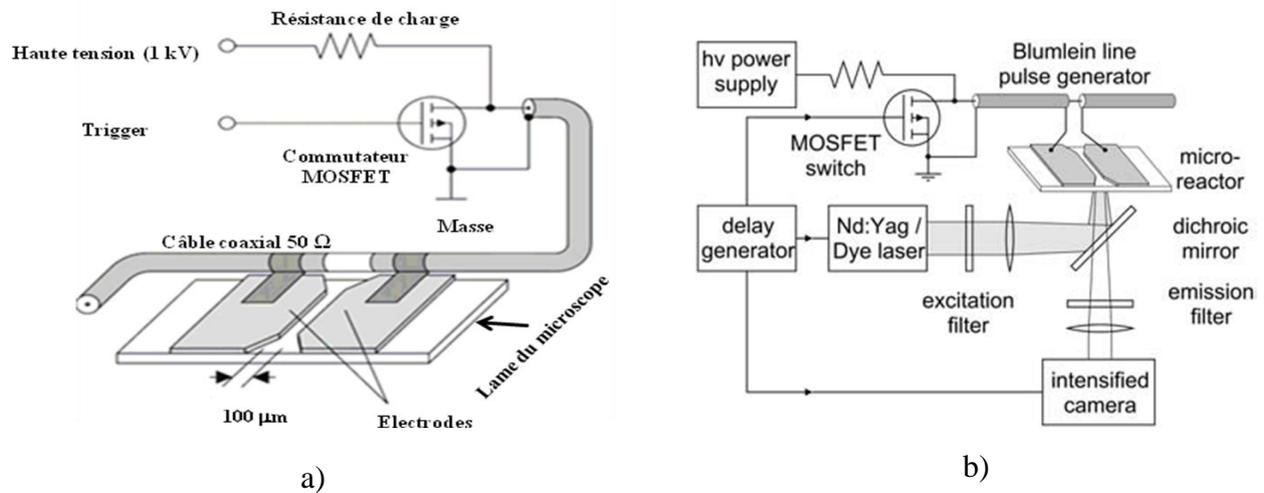


Figure I.21 : a) Electrodes planaires reliées directement sur le câble coaxial, b) Electrodes planaires reliées à l'aide de fils métalliques sur le câble coaxial [16]

Les impulsions délivrées sont de durée 300 ns et d'amplitude de champ électrique égale à 75 kV/cm.

VIII.1.3. Electrodes planaires: Micro-chambre

Un autre type d'applicateur basé sur des microchambres (figure I.22) a été conçu pour des applications fluidiques. Ces dernières consistent à utiliser des microcanaux dans lesquels on a mis une suspension de cellules. Cette géométrie permet d'amener les cellules entre les électrodes de façon séquentielle, pour les exposer aux nanopulses et les observer les unes après les autres sans avoir à refaire les réglages du microscope. La géométrie est basée sur l'empilement de cathode-diélectrique-anode espacé d'une certaine distance d et elle présente l'avantage de la facilité de couplage avec le générateur. Une étude a été menée sur ce type de dispositif par l'équipe de Schoenbach afin de déterminer les paramètres qui peuvent conduire à la décharge électrique et comprendre les mécanismes de base qui peuvent avoir lieu [43].

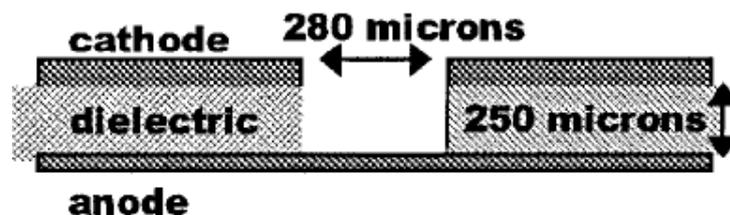


Figure I.22: Applicateur à micro-chambres d'électrodes [43].

Des chambres à électrodes cylindriques de petites dimensions peuvent être conçues et connectées à la terminaison d'un câble coaxial. L'article de Hereen et al paru en 2007 [34] présente une chambre à électrodes cylindriques de diamètre 2.75 mm. L'applicateur est montré dans la figure I.23. La chambre à électrodes est connectée à un câble coaxial. Une électrode est connectée au conducteur central du câble coaxial et l'autre à la masse. La distance entre les électrodes est variable pour obtenir des différents niveaux de champ électrique (380 kV/cm, 600 kV/cm et 1 MV/cm). Les impulsions sont de durée 800 ps. Les petites dimensions permettent de décaler les résonances dues à la géométrie des électrodes à des fréquences plus hautes. L'impédance équivalente de l'applicateur contenant le milieu exposé est égale à 200 Ω . Elle est plus grande que l'impédance du générateur pour avoir de la réflexion positive au niveau de l'applicateur et atteindre des niveaux de tension plus importants.

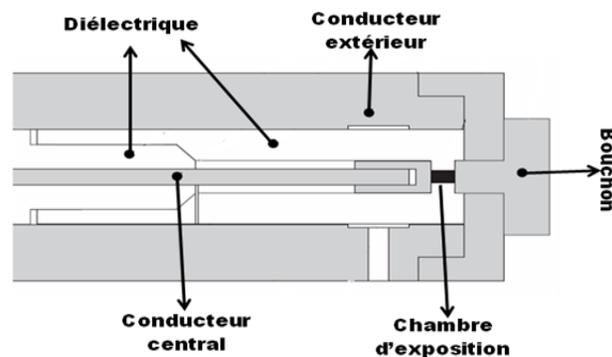


Figure I.23 : Applicateur à micro-chambre à la fin d'un câble coaxial [34].

VIII.1.4. Electrodes planaires: Cuvette biologique à électrodes

La cuvette biologique fait partie des applicateurs les plus couramment utilisés dans les systèmes d'exposition. Elle permet l'exposition d'une population de cellules dans leur milieu de culture. Un système présenté dans l'article [32] utilise une cuvette d'électroporation dont la distance entre les électrodes est de 2 mm. Comme le montre la figure I.24, la sortie du générateur de type blumlein est connectée à la cuvette à l'aide des deux conducteurs externes composés de deux plaques métalliques (1). Des lames conductrices « holder » (2) permettent le maintien de la cuvette et également la liaison du générateur aux électrodes (3) en Aluminium de la cuvette. Les impulsions envoyées vers la cuvette ont une durée de 10 ns et l'amplitude du champ électrique est entre 80 et 130 kV/cm.

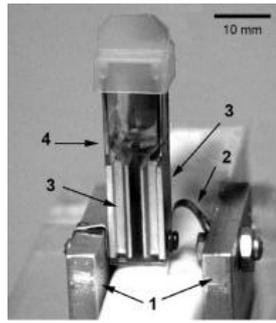


Figure I.24 : Applicateur cuvette biologique à deux électrodes[32].

Un autre article [44] présente un système d'exposition dont l'applicateur est une cuvette à électrodes. La figure I.25 (a) montre la cuvette avec ses dimensions. Le câble provenant de la sortie du circuit du générateur est relié directement à la cuvette (figure I.25 (b)) en dénudant le câble et reliant son conducteur central et la masse de part et d'autre des électrodes de la cuvette (figure I.25 (c)).

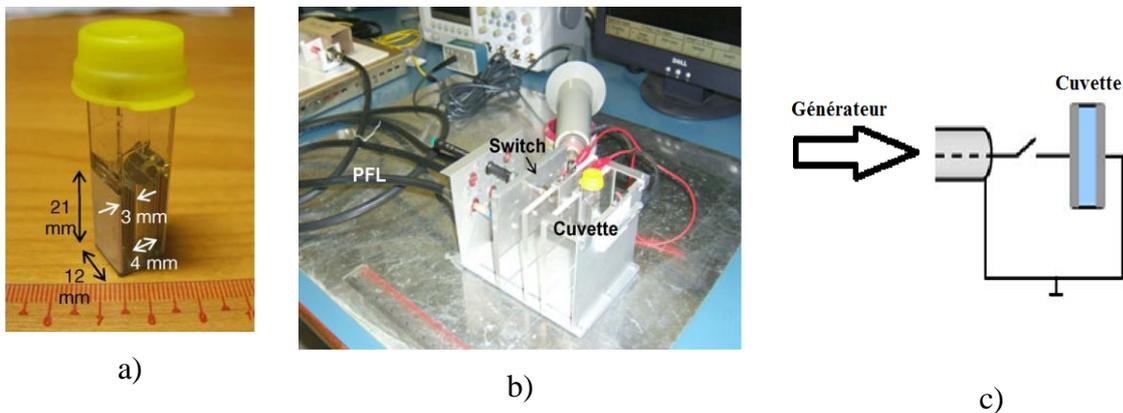


Figure I.25 : a) cuvette d'électroporation et ses dimensions, b) cuvette reliée au générateur c) schéma illustrant la façon de connexion de la cuvette [44].

En plus, les auteurs ont montré la distribution de champ électrique à l'intérieur de la cuvette et des mesures expérimentales de tension effectuées avec des impulsions de durée 10 ns et d'amplitude 5 kV. Le champ électrique est transversal par rapport aux électrodes. Les valeurs de champ dans le milieu sont égales à 12 kV/cm et elles sont compatibles avec la formule théorique $E = V/d$ où V est la tension appliquée et d la distance entre les électrodes.

Enfin, la majorité des articles ont décrit et utilisé la cuvette comme applicateur, sans analyser l'aspect de la réponse temporelle et fréquentielle de cette dernière. D'où le besoin de faire une caractérisation précise de ce type d'applicateur afin de trouver la limite de son fonctionnement et d'apporter aux biologistes les informations nécessaires pour l'utiliser dans des bonnes conditions. C'est dans ce cadre que s'inscrit notre étude.

VIII.2. Interface électrode/échantillon

Des phénomènes d'électrolyse peuvent apparaître à l'interface électrode échantillon et peuvent en modifier la température, le pH et la composition chimique.

Selon le matériau constitutif des électrodes (aluminium, or plaqué, acier inoxydable, carbone, nickel, argent, cuivre...) des différents éléments peuvent se former à l'interface avec l'échantillon: ions (Al^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{3+}/Fe^{2+}) ou gaz (Cl_2).

Un article publié par Saulis et al [45] propose une étude de ces phénomènes pour la décharge d'une capacité de 47 μF chargée à 2,5 kV dans un volume de 1mL placé entre des électrodes parallèles séparées de 1cm (à 20°C). Ils ont montré que pour éviter les conséquences indésirables des processus d'électrolyse cathodique, surtout dans les conditions de champ électrique très fort, il est recommandé ne pas utiliser les chambres avec des électrodes en aluminium mais des solutions tampons de faible conductivité.

VIII.3. Mesure de tension

La mesure des impulsions délivrées par le générateur au niveau de l'applicateur n'est pas toujours effectuée en fonctionnement réel (c'est-à-dire lorsque le générateur est connecté à l'échantillon). Pour des impulsions de durée longue, les mesures s'effectuent avec des sondes classiques. La mesure des impulsions ultracourtes et de haute amplitude nécessitent des sondes qui supportent ces hautes tensions et qui peuvent fonctionner sur une large bande de fréquence couvrant les spectres de ces impulsions. Pour mesurer les tensions ou les champs au niveau de l'applicateur, plusieurs types de sondes sont utilisés :

- Sondes de type diviseur de tension capacitif « capacitive voltage divider ». Un exemple de ce type de sonde a paru dans l'article de J Thomas Camp et al [46]. Une mince plaque de cuivre (1,7 mm x 10 mm) avec une épaisseur de 0,1 mm est placée sur le diélectrique du câble et isolée du conducteur extérieur de 0,1 mm d'épaisseur de Kapton (figure I.26). Ceci crée une capacité C_1 entre la plaque de cuivre et le conducteur interne et une capacité C_2 entre la plaque de cuivre et le conducteur extérieur. La capacité entre le conducteur intérieur et le cuivre est égale à 0,1 pF et celle entre le cuivre et le conducteur extérieur est égale à 3,46 pF. Cela permet d'avoir un rapport 35,6 entre la tension au niveau des électrodes et celle à la sortie du circuit du pont diviseur. Dans cette configuration, les deux capacités sont en série et sont reliées à une résistance R_p qui est choisie de façon à avoir une constante de temps de charge $R_p(C_1+C_2)$ inférieure à la durée de l'impulsion que l'on souhaite mesurer.

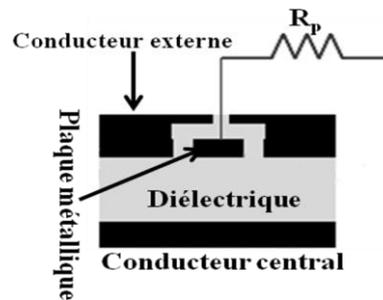


Figure I.26 : Sonde à diviseur de tension capacitif [46]

- Sondes de type résistive (resistive voltage divider). Ce type de sonde est caractérisé par sa structure simple. Elle présente moins de bruit et des propriétés électriques plus simples.

De manière générale, il faut utiliser une sonde dont le temps de réponse est rapide (inférieur à la durée de l'impulsion mesurée) et capable de maintenir ses propriétés électriques à haute fréquence et à haute température.

VIII.4. Les différents paramètres entrant en jeu

Voici les différents paramètres à aborder et analyser afin d'améliorer l'exposition du milieu biologique aux impulsions électriques de point de vue physique:

- **La géométrie** : La forme géométrique de l'applicateur est à priori prédéterminée par l'application biologique. De plus, la géométrie des électrodes et leur positionnement permettent de déduire la distribution du champ électrique.
- **Le milieu biologique** : Il est caractérisé par des propriétés électromagnétiques qui sont la conductivité électrique et la permittivité qui varient en fonction de la fréquence. Il en résulte que le comportement du milieu n'est pas le même pour les différentes bandes de fréquence auxquelles on peut associer des phénomènes physiques différents.
- **Les impulsions** : Elles sont caractérisées par une durée courte (ns, ps) et une amplitude très forte (kV). Plus l'impulsion est courte, plus son spectre est large. Ceci augmente la possibilité d'avoir une réponse complexe de l'applicateur à cause des phénomènes physiques qui peuvent intervenir. En plus, les hautes amplitudes permettent d'atteindre des niveaux de champs électriques très forts. Ceci peut causer

des phénomènes de claquage ou de décharge électrique qui dépendent de la géométrie de l'applicateur et du milieu exposé.

- **Impédance** : L'impédance équivalente de l'applicateur dépend certainement de ses dimensions géométriques et des propriétés électromagnétiques du milieu. Ces paramètres expliquent le fait que l'impédance varie en fonction de la fréquence. Les applicateurs peuvent être développés avec une impédance équivalente égale à celle du générateur pour transmettre une énergie importante, ou il peut avoir une impédance équivalente élevée (200 Ω) pour appliquer un niveau de tension important sur les cellules biologique.
- **Couplage avec le générateur**: La géométrie de l'applicateur et le type de générateur influent parfois la façon de coupler et connecter ces deux dispositifs. La connexion de l'applicateur au générateur peut influencer l'adaptation de ce dernier avec le générateur et la quantité d'énergie au milieu biologique exposé. En plus, les assemblages des systèmes d'exposition étant sensibles aux perturbations électriques, l'utilisation de champs forts dans les expérimentations pose un problème de compatibilité électromagnétique surtout au niveau de l'influence des ces champs sur l'environnement matériel et son fonctionnement. Cela implique un besoin de caractérisation de l'environnement électromagnétique du système d'exposition afin de quantifier l'énergie qui peut être rayonnée et celle qui est transmise au niveau du milieu biologique exposé.

Pour conclure, l'exposition du milieu biologique dépend de nombreux paramètres biologiques et physiques qui ne peuvent pas être dissociés et posent des limites sur le bon fonctionnement du système d'exposition. Il est donc nécessaire de caractériser les applicateurs dans les domaines temporel et fréquentiel afin de trouver :

- Les limites de leur fonctionnement et préciser les paramètres qui contrôlent la bande passante
- La réponse temporelle aux différentes impulsions vis-à-vis de la durée et la forme temporelle de ces impulsions

- La distribution du champ électrique dans le milieu biologique et les valeurs du champ et les comparer à l'amplitude des impulsions délivrées par les générateurs

IX. CONCLUSION

Au cours de ce chapitre, nous avons présenté et expliqué le contexte général de l'étude concernant le comportement des cellules biologiques soumises à des impulsions électromagnétiques ultracourtes. Nous sommes partis d'une brève présentation de l'historique des premières expériences effectuées ainsi que les premiers résultats obtenus. Ces résultats ont montré que les impulsions de durée relativement longue (ms, μ s) et d'amplitude moyenne (quelques 10 kV/m) n'affectent que la membrane externe de la cellule et la rendent poreuse permettant ainsi l'introduction de substances appropriées dans le milieu cellulaire. Les impulsions plus courtes (ns, ps), sont capables de traverser la membrane cellulaire pour affecter les membranes des structures intracellulaires. Ceci a permis d'envisager de nouvelles applications biologiques.

En outre, une description non exhaustive des différents systèmes d'exposition existants a été présentée. Nous avons décrit brièvement les différents types de générateurs. Nous avons également analysé les applicateurs vis-à-vis des besoins biologiques.

Dans le cadre des collaborations présentées dans ce chapitre, le but de notre étude sera la caractérisation, la conception et la réalisation des différents applicateurs. Nous chercherons à étudier la réponse des applicateurs par simulation et par des mesures réelles pour différents types d'impulsions haute tension.

X. RÉFÉRENCES

- [1]. K. H. Schoenbach, R. P. Joshi, R. H. Stark, F. C. Dobbs, and S. J. Beebe, "Bacterial decontamination of liquids with pulsed electric fields," *Dielectrics and Electrical Insulation, IEEE Transactions on*, vol. 7, pp. 637-645, 2000.
- [2]. A. J. H. Sale and W. A. Hamilton, "Effects of high electric fields on microorganisms .i. Killing of bacteria and yeasts," *Biochimica Et Biophysica Acta*, vol. 148, pp. 781-788, 1967.
- [3]. A. J. H. Sale and W. A. Hamilton, "Effects of high electric fields on microorganisms .3. Lysis of erythrocytes and protoplasts," *Biochimica Et Biophysica Acta*, vol. 163, pp. 37-43, 1968.
- [4]. H. G. L. Coster, "A quantitative analysis of voltage-current relationships of fixed charge membranes and associated property of punch-through," *Biophysical Journal*, vol. 5, pp. 669-686, 1965.
- [5]. S. J. Beebe, P. M. Fox, L. J. Rec, K. Somers, R. H. Stark, and K. H. Schoenbach, "Nanosecond pulsed electric field (nsPEF) effects on cells and tissues: apoptosis induction and tumor growth inhibition," *Plasma Science, IEEE Transactions on*, vol. 30, pp. 286-292, 2002.
- [6]. D. Miklavcic, D. Semrov, H. Mekid, and L. M. Mir, "A validated model of in vivo electric field distribution in tissues for electrochemotherapy and for DNA electrotransfer for gene therapy," *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects*, vol. 1523, pp. 73-83, Sep 2000.
- [7]. G. Pucihar, T. Kotnik, J. Teissie, and D. Miklavcic, "Electropermeabilization of dense cell suspensions," *European Biophysics Journal with Biophysics Letters*, vol. 36, pp. 173-185, Mar 2007.
- [8]. M. Pavlin, V. Leben, and D. Miklavcic, "Electroporation in dense cell suspension - Theoretical and experimental analysis of ion diffusion and cell permeabilization," *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects*, vol. 1770, pp. 12-23, Jan 2007.
- [9]. R. V. Davalos, L. M. Mir, and B. Rubinsky, "Tissue ablation with irreversible electroporation," *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 33, pp. 223-231, Feb 2005.

- [10]. M. Puc, S. Corovic, K. Flisar, M. Petkovsek, J. Nastran, and D. Miklavcic, "Techniques of signal generation required for electroporation. Survey of electroporation devices," *Bioelectrochemistry*, vol. 64, pp. 113-124, Sep 2004.
- [11]. J. F. Kolb, S. Kono, and K. H. Schoenbach, "Nanosecond pulsed electric field generators for the study of subcellular effects," *Bioelectromagnetics*, vol. 27, pp. 172-187, Apr 2006.
- [12]. T. Tang, F. Wang, A. Kuthi, and M. A. Gundersen, "Diode opening switch based nanosecond high voltage pulse generators for biological and medical applications," *Dielectrics and Electrical Insulation, IEEE Transactions on* vol. 14, pp. 878-883, Aug 2007.
- [13]. J. Deng, R. H. Stark, and K. H. Schoenbach, "A nanosecond pulse generator for intracellular electromanipulation," in *Power Modulator Symposium, 2000. Conference Record of the 2000 Twenty-Fourth International*, 2000, pp. 47-50.
- [14]. S. J. Beebe, P. M. Fox, L. J. Rec, L. K. Willis, and K. H. Schoenbach, "Nanosecond, high-intensity pulsed electric fields induce apoptosis in human cells," *Faseb Journal*, vol. 17, pp. 1493-+, Jun 2003.
- [15]. U. Pliquett, R. P. Joshi, V. Sridhara, and K. H. Schoenbach, "High electrical field effects on cell membranes," *Bioelectrochemistry*, vol. 70, pp. 275-282, 2007.
- [16]. K. H. Schoenbach, R. P. Joshi, J. F. Kolb, C. Nianyong, M. Stacey, P. F. Blackmore, E. S. Buescher, and S. J. Beebe, "Ultrashort electrical pulses open a new gateway into biological cells," *Proceedings of the IEEE*, vol. 92, pp. 1122-1137, 2004.
- [17]. S. B. Dev, D. P. Rabussay, G. Widera, and G. A. Hofmann, "Medical applications of electroporation," *Plasma Science, IEEE Transactions on*, vol. 28, pp. 206-223, Feb 2000.
- [18]. P. C. Wouters and J. Smelt, "Inactivation of microorganisms with pulsed electric fields: Potential for food preservation," *Food Biotechnology*, vol. 11, pp. 193-229, 1997.
- [19]. S. H. Jayaram, "Sterilization of liquid foods by pulsed electric fields," *IEEE Electrical Insulation Magazine*, vol. 16, pp. 17-25, Nov-Dec 2000.

- [20]. A. G. Pakhomov, A. Phinney, J. Ashmore, K. Walker, III, J. F. Kolb, S. Kono, K. H. Schoenbach, and M. R. Murphy, "Characterization of the cytotoxic effect of high-intensity, 10-ns duration electrical pulses," *Plasma Science, IEEE Transactions on*, vol. 32, pp. 1579-1586, 2004.
- [21]. K. H. Schoenbach, B. Hargrave, R. P. Joshi, J. F. Kolb, C. Osgood, R. Nuccitelli, A. Pakhomov, R. J. Swanson, M. Stacey, J. A. White, S. Xiao, J. Zhang, S. J. Beebe, P. F. Blackmore and E. S. Buescher, "Bioelectrics effects of intense nanosecond pulses", *IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul.*, vol. 14, no. 5, 2007
- [22]. T. Kotnik and D. Miklavcic, "Theoretical evaluation of voltage inducement on internal membranes of biological cells exposed to electric fields," *Biophysical Journal*, vol. 90, pp. 480-491, Jan 2006.
- [23]. K. H. Schoenbach, S. Katsuki, R. H. Stark, E. S. Buescher, and S. J. Beebe, "Bioelectrics-new applications for pulsed power technology," *Plasma Science, IEEE Transactions on*, vol. 30, pp. 293-300, 2002.
- [24]. A. L. Garner, N. Chen, J. Yang, J. Kolb, R. J. Swanson, K. C. Loftin, S. J. Beebe, R. P. Joshi, and K. H. Schoenbach, "Time domain dielectric spectroscopy measurements of HL-60 cell suspensions after microsecond and nanosecond electrical pulses," *Plasma Science, IEEE Transactions on*, vol. 32, pp. 2073-2084, 2004.
- [25]. R. Nuccitelli, U. Pliquet, X. Chen, W. Ford, R. James Swanson, S. J. Beebe, J. F. Kolb, and K. H. Schoenbach, "Nanosecond pulsed electric fields cause melanomas to self-destruct," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 343, pp. 351-360, 2006.
- [26]. J. Kolb, W. Frey, J. A. White, R. O. Price, P. F. Blackmore, S. J. Beebe, R. P. Joshi, and K. H. Schoenbach, "Measurements of the Transmembrane Voltage in Biological Cells for Nanosecond Pulsed Electric Field Exposures," in *Pulsed Power Conference, 2005 IEEE*, 2005, pp. 1286-1289.
- [27]. K. H. Schoenbach, S. J. Beebe, and E. S. Buescher, "Intracellular effect of ultrashort electrical pulses," *Bioelectromagnetics*, vol. 22, pp. 440-448, Sep 2001.

- [28]. E. Tekle, H. Oubrahim, S. M. Dzekunov, J. F. Kolb, K. H. Schoenbach, and P. B. Chock, "Selective field effects on intracellular vacuoles and vesicle membranes with nanosecond electric pulses," *Biophysical Journal*, vol. 89, pp. 274-284, Jul 2005.
- [29]. S. Perni, P. R. Chalise, G. Shama, and M. G. Kong, "Bacterial cells exposed to nanosecond pulsed electric fields show lethal and sublethal effects," *International Journal of Food Microbiology*, vol. 120, pp. 311-314, Dec 2007.
- [30]. E. B. Garon, D. Sawcer, P. T. Vernier, T. Tang, Y. H. Sun, L. Marcu, M. A. Gundersen, and H. P. Koeffler, "In vitro and in vivo evaluation and a case report of intense nanosecond pulsed electric field as a local therapy for human malignancies," *International Journal of Cancer*, vol. 121, pp. 675-682, Aug 2007.
- [31]. A. L. Garner, G. Chen, N. Chen, V. Sridhara, J. F. Kolb, R. J. Swanson, S. J. Beebe, R. P. Joshi, and K. H. Schoenbach, "Ultrashort electric pulse induced changes in cellular dielectric properties," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 362, pp. 139-144, Oct 2007.
- [32]. K. Walker Iii, O. N. Pakhomova, J. Kolb, K. S. Schoenbach, B. E. Stuck, M. R. Murphy, and A. G. Pakhomov, "Oxygen enhances lethal effect of high-intensity, ultrashort electrical pulses," *Bioelectromagnetics*, vol. 27, pp. 221-225, 2006
- [33]. S. S. Scarlett, J. A. White, P. F. Blackmore, K. H. Schoenbach, and J. F. Kolb, "Regulation of intracellular calcium concentration by nanosecond pulsed electric fields," *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes*, vol. 1788, pp. 1168-1175, May 2009.
- [34]. T. Heeren, J. T. Camp, J. F. Kolb, K. H. Schoenbach, S. Katsuki, and H. Akiyama, "250 kV Sub-nanosecond Pulse Generator with Adjustable Pulse-width," *Dielectrics and Electrical Insulation, IEEE Transactions on*, vol. 14, pp. 884-888, 2007.
- [35]. W. J. Carey, J. R. Mayes, "Marx generator design and performance", Applied Physical Electronics, L.C. PO Box 341149, Austin, Texas.
- [36]. B. Vergne, " Synthèse d'ondes électriques picosecondes de puissance par commutation optoélectronique-application aux radars à bande spectrale ultralarge", Thèse à l'université de Limoges, 2006.

- [37]. S. El Amari, Thèse en cours à l'université de Limoges, « Développement et caractérisation de source hyperfréquence pour application biomédical », 2010
- [38]. A. G. Pakhomov, J. F. Kolb, J. A. White, R. P. Joshi, S. Xiao, and K. H. Schoenbach, "Long-lasting plasma membrane permeabilization in mammalian cells by nanosecond pulsed electric field (nsPEF)," *Bioelectromagnetics*, vol. 28, pp. 655-663, Dec 2007.
- [39]. A. G. Pakhomov, R. Shevin, J. A. White, J. F. Kolb, O. N. Pakhomova, R. P. Joshi, and K. H. Schoenbach, "Membrane permeabilization and cell damage by ultrashort electric field shocks," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 465, pp. 109-118, Sep 2007.
- [40]. J. F. Kolb, X. Chen, J. Zhuang, W. Ren, N. Scully, R. J. Swanson, S. J. Beebe, and K. H. Schoenbach, "Tumor treatment with nanosecond pulsed electric fields," in *Pulsed Power Conference, 2009. PPC '09. IEEE*, 2009, pp. 880-885.
- [41]. D. Sel, S. Mazeres, J. Teissie, and D. Miklavcic, "Finite-element modeling of needle electrodes in tissue from the perspective of frequent model computation," *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, vol. 50, pp. 1221-1232, Nov 2003.
- [42]. E. S. Buescher and K. H. Schoenbach, "Effects of submicrosecond, high intensity pulsed electric fields on living cells - intracellular electromanipulation," *Dielectrics and Electrical Insulation, IEEE Transactions on [see also Electrical Insulation, IEEE Transactions on]*, vol. 10, pp. 788-794, 2003.
- [43]. J. P. Boeuf, L. C. Pitchford, and K. H. Schoenbach, "Predicted properties of microhollow cathode discharges in xenon," *Applied Physics Letters*, vol. 86, p. 071501, Feb 2005.
- [44]. P. Kirawanich, N. Pausawasdi, C. Srisawat, S. J. Yakura, and N. E. Islam, "An FDTD Interaction Scheme of a High-Intensity Nanosecond-Pulsed Electric-Field System for In Vitro Cell Apoptosis Applications," *Plasma Science, IEEE Transactions on*, vol. 99, pp. 1-9, 2010.
- [45]. G. Saulis, R. Lape, R. Praneviciute, and D. Mickevicius, "Changes of the solution pH due to exposure by high-voltage electric pulses," *Bioelectrochemistry*, vol. 67, pp. 101-108, Sep 2005.

- [46]. J. T. Camp, S. Xiao, and K. H. Schoenbach, "Development of a High Voltage, 150 ps Pulse Generator for Biological Applications," in *28th International Power Modulator Symposium/2008 High Voltage Workshop*, Las Vegas, NV, 2008, pp. 338-341.

CHAPITRE II : OUTILS NUMÉRIQUES ET EXPÉRIMENTAUX

I. INTRODUCTION

L'exposition des cellules biologiques aux impulsions de champ électrique, dans le domaine de la micro ou de la milliseconde, permet d'augmenter la perméabilité de la membrane cellulaire. Lorsque des conditions favorables qui dépendent principalement des caractéristiques de l'impulsion appliquée sont réunies, la viabilité de la cellule est préservée.

Les études bioélectromagnétiques consistent à analyser et caractériser les systèmes d'exposition ainsi que les milieux biologiques qui présentent une grande complexité car ils sont non homogènes. La caractérisation peut être réalisée aux deux échelles, microscopique et macroscopique. Au niveau microscopique, à l'échelle de la cellule, les structures cellulaires sont caractérisées par des dimensions très petites (μm , nm). En plus, la cellule est formée de plusieurs sous-structures qui ne sont pas identiques et n'ont pas les mêmes propriétés. D'autre part, au niveau macroscopique, les milieux à caractériser sont les différents tissus biologiques et présentent une grande complexité car ils sont non homogènes. En plus, les systèmes d'exposition sont composés de divers milieux caractérisés par des propriétés physiques différentes.

La distribution du champ électrique E (V/m), la quantité d'énergie absorbée par le milieu cellulaire et le calcul de tous les paramètres physiques lors de l'exposition aux nanopulses peuvent être effectués à partir de la résolution des équations de Maxwell. Pour cela, les simulations numériques permettent une approche précise des phénomènes qui affectent le milieu biologique quand il est soumis à une impulsion de champ électrique. L'outil permettant de prédéterminer la distribution spatio-temporelle du champ à différentes échelles est la méthode des différences finies dans le domaine temporel (FDTD). Les résultats numériques sont ensuite comparés aux résultats expérimentaux.

Dans ce chapitre, nous présenterons tout d'abord les milieux diélectriques et leurs propriétés électromagnétiques. Nous montrerons les équations reliant les propriétés diélectriques d'un milieu avec les champs électromagnétiques. Ensuite, nous expliquerons brièvement les principes de la méthode différence finie en expliquant sa relation avec les caractéristiques des milieux biologiques et des tissus vivants qui seront modélisés par la suite.

Une deuxième partie sera consacrée à la description des différents moyens expérimentaux utilisés au laboratoire Xlim pour procéder aux étapes de caractérisation expérimentale ainsi que les mesures des systèmes étudiés. Nous citerons les caractéristiques

des dispositifs afin de montrer l'avantage de les utiliser dans des systèmes d'exposition à des impulsions ultracourtes et de haute tension.

II. MATÉRIAUX DIÉLECTRIQUES ET MILIEU

BIOLOGIQUE

Le milieu biologique est composé d'une grande variété de milieux ayant des propriétés très différentes. Ces milieux peuvent être composés d'un liquide contenant de l'eau, des éléments organiques, des minéraux, etc.

D'un point de vue électromagnétique, les milieux biologiques apparaissent comme des matériaux à la fois amagnétiques, conducteurs ioniques et diélectriques à pertes.

En général, le milieu biologique est toujours considéré comme amagnétique pour l'étude des champs électromagnétiques induits, et la perméabilité magnétique des tissus biologiques est donc prise égale à celle du vide $\mu_r = 1$. Pour ce qui est des propriétés électriques, compte tenu de la composition chimique des tissus biologiques, les charges libres susceptibles de créer des courants de conduction sont des ions. Ces ions peuvent se déplacer plus ou moins librement sous l'effet d'un champ électrique. Ils sont soumis à des forces de frottement et à des contraintes dues à la structure des tissus. En conséquence, leur mobilité dépend de la fréquence du champ source. La présence de molécules polaires électriques de tailles diverses et soumises à des frottements, donne aux milieux biologiques un caractère diélectrique à pertes. Le milieu cellulaire présente donc des propriétés électriques fortement hétérogènes aux niveaux microscopique (structures cellulaires) et macroscopique (tissus).

II.1. Milieux dissipatifs

L'application d'un champ sur des tissus biologiques va donner naissance à des champs internes locaux. Ces derniers provoquent l'excitation de molécules et donc l'échauffement des tissus soumis à ce champ. En effet, les tissus biologiques sont des milieux à pertes de conduction dues à la conductivité σ et diélectriques dues à la permittivité ϵ . Dans les deux cas, les milieux sont dissipatifs. Une partie de l'énergie transmise dans les différents milieux est absorbée et dissipée en énergie thermique.

II.2. Milieux dispersifs

Les milieux biologiques sont considérés comme des milieux diélectriques. Ces matériaux sont des substances où les électrons sont si fortement liés à leur(s) atome(s) qu'ils ne peuvent être responsables d'un courant électrique. Cependant, le fait que les charges ne soient pas libres ne signifie nullement qu'elles sont liées de façon absolument rigide. En particulier, l'application d'un champ électrique va se traduire par différents phénomènes microscopiques [1] selon la fréquence de l'onde. C'est pour ces raisons qu'un milieu dispersif va présenter des caractéristiques électriques dépendantes de la fréquence à savoir la permittivité équivalente $\epsilon_{eq}(f)$ et la conductivité équivalente $\sigma_{eq}(f)$ (la permittivité étant représentée de façon complexe).

III. PARAMÈTRES CARACTÉRISTIQUES D'UN MILIEU

La permittivité et la conductivité sont des paramètres qui interviennent dans les équations de Maxwell qui sont le fondement de l'électromagnétisme. Ces équations définies dans le régime temporel sont présentées ci-après :

$$\vec{\nabla} \wedge \vec{E} = -\mu \frac{d\vec{H}}{dt} \quad \text{Équation II-1}$$

$$\vec{\nabla} \wedge \vec{H} = \epsilon \frac{d\vec{E}}{dt} + \vec{J} \quad \text{Équation II-2}$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{D} = \rho \quad \text{Équation II-3}$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{H} = 0 \quad \text{Équation II-4}$$

Où

- \vec{E} : Vecteur champ électrique, en V/m
- \vec{D} : Vecteur induction électrique, en C/m

- \vec{H} : Vecteur champ magnétique, en A/m
- \vec{J} : Vecteur densité de courant surfacique, en A/m²
- ρ : Densité de charge volumique, en C/m³ ou A.s/m³
- μ : Perméabilité du milieu, en H/m
- ω : Pulsation, en rd/s

Avec:

$$- \vec{D} = \epsilon \vec{E} \quad \text{Équation II-5}$$

$$- \vec{J} = \sigma \vec{E} \quad \text{Équation II-6}$$

$$- \epsilon = \epsilon_0 \epsilon_r \quad \text{Équation II-7}$$

Où :

- σ : la conductivité d'un milieu (S/m)
- ϵ_r : la permittivité relative d'un milieu
- ϵ_0 : la permittivité de vide ($8,85418782 \times 10^{-12} \text{ m}^{-3} \text{ kg}^{-1} \text{ s}^4 \text{ A}^2$)

A partir des équations Eq. II.2, Eq. II.5 et Eq. II.6, on peut écrire :

$$\vec{\nabla} \wedge \vec{H} = j\omega\epsilon\vec{E} + \sigma\vec{E} = j\omega\epsilon_0\left(\epsilon_r - j\frac{\sigma}{\omega\epsilon_0}\right)\vec{E} \quad \text{Équation II-8}$$

Où :

Le terme $j\omega\epsilon\vec{E}$ représente le courant de déplacement et le terme $\sigma\vec{E}$ représente le courant de conduction.

Nous pouvons alors définir une permittivité relative équivalente complexe $\underline{\epsilon}_{\text{req}}$ telle que :

$$\varepsilon_{req}(\omega) = \varepsilon_r(\omega) - j \frac{\sigma}{\omega \varepsilon_0} \quad \text{Équation II-9}$$

La permittivité relative complexe $\underline{\varepsilon}_r(\omega)$ se décompose en une partie réelle et une partie imaginaire :

$$\varepsilon_r(\omega) = \varepsilon'(\omega) - j\varepsilon''(\omega) \quad \text{Équation II-10}$$

Où:

ε' : représente la permittivité réelle

ε'' : traduit les pertes diélectriques

L'équation II.9 devient alors

$$\varepsilon_{req}(\omega) = \varepsilon'(\omega) - j(\varepsilon''(\omega) + \frac{\sigma}{\omega \varepsilon_0}) \quad \text{Équation II-11}$$

Cette équation nous permet de définir les termes ε_{eq} '' et σ_{eq} .

$$\varepsilon_{req}(\omega) = \varepsilon'(\omega) - j\varepsilon''_{eq}(\omega) \quad \text{Équation II-12}$$

Avec :

$$\varepsilon''_{eq}(\omega) = \varepsilon''(\omega) + \frac{\sigma}{\omega \varepsilon_0} \quad \text{Équation II-13}$$

La permittivité relative équivalente $\varepsilon_{req}(\omega)$ (Equations II.8 et II.11) fait apparaître un terme dépendant de la permittivité relative $\varepsilon'(\omega)$ et un second traduisant les pertes diélectriques ($\varepsilon''(\omega)$) aussi bien que les pertes par conduction ($\frac{\sigma}{\omega \varepsilon_0}$).

L'équation II.11 peut s'écrire sous la forme :

$$\varepsilon_{eq}(\omega) = \varepsilon'(\omega) - j \frac{\sigma(\omega)}{\omega \varepsilon_0} \quad \text{Équation II-14}$$

$$\sigma_{eq}(\omega) = \omega \varepsilon_0 \varepsilon''(\omega) + \sigma \quad \text{Équation II-15}$$

La tangente de perte (angle de perte) permet de comparer les pertes diélectriques $\varepsilon''_{eq}(\omega)$ avec la permittivité relative $\varepsilon'(\omega)$. Elle représente le rapport entre l'énergie dissipée par le diélectrique sur l'énergie cumulée.

$$\operatorname{tg} \delta = \frac{\varepsilon''(\omega)}{\varepsilon'(\omega)}$$

Équation II-16

IV. PERMITTIVITÉ ET POLARISATION

L'application d'un champ électrique \vec{E} va se traduire par le déplacement des charges positives et négatives les unes par rapport aux autres, créant l'apparition de dipôles. Ces derniers sont caractérisés par un moment dipolaire \vec{P} . Le dipôle soumis au champ électrique va s'orienter dans la même direction que le champ et va suivre ses oscillations. Lorsque la fréquence est trop élevée, il y a création d'un déphasage entre le dipôle et le champ d'excitation E . Le dipôle n'arrive plus à suivre les oscillations du champ entraînant une dissipation d'énergie par effet Joule [1].

La permittivité diélectrique est une grandeur macroscopique régie par des phénomènes à l'échelle microscopique. La permittivité relative d'un milieu varie en fonction de la fréquence. La figure II.1 présente l'évolution de la permittivité relative en fonction de la fréquence. Elle montre la contribution de chacun des mécanismes de polarisation, au sein d'un même diélectrique, excité par un champ dont la fréquence varie.

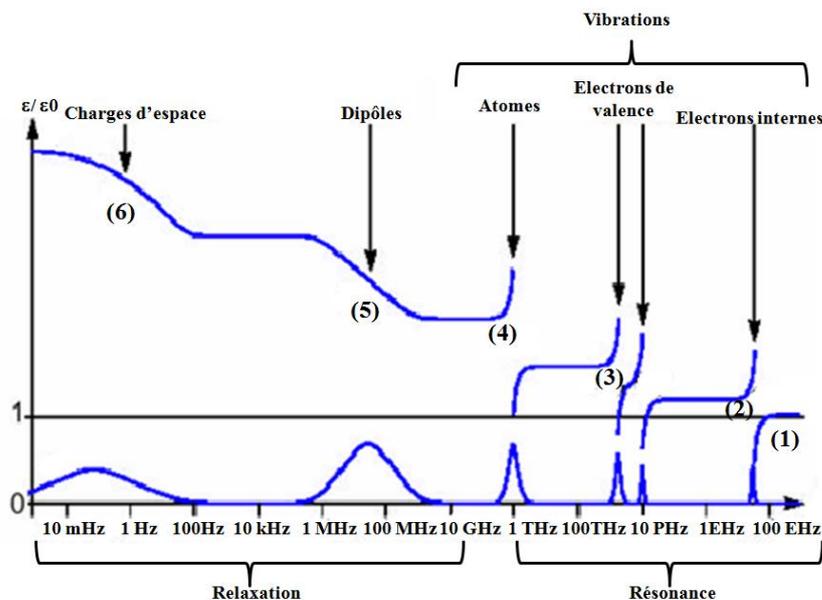


Figure II.1: Variation de la permittivité et des pertes diélectriques en fonction de la fréquence.[2]

Deux types de phénomènes sont observés, concernant la partie réelle de la permittivité relative ε' :

- Des phénomènes de résonance aux fréquences des polarisations électroniques et atomiques (1), (2), (3), et (4).
- Des phénomènes de relaxation aux fréquences des polarisations dipolaire et d'interface (5) et (6) sur la figure II.1.

Il existe différents modèles mathématiques permettant de caractériser la permittivité en fonction de la fréquence. Nous présentons dans la suite deux modèles : le modèle de Debye et le modèle de Cole-Cole.

IV.1.1. Modèle de Cole-Cole

L'équation de la permittivité du modèle de Cole-Cole est donnée par l'équation II.17- C'est un modèle simple donnant une bonne représentation du comportement en fréquence de la conductivité et de la permittivité des milieux biologiques. Il est très fréquemment utilisé [3]Erreur ! Source du renvoi introuvable. Il prend en compte la conductivité statique et un paramètre α_n caractéristique de la dispersion fréquentielle due au phénomène de la relaxation. Dans ce cas, les dipôles moléculaires n'ont pas tous la même fréquence de relaxation. Les constantes de temps de relaxation sont réparties suivant une distribution gaussienne autour d'une constante de temps moyenne τ_c [4].

$$\varepsilon_r(\omega) = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{1 + j\omega\tau_c^{(1-\alpha)}} - j \frac{\sigma_s}{\omega\varepsilon_0} \quad \text{Équation II-17}$$

Où :

- ε_s : valeur de ε' lorsque $\omega \rightarrow$ vers 0 (statique)
- ε_∞ : valeur de ε' lorsque $\omega \rightarrow$ vers ∞ (haute fréquence)
- τ : temps d'orientation (temps de relaxation), temps que met le dipôle pour s'orienter dans le sens du champ, le temps nécessaire au rétablissement de la neutralité électrique.
- σ_s : Valeur de la conductivité aux basses fréquences (statique)

- α : Coefficient permettant de régler la pente en hautes et basses fréquences ($0 < \alpha < 1$).

IV.1.2. Modèle de Debye

La variation de permittivité du matériau entre une valeur maximale ε_s mesurée en statique et une valeur minimale ε_∞ idéalement observée à une fréquence infinie est décrite par l'équation suivante :

$$\varepsilon_r(\omega) = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{1 + j\omega\tau} \quad \text{Équation II-18}$$

La différence avec le modèle de Cole-Cole est qu'il décrit un diélectrique avec une seule fréquence de relaxation et il suppose que tous les dipôles possèdent le même temps de relaxation τ . Dans la réalité, il existe des interactions entre les dipôles entraînant une dispersion de temps de relaxation impliquant l'introduction d'un paramètre de distribution de temps de relaxation DRT (Distribution of Relaxation Time).

A chaque modèle correspond un phénomène physique bien particulier. Le modèle présenté ci-dessus traduit le phénomène de relaxation que l'on peut définir comme un délai, un déphasage entre le dipôle et le champ électrique. La figure II.2 représente les parties réelle (Equation II.19) et imaginaire (Equation II.20) de la permittivité correspondant au modèle de Debye pour l'eau.

$$\text{Re}(\varepsilon_r(\omega)) = \frac{\varepsilon_s + \varepsilon_\infty \times (\omega\tau)^2}{1 + (2\omega\tau)^2} \quad \text{Équation II-19}$$

$$\text{Im}(\varepsilon_r(\omega)) = \frac{(\varepsilon_s - \varepsilon_\infty) \times (\omega\tau)}{1 + (\omega\tau)^2} \quad \text{Équation II-20}$$

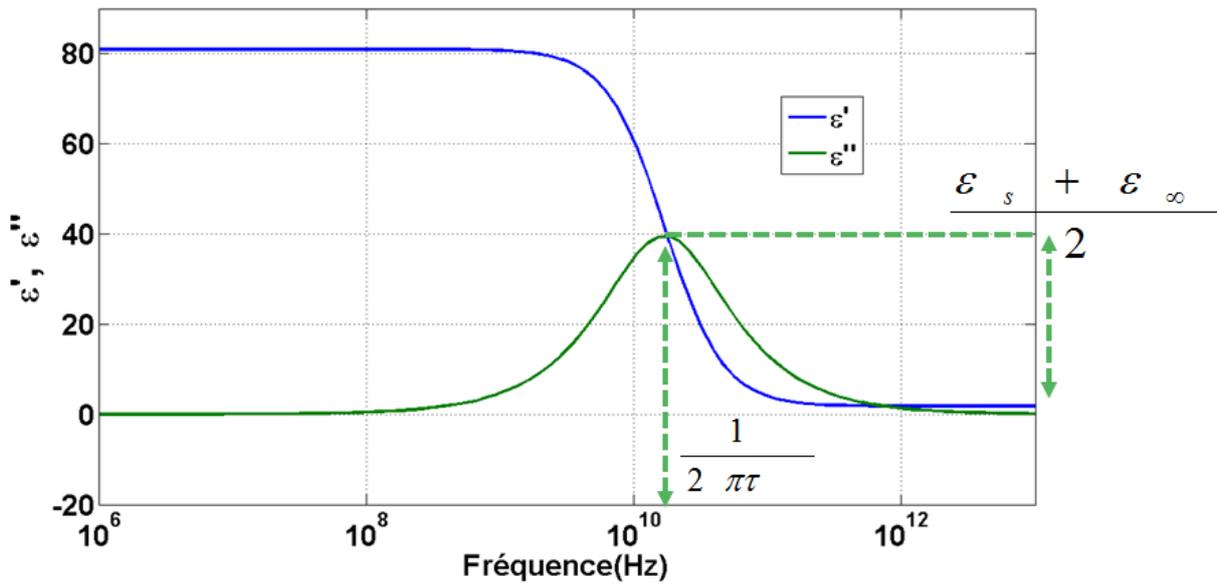


Figure II.2 : Parties réelle et imaginaire de la permittivité relative complexe de l'eau avec le modèle de Debye sans pertes de conduction

Où

- τ : le temps de relaxation de l'eau = 9.4×10^{-12} s
- ϵ_s : La permittivité de l'eau aux très basses fréquences. Elle est égale à 81.
- ϵ_∞ : La permittivité de l'eau aux très hautes fréquences. Elle est égale à 1.8.

Ces valeurs sont choisies parce que le milieu biologique est constitué par sa majorité de l'eau et à température ambiante.

La fréquence de relaxation peut être calculée : $f = \frac{1}{2\pi\tau} = 16.9$ GHz. Cette fréquence est beaucoup plus grande que l'ordre des spectres des impulsions que l'on envisage appliquer (ns, ps).

On sait que la permittivité relative équivalente s'écrit de la façon suivante:

$$\epsilon_{req}(\omega) = \epsilon_r(\omega) - j \frac{\sigma}{\omega\epsilon_0} \quad \text{Équation II-21}$$

Si nous considérons le modèle de Debye, pour définir la permittivité relative $\underline{\epsilon}_r$ on obtient alors :

$$\varepsilon_{req}(\omega) = \varepsilon_{\infty} + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_{\infty}}{1 + j\omega\tau} - j \frac{\sigma}{\omega\varepsilon_0} \quad \text{Équation II-22}$$

$$\varepsilon'(\omega) = \varepsilon_{\infty} + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_{\infty}}{1 + \omega^2\tau^2} \quad \text{Équation II-23}$$

$$\varepsilon''_{req}(\omega) = \frac{\sigma}{\omega\varepsilon_0} + \frac{(\varepsilon_s - \varepsilon_{\infty})\omega\tau}{1 + \omega^2\tau^2} \quad \text{Équation II-24}$$



Terme 1 Terme 2

La figure II.3, montre la partie imaginaire équivalente en fonction de la fréquence pour des solutions salines à différentes valeurs de conductivité. La partie imaginaire est composée de deux termes (Equation II.24). Il en ressort que le comportement du milieu dépendra plus du terme 1 ou du terme 2 en fonction de la fréquence. Aux basses fréquences, les pertes par conduction définies par le terme 1 sont beaucoup plus importantes que les pertes diélectriques (terme2). Plus la conductivité est grande, plus la pente de la courbe est forte. Aux hautes fréquences, le terme 2 prend le dessus et le terme 1 devient négligeable puisqu'il est inversement proportionnel à la fréquence. Le milieu a alors un caractère diélectrique aux hautes fréquences.

Le comportement du milieu biologique et la réponse de l'applicateur dépendent de la fréquence et du spectre de l'impulsion appliquée. Si le spectre de l'impulsion est situé dans la zone dominée par le comportement conducteur (terme 1 de l'équation II.24), c'est la conductivité qui précise donc la réponse du milieu. Par contre, si le spectre de l'impulsion appliquée est situé aux hautes fréquences, c'est le comportement diélectrique qui prend le dessus. D'après la figure II.3, le comportement conducteur (Terme 1) domine jusqu'à une fréquence égale presque à 1 GHz. Or les spectres des impulsions nanosecondes sont situés généralement dans une bande fréquence inférieure à 1 GHz, le comportement de l'applicateur va dépendre essentiellement de la conductivité du milieu biologique exposé aux nsPEF.

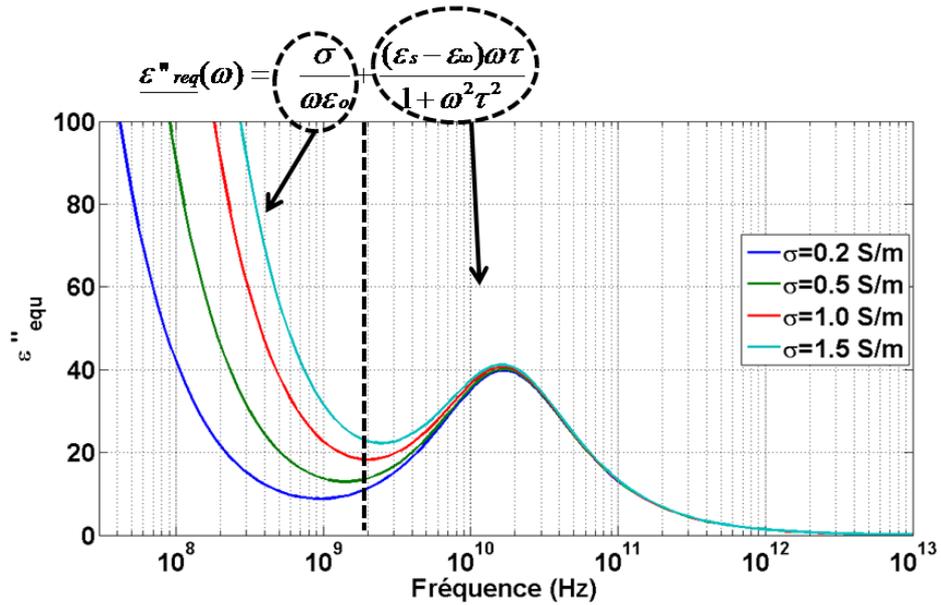


Figure II.3 : Pertes diélectriques équivalentes pour l'eau salée

V. MOYENS NUMÉRIQUES : MODÉLISATION

L'interaction entre le milieu biologique et les impulsions électriques ultracourtes se traduit par les mécanismes expliqués dans le chapitre 1. Afin de comprendre les phénomènes et l'influence des champs électriques sur les cellules biologiques, une approche numérique est nécessaire en s'appuyant sur la modélisation et la simulation numériques.

V.1. La méthode FDTD

Une onde électromagnétique est caractérisée par un champ électrique E et un champ magnétique H . La détermination des champs se fait par la résolution des équations de Maxwell. La méthode des différences finies dans le domaine temporel (notée F.D.T.D., Finite Difference Time Domain) est l'outil choisi servant à la résolution d'équations différentielles spatio-temporelles sur ordinateur. Cet outil de base F.D.T.D. permet la résolution des équations de Maxwell dans le vide mais aussi dans divers matériaux (dispersifs, dissipatifs, non-linéaires, ...) géométriquement variés, et ceci dans le domaine temporel et de manière locale. La première utilisation de la méthode F.D.T.D. dans le cadre d'une analyse électromagnétique, a été réalisée par YEE en 1966 [5]. L'amélioration des performances des

calculateurs a permis son développement et la démonstration de la puissance des "différences finies" a été faite à partir de [5].

La méthode des différences finies dans le domaine temporel (FDTD) repose sur le principe de dérivées centrées. La structure à étudier est discrétisée en mailles parallélépipédiques dans lesquelles sont calculées les différentes composantes de champs électriques et magnétiques et, les dérivées spatiales et temporelles à partir des équations de Maxwell par approximation du premier ordre. Chacune de ces mailles est caractérisée par les propriétés électromagnétiques de l'objet qu'elle discrétise [6]

L'avantage de cette méthode est qu'elle est applicable à des structures non homogènes; elle fournit, de plus, une haute résolution spatiale et permet d'appréhender une complète répartition en trois dimensions. Son aptitude à l'évaluation de la sensibilité en fonction des différents paramètres constitue également un avantage. On retiendra aussi la simplicité de la programmation, la facilité de développer de nouveaux algorithmes et l'accessibilité à la solution dans tout l'espace. Son inconvénient majeur réside dans le fait que la discrétisation se fait avec un maillage rectiligne ; or tous les systèmes ne le sont pas.

Les applications sont diverses : étude de circuits imprimés, applications médicales, calcul de propagation radio électrique, calcul de surface équivalent radar (SER), interaction directe onde-matière ...

V.2. Discrétisation spatio-temporelle

La résolution numérique des équations de Maxwell nécessite une discrétisation spatiotemporelle. Dans le cas d'un système de coordonnées cartésiennes, la discrétisation spatiale s'effectue à l'aide de cellules (ou mailles élémentaires) parallélépipédiques dans lesquelles les composantes orthogonales des champs électromagnétiques (E_x , E_y , E_z , et H_x , H_y , H_z) sont calculées. La forme particulière des équations de Maxwell conduit à une répartition de ces six composantes dans une cellule élémentaire comme représentée sur la figure II. 4. Les composantes de champ électrique sont calculées au milieu des arêtes des mailles, tandis que celles des champs magnétiques sont déterminées au centre des faces.

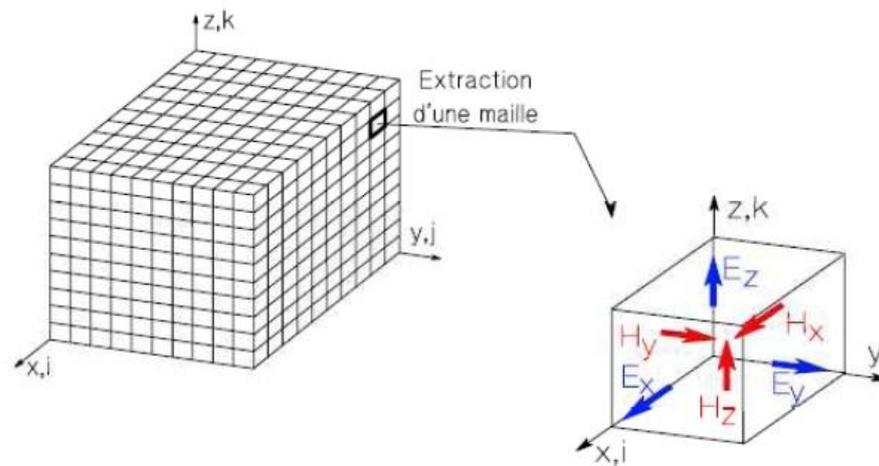


Figure II.4: Volume de calcul et maille élémentaire

La discrétisation temporelle est effectuée avec un pas d'échantillonnage Δt [1]. Celui-ci doit satisfaire un critère de stabilité numérique dépendant des pas spatiaux:

$$\Delta t \leq \frac{1}{v_p \sqrt{\frac{1}{\Delta x^2} + \frac{1}{\Delta y^2} + \frac{1}{\Delta z^2}}} \quad \text{Équation II-25}$$

Avec :

- Δt : Pas d'échantillonnage temporel, en s.
- $\Delta x, \Delta y, \Delta z$: Dimensions d'une cellule élémentaire, en m.
- v_p : Vitesse de propagation de l'onde dans le milieu, en m/s.

$\Delta t, \Delta x, \Delta y, \Delta z$ sont fixes. Cette condition sur Δt assure la stabilité du maillage.

L'étude numérique des effets des champs électriques sur le milieu biologique peut être traitée à deux échelles différentes.

V.3. L'échelle microscopique : Microdosimétrie

A l'échelle de la cellule, les structures cellulaires sont caractérisées par des dimensions très petites (μm , nm). En plus, la cellule est formée de plusieurs différentes sous-structures qui ne sont pas identiques et n'ont pas les mêmes propriétés, ce qui fait de la cellule un milieu hétérogène. La membrane de la cellule comme nous l'avons décrite au premier chapitre est composée d'une double couche lipidique contenant des dipôles qui vont réagir avec le champ électrique appliqué. Ce dernier dépend des caractéristiques du milieu et est réparti de manière inhomogène. Ces propriétés particulières de la cellule ont mené à trouver des modèles numériques équivalents. L'approche numérique à cette échelle nous permet de calculer plusieurs paramètres comme les potentiels sur les différentes structures de la cellule.

Afin d'obtenir des informations qualitatives sur la gamme de paramètres où l'électroporation des structures sous cellulaires peut être réalisée, un modèle simplifié d'une cellule avec une sous structure, telle que le noyau, peut être employé (figure II.5 (a) et (b)). Le cytoplasme qui remplit une grande partie de la cellule, contient les électrolytes qui sont modérément conducteurs. Les membranes d'autres part, qui entourent la cellule et les structures sous cellulaires, ont une basse conductivité. Nous pouvons donc considérer la cellule comme un conducteur entouré par une enveloppe isolante.

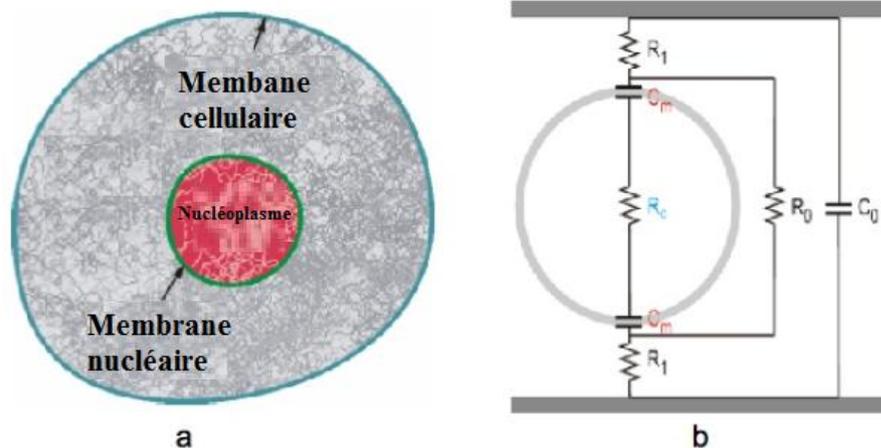


Figure II.5 : Modèle biologique simplifié de la cellule. (b) Modèle électrique de la cellule exposé entre les électrodes

Les limitations qui s'affrontent au modèle électrique sont fixées par les durées d'impulsion comparées aux temps de relaxation de la membrane de la cellule.

V.4. L'échelle macroscopique : Dosimétrie

A cette échelle, le milieu biologique est considéré comme un milieu homogène avec des propriétés électriques homogènes ayant des valeurs constantes pour la permittivité relative et la conductivité électrique. Ainsi le milieu exposé aux impulsions et placé dans l'applicateur présente une charge pour le générateur. Cette charge dépend de la géométrie de l'applicateur et des propriétés du milieu. La modélisation de l'applicateur contenant l'échantillon biologique consiste à proposer un modèle de la structure réelle et calculer son impédance pour l'adapter avec le générateur en jouant sur les paramètres du milieu et de l'applicateur. Les systèmes d'exposition sont composés de divers milieux. L'espace à considérer contient donc des objets, des obstacles, des limites, des interfaces... Chaque milieu est caractérisé par des grandeurs physiques qui lui sont propres comme la permittivité ϵ (A.s.V⁻¹.m⁻¹), la conductivité électrique σ (S/m), la perméabilité μ (V.s.A⁻¹.m⁻¹), la densité volumique (ρ , kg/m³), la conductivité thermique K_t (W.m⁻¹.K⁻¹), la chaleur spécifique C_m (J.K⁻¹.kg⁻¹)...

L'objectif de la modélisation est de faire la dosimétrie qui est la quantification des champs électriques dans le milieu biologique et des puissances absorbées. La mesure des champs électromagnétiques de façon expérimentale nécessite l'utilisation de matériels spécifiques, ce qui rend la mesure difficile du fait de l'hétérogénéité des tissus biologiques et du placement complexe des sondes qui peuvent mesurer les champs électriques. Ainsi, l'approche numérique qui consiste à modéliser les différentes parties des systèmes d'exposition est nécessaire pour compléter l'expérimentation.

A titre d'exemple, la cuvette biologique à électrodes et des microsystemes microfluidiques contenant le milieu à exposer peuvent être modélisés avec la méthode FDTD à l'échelle macroscopique en définissant le milieu biologique avec les valeurs de permittivité et de conductivité correspondantes.

La modélisation numérique permet de faire les simulations dynamiques afin de faire la caractérisation électromagnétique des dispositifs modélisés. La caractérisation consiste à calculer les différents paramètres comme l'impédance équivalente, les valeurs de champs électriques en fonction du temps et de la fréquence. Ces paramètres sont expliqués et présentés dans la suite.

V.5. Débit d'Absorption Spécifique DAS (SAR terme anglais)

V.5.1. Définition

Lorsqu'une onde est émise, elle se propage. Au cours de son trajet, elle rencontre des obstacles et une partie de l'onde incidente est réfléchi, l'autre est transmise (Figure II.6).

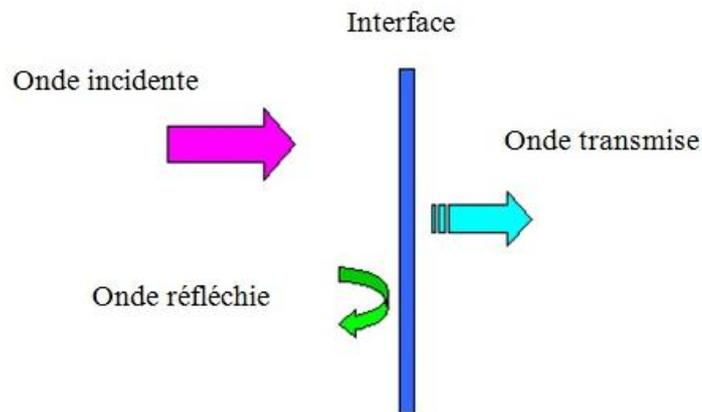


Figure II.6: Décomposition du parcours de l'onde qui rencontre un obstacle

Il en va de même pour une interface biologique. Ainsi cette onde transmise ou absorbée semble être le paramètre le plus significatif pour quantifier la dissipation de l'énergie dans la matière. Le débit d'absorption spécifique: le DAS ou SAR devient donc, en 1981, le paramètre dosimétrique de référence.

Le DAS (SAR) se définit comme suit: c'est la quantité de puissance absorbée par unité de masse, son unité est le watt par kilogramme (W / kg). Il peut être calculé de deux façons différentes:

- A partir des valeurs du champ électrique à l'aide de la forme :

$$SAR = \frac{\sigma E^2}{2\rho} \quad \text{Équation II-26}$$

- A partir de la température à l'aide de l'équation :

$$SAR = Cm \left. \frac{\partial T}{\partial t} \right|_{t=0} \quad \text{Équation II-27}$$

Avec :

- ρ = densité volumique du milieu en kg / m^3 ; σ = conductivité du milieu en S / m .

- C_m = chaleur spécifique en $J.K^{-1}.kg^{-1}$.
- E = valeur crête du champ électrique en V / m
- T = température en Kelvin.

V.5.2. Calcul du DAS à partir de la FDTD

Les composantes du champ électrique sont déterminées au centre de chaque arête alors que les composantes de champ magnétique sont calculées au centre des faces. La formule permettant le calcul du DAS est :

$$DAS(i, j, k) = \frac{\sigma |E(i, j, k)|^2}{2\rho} \quad \text{Équation II-28}$$

Avec:

- ρ : Densité volumique du milieu, en kg/m^3
- σ : Conductivité du milieu, en S/m
- $E(i,j,k)$: Valeur crête du champ électrique dans le domaine temporel, en V/m

Le module du champ électrique total peut être calculé

- aux nœuds des mailles, les six composantes de champ adjacentes sont ramenées au nœud
- au centre des mailles, les douze composantes de champ adjacentes à la maille sont ramenées au centre

Lorsque le DAS est calculé aux nœuds des mailles, un problème survient lors du traitement des interfaces. Aussi, pour s'affranchir de cette difficulté, l'évaluation du DAS se fera au centre de la maille comme présenté dans la figure II.7

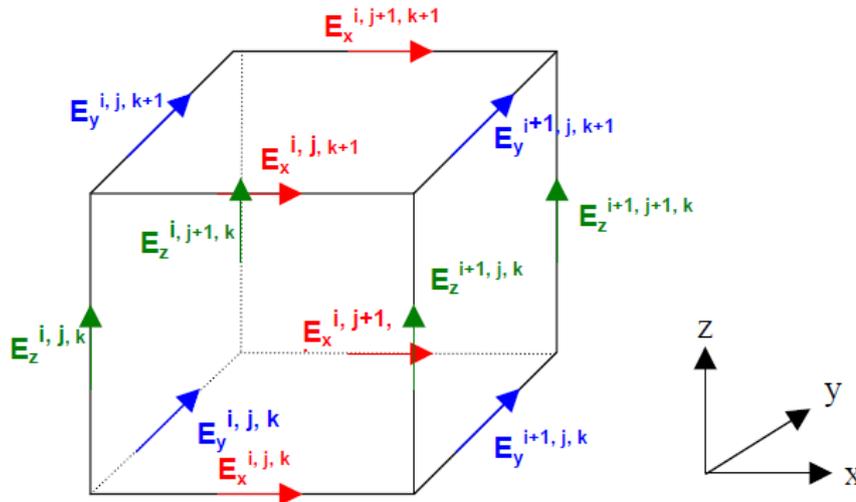


Figure II.7: Maillage FDTD

Après avoir transposé les résultats temporels du calcul FDTD en résultats fréquentiels par une transformée de Fourier, les composantes du champ électrique sont transposées au centre de la maille par interpolation linéaire.

V.6. Cartographie temporelle

Les valeurs du champ électrique dans le milieu biologique représentent une des plus importantes informations à sortir afin de les comparer aux valeurs du champ incident délivré par le générateur. La cartographie temporelle permet de montrer la distribution du champ électrique à un instant donné dans la structure modélisée. En plus, les valeurs des champs sont calculées. En calculant le champ électrique en temps réel à plusieurs instants différents, nous pouvons comparer les valeurs des champs obtenues par rapport à l'amplitude de l'impulsion (tension) appliquée. Ainsi la réponse du dispositif modélisé aux différentes impulsions peut être analysée et interprétée.

V.7. Cartographie fréquentielle

La cartographie fréquentielle du champ électrique dans la structure modélisée peut être obtenue à partir de la simulation numérique de la méthode FDTD. La distribution du champ permet de voir la propagation du champ proche dans la structure et illustrer le couplage entre les différentes parties ainsi que les valeurs du champ dans le milieu biologique à une fréquence donnée. La cartographie fréquentielle permet donc d'illustrer la distribution de

l'énergie dans la structure et permet de visualiser la façon dont l'énergie se propage surtout que les systèmes d'exposition sont caractérisés par des assemblages et des connectiques particuliers. La cartographie fréquentielle peut être faite à plusieurs fréquences et dans tous les plans et pour toutes les composantes des champs électriques et magnétiques.

V.8. Rayonnement

Les assemblages des systèmes d'exposition étant sensibles aux perturbations électriques, l'utilisation de champs forts dans les expérimentations pose un problème de compatibilité électromagnétique surtout au niveau de l'influence des ces champs sur l'environnement matériel et son fonctionnement. Cela implique un besoin de caractérisation de l'environnement électromagnétique du système d'exposition.

L'étude du diagramme de rayonnement du champ électrique est également (espace en trop) obtenue à partir de la simulation numérique avec la méthode FDTD. La distribution du champ lointain permet de voir la propagation du champ dans l'environnement de la structure. Le module de champ rayonné permet de savoir s'il peut influencer sur l'environnement de la structure et perturber le fonctionnement de matériel dans cet environnement.

VI. MOYENS EXPÉRIMENTAUX

Les impulsions électriques envoyées au milieu biologique sont caractérisées par une courte durée et une forte amplitude. La durée ultracourte correspond à un large spectre fréquentiel. L'amplitude élevée pose la problématique de claquage des dispositifs expérimentaux. Ainsi, les différents dispositifs utilisés dans les mesures expérimentales doivent fonctionner sur une large bande de fréquence et doivent tenir les hautes tensions.

L'étude expérimentale des systèmes d'expositions s'appuie sur:

- La caractérisation fréquentielle: Cette partie consiste à étudier le comportement des différents dispositifs en fonction de la fréquence et à faible amplitude.
- La caractérisation temporelle: Cette partie consiste à faire des mesures dans le domaine temporel avec un générateur de basse tension afin de trouver la réponse de l'ensemble applicateur-milieu biologique à des impulsions de durées différentes.

- La mesure haute tension: Après avoir fait la caractérisation fréquentielle et temporelle des différents dispositifs, cette partie consiste à faire les mesures avec des générateurs haute tension qui permettent de valider la phase de caractérisation effectuée.

Le système d'exposition des cellules aux nsPEF regroupe un générateur (nanopulseur) l'applicateur (une cuvette d'électroporation contenant un milieu faiblement conducteur) et les cellules à traiter, et tout un dispositif de visualisation des impulsions (l'oscilloscope). En plus, il y a des dispositifs de mesure d'impulsions avant et au niveau de l'applicateur (tap off). La figure II.8 montre un schéma qui illustre le système d'exposition complet. Dans cette partie, nous présenterons ces différents composants du système avec leurs caractéristiques.

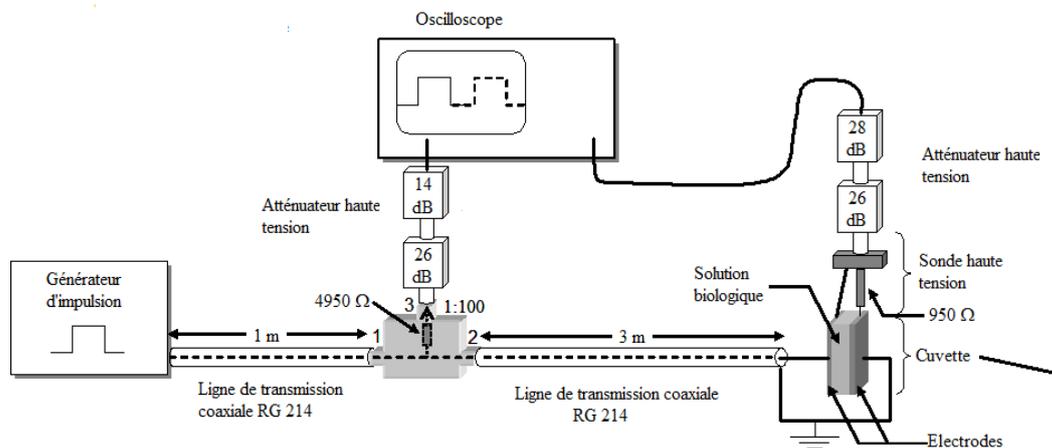


Figure II.8: Schéma du système d'exposition

VI.1. Les générateurs:

Nous avons utilisé trois types de générateurs dans les mesures expérimentales. Dans un premier temps, nous devions faire les mesures temporelles avec des impulsions de basse tension et de durées différents afin d'analyser la réponse du système étudié et comprendre les phénomènes qui ont eu lieu. Ensuite trois générateurs de haute tension sont utilisés.

VI.1.1. Générateur Pulse labs

Le générateur Pulse labs picosecond 2600C (Figure II.9) permet de délivrer des impulsions de forme rectangulaire. L'amplitude de ces impulsions est ajustable entre 0 et 1 V. Il a une option appelée « turbo » qui nous permet d'avoir une amplitude de 45 V. La durée des

impulsions varie entre 1 et 100 ns. Le temps de montée défini dans le premier chapitre ($t_{90\%}$ - $t_{10\%}$) est de 250 ps. La fréquence de répétition est comprise entre 10 Hz et 100 kHz. Ce générateur est utilisé pour la caractérisation temporelle d'un système d'exposition.



Figure II.9 : Générateur pulse lab (Puls lab picosecond 2600C)

La figure II.10 montre les différentes impulsions de différentes durées délivrées par ce générateur.

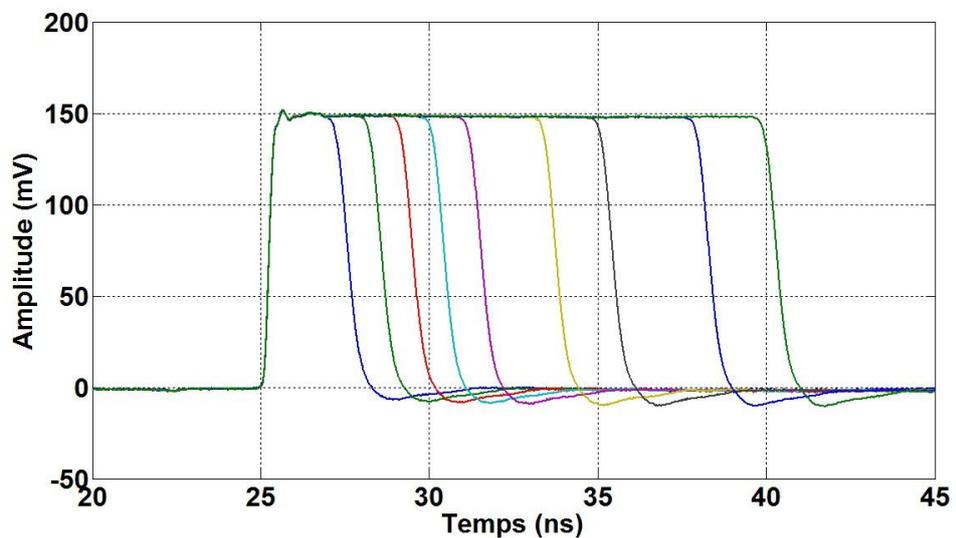


Figure II.10: Profil des différentes impulsions entre 2 et 15 ns au niveau du générateur

VI.1.2. Générateur FID Technology.

Le générateur (FPG 10-1SM10, FID Technology, Allemagne) dans la figure II.11 permet de produire une impulsion de durée 10 ns et dont le temps de montée est de 1 ns. L'amplitude des impulsions est réglable entre 4,5 et 10 kV.



Figure II.11: Générateur FID (FPG 10-1SM10, FID Technology, Allemagne)

La figure II.12 montre le profil temporel des impulsions délivrées par le générateur FID pour des différentes amplitudes:

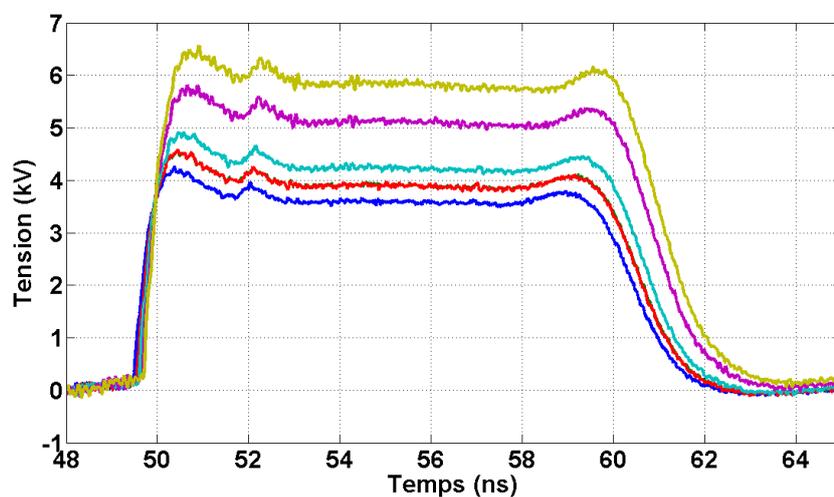


Figure II.12: Profil des différentes impulsions générées par le générateur FID pour différentes amplitudes

Les spectres des impulsions déjà présentées ci-avant, sont présentés dans la figure II.13. Ils ont la forme de sinus cardinaux et présentent le même comportement fréquentiel. Les lobes apparaissent aux mêmes fréquences mais avec des amplitudes différentes. La majorité du spectre est située aux basses fréquences (< 100 MHz).

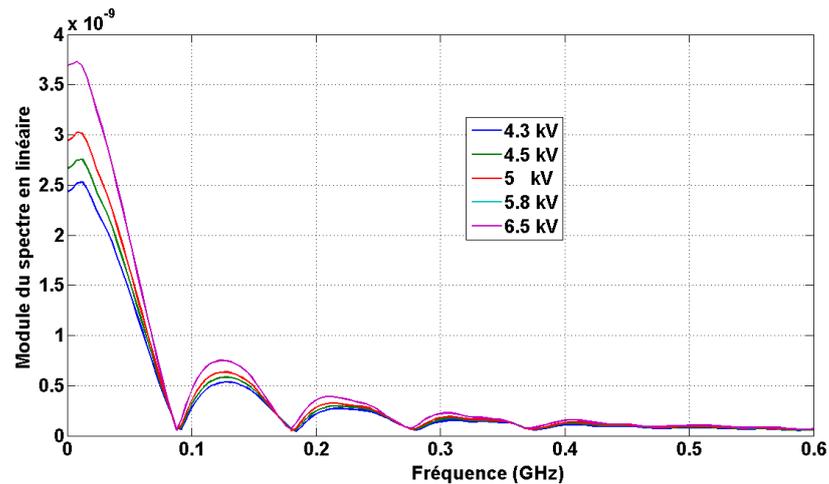


Figure II.13: Spectre des impulsions délivrées par le générateur FID

VI.1.3. Générateur Horus

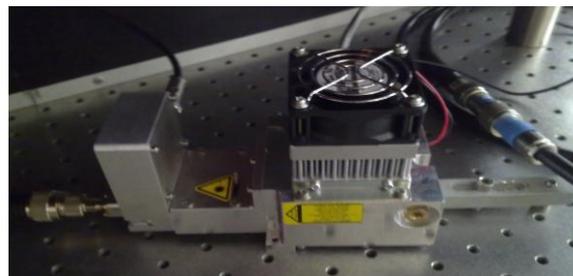
Le générateur optoélectronique (Horus HT, Limoges, France) a été développé au laboratoire Xlim [7] (Figure II.14). Ce générateur est composé d'une source laser compacte permettant de commander un système de photoconduction afin de délivrer des impulsions électriques unipolaires et bipolaires (Figure II.15) haute tension de l'ordre de 3 kV crête à crête et de durée de l'ordre de 3 ns.



a)



b)



c)

Figure II.14: Générateur Horus d'impulsions unipolaire et bipolaire (Horus HT, Limoges, France) : a) source haute tension continue b) système de commande et c) source laser et commutation

La figure II.15 montre les deux types d'impulsions fournies par le générateur Horus. La première est de type unipolaire (rectangulaire) d'amplitude 1.4 kV. La deuxième est type bipolaire d'amplitude crête à crête égale à 1 kV.

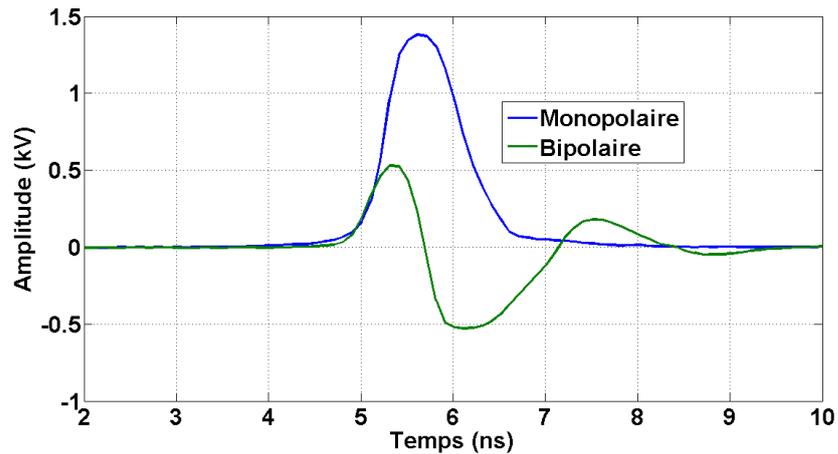


Figure II.15: Profil des impulsions générées par le générateur Horus a) impulsion unipolaire, b) impulsion bipolaire

La figure II.16 présente les spectres des deux impulsions du générateur Horus. Le spectre de l'impulsion rectangulaire a la forme d'un sinus cardinal dont le lobe principal est situé à une fréquence inférieure à 1 GHz. Le spectre de l'impulsion bipolaire est centré sur une fréquence f_0 égale à 380 MHz et de l'ordre de l'inverse de sa durée.

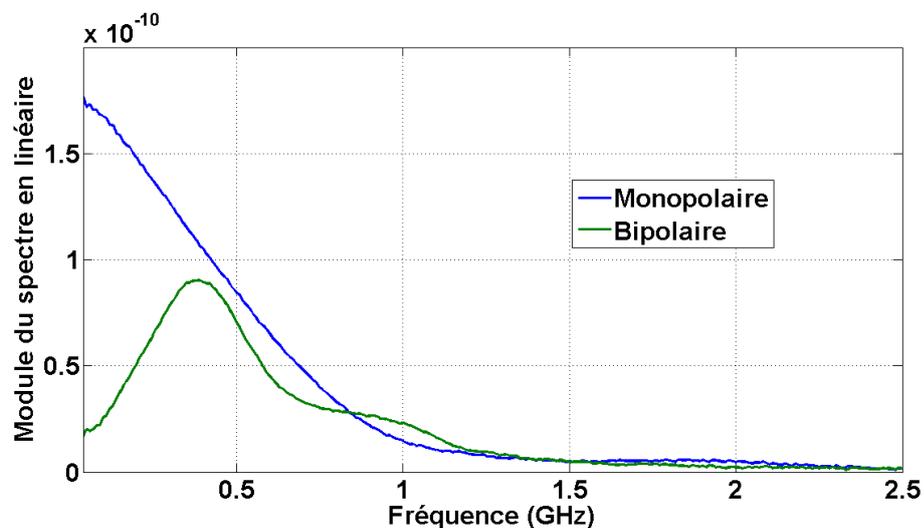


Figure II.16: Spectres des impulsions fournies par le générateur Horus

Finalement, ces trois types de générateurs nous donnent la possibilité de délivrer des impulsions de différentes amplitudes (1 V-10 kV), de différentes durées (1-100 ns) et de profils temporels différents (unipolaire, bipolaire).

Le tableau II.1 présente une synthèse des impulsions délivrées par les générateurs déjà décrits :

Générateur	Amplitude	Durée	Temps de montée	Fréquence de répétition
Pulse labs	< 1 V	Entre 1 et 100 ns	250 ps	Entre 10 Hz et 100 kHz
FID Technology	Entre 4,5 et 10 kV	10 ns	1 ns	< 1 kHz
Horus	< 3 kV	3 ns	800 ps	> 5 kHz

Tableau II.1 : Synthèse des impulsions délivrées par les différents générateurs

VI.1.4. Générateur à ligne microruban

Ce type de générateur, développé au laboratoire Xlim [8], est basé sur la technologie des lignes microruban. Il est constitué d'une ligne de transmission avec des commutateurs à semi photoconducteur placés sur les deux extrémités de la ligne. Ces photocommutateurs sont déclenchés par des microlasers. Le fonctionnement de base est expliqué dans le premier chapitre. Ce dispositif est capable de générer des impulsions monopolaire et bipolaire avec une durée variable selon la longueur de la ligne. En plus, ce principe de génération permet la conception facile de générateurs avec des impédances internes différentes. La figure II.17 montre plusieurs impulsions rectangulaires générées par ce type de générateurs et de différentes durées. Les spectres sont également présentés à droite de la figure II.17.

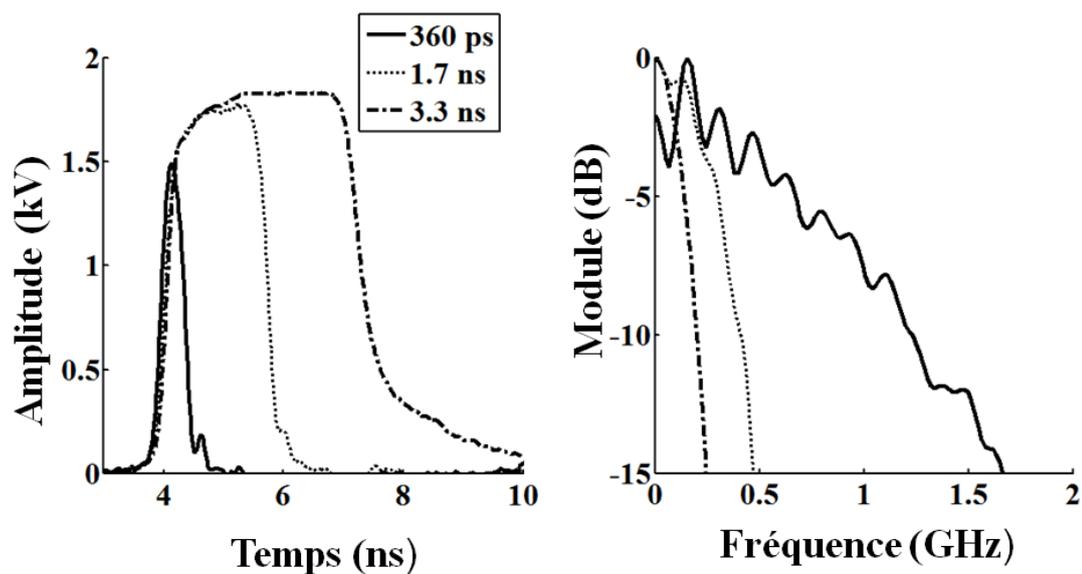


Figure II.17: Spectres des impulsions fournies par le générateur Horus

La caractérisation et les mesures expérimentales nécessitent d'être capable de mesurer et afficher les impulsions se propageant dans les différentes parties du système d'exposition. Dans la partie suivante, nous présentons les différents dispositifs qui permettent de mesurer les impulsions et de les visualiser. Les caractéristiques de ces dispositifs sont aussi présentées

VI.2. Mesure d'impulsions

VI.2.1. Extracteur des signaux

L'extracteur des signaux « Tap off » en anglais (245 NMFFP-100, Barth Electronics Technology, USA) présenté dans la figure II.18 est un dispositif à trois accès. Le signal incident arrive à l'accès 1. L'accès 2 permet d'extraire un signal dont l'amplitude est égale à $1/100^{\text{ième}}$ de celle du signal se propageant dans le câble. La partie restante (99/100) du signal sort par l'accès 3. L'impédance entre l'accès 1 et 3 est égale à 50Ω alors que l'impédance de mesure (entre les accès 1 et 2) est de 4950 ohms, permettant la mesure de la tension avec un ratio de 1:100.



Figure II.18: Extracteur des signaux (245 NMFFP-100, Barth Electronics Technology, USA)

L'avantage de ce dispositif est qu'il nous permet d'obtenir les parties incidente et réfléchie de l'onde qui se propage dans le système. L'accès 2 permet d'extraire l'onde incidente venant de l'accès 1 et l'onde réfléchie venant de l'accès 3. La caractérisation du tap off a été faite à l'aide d'un analyseur de réseau vectoriel. La figure II.19 montre le coefficient de transmission S_{21} en dB en fonction de la fréquence. Le module est constant et égal à -40 dB sur toute la bande de fréquence. Cette valeur correspond à 1/100 en linéaire.

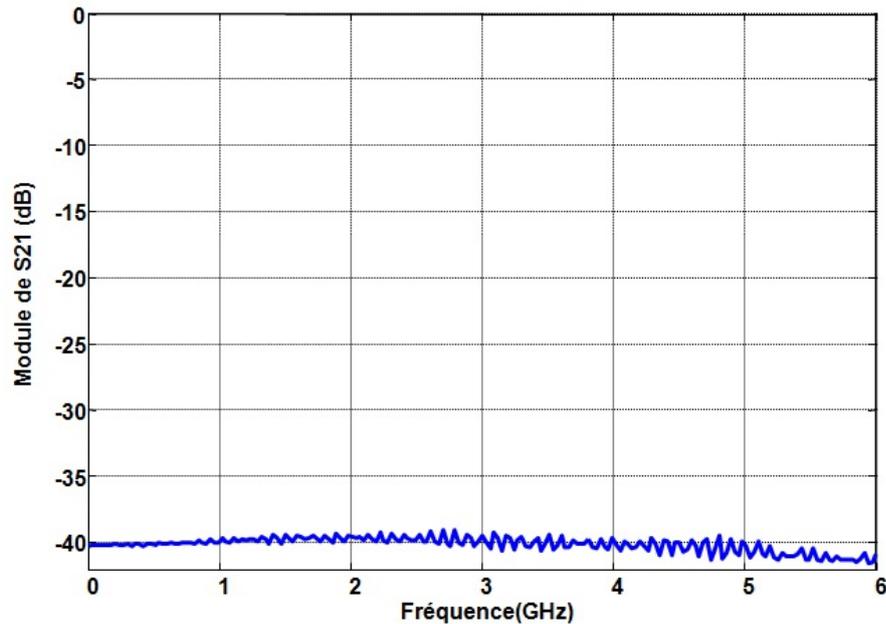


Figure II.19: Coefficient de transmission S_{21} entre l'accès 1 et 2 de l'extracteur des signaux

VI.2.2. Sonde Haute tension

La tension entre les électrodes est mesurée par une sonde haute tension (2440, Barth Electronic Technology, USA) spécialement conçue pour la mesure des impulsions de haute tension et durée courte. La sonde (Figure II.20) a une large bande de fréquence (6 GHz). Selon les besoins d'utilisation, la sonde a deux composants de mesures : un capteur avec une résistance d'entrée 900 ohms pour faire avoir un rapport 1/20 de tension, c'est-à-dire que l'amplitude de sortie de sonde est 20 fois moindre que celle d'entrée, et un autre composant avec une résistance d'entrée 450 ohms pour avoir un rapport 1/10 de tension. Pour les mesures, les deux broches de la sonde sont placées directement en contact avec les électrodes. Le connecteur en sortie est du type SMA. La tension maximale supportée par la sonde est de 3 kV pour 300 ns. L'énergie maximale correspondante en considérant l'impédance 450 Ω de la sonde, est égale à 6 mJ. Ainsi, si une impulsion de durée 10 ns et d'amplitude égale à 3 kV, l'énergie est égale à 0.2 mJ. Cette valeur est inférieure à la valeur limite de l'énergie que peut supporter la sonde. De ce fait il faut prendre la précaution d'appliquer des impulsions d'une façon continue ou bien avec une fréquence de répétition assez élevée pour éviter de cumuler une énergie suffisante qui peut détruire la sonde.



Figure II.20: Sonde haute tension (2440, Barth Electronic Technology, USA)

VI.2.3. Oscilloscope

Les impulsions mesurées sont affichées sur un oscilloscope monocoup (Figure II.21) à mémoire numérique (DSO, TDS 6124C, Tektronix, USA). L'oscilloscope a 12 GHz de bande passante. L'impédance d'entrée est de 50Ω . Il possède 4 voies en connectique SMA



Figure II.21: Oscilloscope Tektronix (DSO, TDS 6124C, Tektronix, USA)

VI.3. Caractérisation fréquentielle

VI.3.1. Analyseur de réseau vectoriel

Le principal appareil de mesure en hyperfréquence est l'analyseur de réseaux (Figure II.22). Il sert à déterminer les module et phase des paramètres S d'un dipôle ou d'un quadripôle actifs ou passifs en fonction de la fréquence. Il compare l'onde réfléchie à l'onde incidente dans le plan de référence imposé au cours de la calibration du dispositif.

L'analyseur de réseau vectoriel utilisé dans nos mesures (VNA, Agilent technology) a une bande de fréquence allant de 30 KHz à 6 GHz. Son impédance interne est de 50Ω .



Figure II.22: Analyseur de réseaux vectoriel (Agilent technology)

VI.3.2. Sonde diélectrique

La sonde diélectrique (Figure II.23) (85070E Dielectric probe kit, Agilent, USA) permet de déterminer les propriétés diélectriques d'un matériau. Les mesures sont effectuées en plongeant simplement la sonde dans des liquides ou semi-solides à caractériser. Les mesures sont non-destructives et peuvent être effectuées en temps réel. Le système complet est basé sur un analyseur de réseau vectoriel, qui mesure la réponse du matériau à l'onde envoyée par la sonde. Un logiciel informatique permettant de piloter la sonde et récupérer les informations sur un ordinateur est fourni avec la sonde. Ce logiciel contrôle l'analyseur de réseau et guide l'utilisateur grâce à la facilité de (à travers) l'installation et les étapes de mesure. En quelques secondes, il calcule et affiche la permittivité complexe, la constante diélectrique, le facteur de perte diélectrique ou la tangente de perte dans plusieurs formats.



Figure II.23: Sonde diélectrique (85070E Dielectric probe kit, Agilent, USA)

Cette sonde dispose d'une forme appelée « Slim form » qui correspond à une tige métallique. Cette forme lui permet de s'intégrer facilement dans des cuves de fermentation, des chambres de réaction chimique, ou autres équipements dotés de petites ouvertures. La conception mince lui permet également d'être utilisée avec des échantillons plus petits. A utiliser de préférence pour les matières liquides et semi-solides mous.

Avant de réaliser les mesures de permittivité des solutions à caractériser, la sonde est calibrée avec son propre Kit. La calibration est effectuée en prenant comme référence des mesures avec un court-circuit fourni avec le Kit, à l'air libre et une dernière mesure avec de l'eau distillée. La calibration est faite pour une température bien déterminée qui est mesurée avec un thermomètre.

VI.4. Connectiques

Les mesures hautes tension effectuées nécessitent des connecteurs et des transitions de câblage qui tiennent les hautes tensions appliquées. Nous avons utilisés des connecteurs (Figure II.24) de type HNB (Barth Electronics Technology, USA) qui correspondent aux connecteurs du générateur FID décrit précédemment. Ce type de connecteurs est limité à 15 kV en tension et possède une impédance caractéristique égale à 50 Ω .



Figure II.24: Connecteur haute tension et transition HNB (Barth Electronics Technology, USA)

VI.5. Atténuateurs

A cause de la présence dans les systèmes d'exposition de dispositifs qui sont limités en tension tel que l'oscilloscope, nous avons utilisé des atténuateurs pour atteindre les niveaux de tensions souhaités. Nous nous sommes servis d'atténuateurs haute tension (GHMF, Barth Electronics, USA). Ces atténuateurs (Figure II.25) ont des connecteurs de type GHV et supportent des tensions jusqu'à 2.5 kV pour une durée 400 ns.



Figure II.25: Atténuateur Haute tension de connecteur GHV (GHMF, Barth Electronics, USA)

VI.6. Charges

Des terminaisons 50Ω haute tension ont également été utilisées (GHMF, Barth Electronics, USA). Ces charges supportent une tension maximale de 10 kV et présentent une connectique GHV. Enfin, des transitions illustrées dans la figure II.26 entre les différents types de connectique ont été utilisées.



Figure II.26: Charges 50Ω haute tension (GHMF, Barth Electronics, USA)

VII. PROTOCOL DE MESURE

Afin de mieux comprendre la procédure des mesures effectuées avec le système d'exposition présenté dans ce chapitre, nous illustrons dans la figure II.27, le chronogramme qui présente la propagation de l'impulsion à travers le système. Nous montrons le parcours de l'impulsion au niveau du tap off et de la cuvette pour deux cas de longueur différente du câble reliant la cuvette et le tap off. Pour le cas 1, l'impulsion délivrée par le générateur, arrive au tap off où une partie du signal incident ($1/100^{\text{ème}}$) est extraite. Le signal incident continue à se

propager vers l'applicateur à travers le câble de longueur $L_1 = 1$ m. Au niveau de la cuvette, une partie de l'impulsion est transmise et une autre, à cause de la désadaptation, est réfléchi et revient au tap off après un parcours ($2 \times L_1$) qui correspond à une longueur électrique

$\tau = \frac{2L}{c\sqrt{\epsilon_r}}$. Pour le deuxième cas, nous obtenons le même parcours de l'impulsion mais avec

un retard temporel double pour la partie réfléchi puisque la longueur du câble est le double.

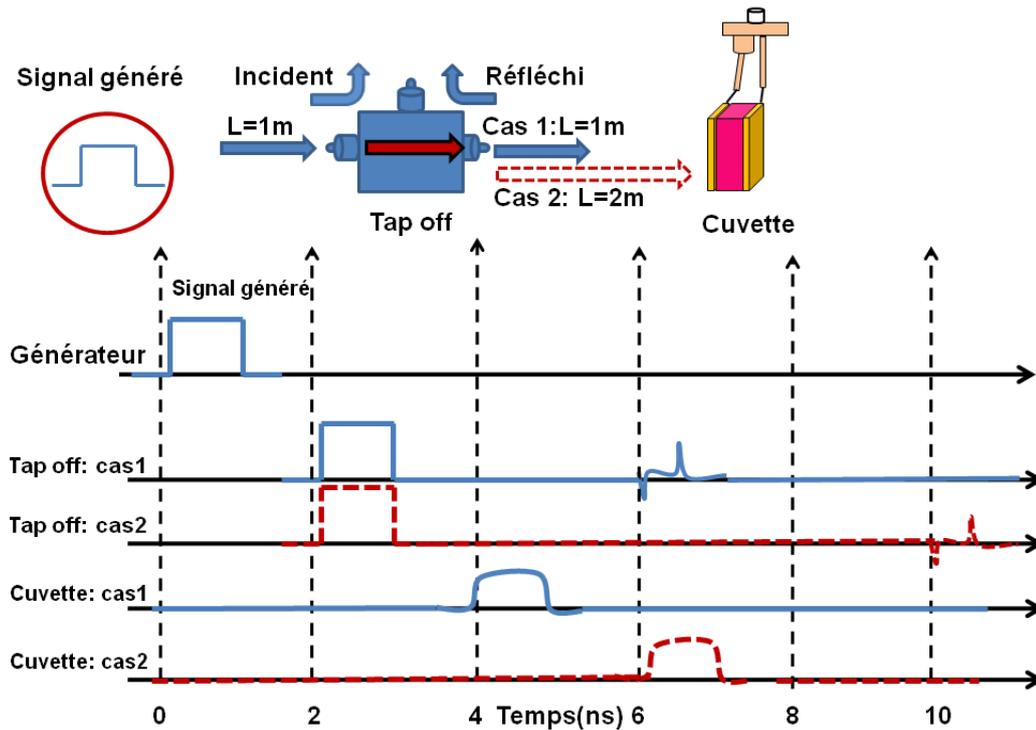


Figure II.27: Chronogramme des impulsions sur le système d'exposition

La figure II.28 montre un diagramme qui permet d'illustrer les différentes étapes de la procédure des mesures expérimentales.

L'impulsion délivrée par le générateur se propage vers l'extracteur des signaux. La démarche des mesures est constituée de plusieurs étapes :

1. Une partie du signal incident ainsi que de celui réfléchi est extraite et affichée sur l'oscilloscope. Le signal transmis continue sa propagation vers l'applicateur (la cuvette biologique). La tension de l'impulsion transmise est mesurée au niveau des électrodes de la cuvette avec la sonde et elle est affichée sur l'oscilloscope.

2. Les signaux affichés sur l'oscilloscope peuvent être récupérés en format de fichiers texte. Ainsi, les données sont traitées avec matlab pour dissocier les parties incidente et réfléchi.
3. Le signal transmis est calculé en sommant les signaux incident et réfléchi.
4. Le signal résultant est comparé avec l'onde transmise mesurée avec la sonde directement sur les électrodes de l'applicateur. Enfin, l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus permettent de comprendre le comportement du système d'exposition et la réponse de l'applicateur aux impulsions électriques.

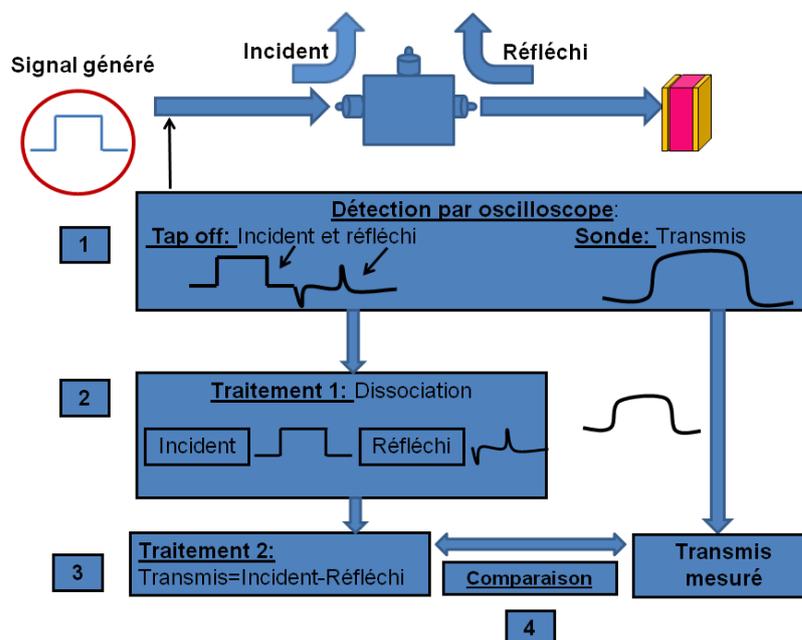


Figure II.28: Diagramme illustrant la procédure des mesures expérimentales

VIII. CONCLUSION

Dans ce chapitre, la théorie des milieux diélectriques et les outils numériques et expérimentaux nécessaires à la modélisation, la caractérisation et les mesures des systèmes d'exposition ont été présentés.

Dans ce contexte, nous avons présenté la théorie des milieux diélectriques qui est nécessaire afin d'analyser et comprendre les résultats du point de vue électromagnétique. Une description des équations fondamentales pour la caractérisation de milieux diélectrique et biologique a été présentée selon les modèles théoriques de Debye et Cole-Cole. Ces modèles prennent en compte de l'organisation complexe des matériaux biologiques et de leurs propriétés EM.

Ensuite, nous avons décrit la méthode des différences finies (FDTD) que nous avons choisie pour traiter les problèmes de l'aspect EM. L'analyse numérique est effectuée en utilisant la méthode FDTD en 3D permettant de résoudre les équations de Maxwell en fonction du temps. Cette méthode permet de modéliser des géométries complexes et hétérogènes et prend en compte les propriétés physiques de l'échantillon biologique tel que la permittivité et la conductivité.

Enfin, les moyens expérimentaux ont été présentés avec leurs caractéristiques. La manipulation des champs électriques forts exigent l'utilisation de dispositifs capables de fonctionner sur une large bande de fréquence et supporter les tensions élevées sans avoir un claquage.

Après avoir présenté les outils numériques et expérimentaux nécessaires et choisis ceux qui nous permettent de faire une étude complète théorique et expérimentale, le chapitre suivant présente l'étude de trois différents applicateurs pour l'exposition des milieux biologiques aux champs électromagnétiques.

IX. RÉFÉRENCES

- [1]. P. Leveque, « Diffraction d'ondes électromagnétiques transitoires par des obstacles en présence de milieux diélectriques à pertes », Thèse de Doctorat en Electronique – Université de Limoges - n° d'ordre 14-94 - Fév. 1994.
- [2]. P. MANCEAU 'Etude du phénomène de relaxation diélectrique dans les capacités Métal-Isolant-Métal', Thèse de doctorat - Univ. Joseph FOURIER, -- Mai 2008, pp.26-31
- [3]. T. Sunaga, H. Ikehira, S. Furukawa, H. Shinkai, H. Kobayashi, Y. Matsumoto, E. Yoshitome, T. Obata, S. Tanada, H. Murata, and Y. Sasaki, "Measurement of the electrical properties of human skin and the variation among subjects with certain skin conditions," *Physics in Medicine and Biology*, vol. 47, pp. N11-N15, Jan 2002.
- [4]. A. El-Lakkani, "Dielectric response of some biological tissues," *Bioelectromagnetics*, vol. 22, pp. 272-279, May 2001.
- [5]. Taflove A., Brodwin M. E. ' Numerical solution of steady-state Electromagnetic scattering problems using the time dependant Maxwell's equations'. IEEE Trans. On Microwave Theory and Techniques, vol. 23, No 8, Aug. 75, pp. 623-630
- [6]. M. Thévenot, « Analyse comportementale et conception des matériaux diélectriques à Bande Interdite Photonique. Application à l'étude et à la conception de nouveaux types d'antennes », Thèse de Doctorat en Electronique , Université de Limoges, novembre 1999, N°34-1999
- [7]. B. Vergne, “ Synthèse d'ondes électriques picosecondes de puissance par commutation optoélectronique-application aux radars à bande spectrale ultralarge”, Thèse à l'université de Limoges, 2006
- [8]. Saad El Amari, Thèse en cours à l'université de Limoges, « Développement et caractérisation de source hyperfréquence pour application biomédical », 2010

CHAPITRE III :
APPLICATEURS : CUVETTE
BIOLOGIQUE

I. INTRODUCTION :

Dans les chapitres précédents, nous avons illustré l'aspect multidisciplinaire de cette étude rassemblant notamment les domaines de la physique et de la biologie. La difficulté principale provient de la maîtrise des différents paramètres mis en jeu, vu la complexité et l'inhomogénéité du milieu biologique. Nous avons vu par exemple que les propriétés électromagnétiques du milieu biologique varient en fonction de la fréquence. D'autre part, la modélisation et les mesures expérimentales doivent être précises et performantes pour caractériser et calculer les niveaux de champ électrique et l'énergie absorbée par le milieu biologique. Le but ultime est de pouvoir effectuer des expérimentations biophysiques avec une bonne reproductibilité des résultats.

Ce chapitre est composé de plusieurs parties. Il sera consacré à la caractérisation de différents types d'appicateurs basés sur la cuvette biologique utilisée dans des applications biologiques. La caractérisation consiste à étudier les comportements fréquentiel et temporel de chaque applicateur afin de pouvoir spécifier leurs limites d'utilisation vis-à-vis des types de signaux appliqués. Une étude dosimétrique est réalisée afin d'illustrer et quantifier les niveaux de champs électriques dans les systèmes étudiés.

La première partie de ce chapitre présente la caractérisation EM des différents milieux biologiques. Nous présenterons l'évolution fréquentielle des paramètres électromagnétiques (permittivité et conductivité) des milieux obtenus par un modèle théorique et par mesure.

La deuxième partie se focalise sur l'étude d'un système d'exposition in vitro à 2.45 GHz. Ce système est spécialement conçu pour les mesures des paramètres biophysiques sur les cellules vivantes ou des modèles de cellules placées dans une cuvette spectrofluorimétrique.

La troisième partie concerne l'étude de la cuvette biologique avec des électrodes. Nous présenterons la caractérisation EM du dispositif pour différents milieux biologiques. La caractérisation est faite dans le domaine fréquentiel (impédance, adaptation, DAS ...) et dans le domaine temporel avec la présentation de la réponse de la cuvette aux impulsions de différentes durées, formes et amplitudes. La phase de la caractérisation sert à comprendre le comportement de la cuvette, ses limites de fonctionnement et les phénomènes qui déterminent sa réponse aux impulsions appliquées.

II. CARACTÉRISATION DES MILIEUX BIOLOGIQUES

II.1. Introduction

Cette partie consiste à caractériser des solutions par mesure pour déterminer et illustrer leurs propriétés électromagnétiques en fonction de la fréquence. Les solutions utilisées sont des solutions ioniques de NaCl à différentes concentrations. Ces solutions ont des propriétés similaires à celle d'un milieu biologique. La permittivité équivalente $\varepsilon_{eq}(\omega)$ et la conductivité $\sigma_{eq}(\omega)$ ont été mesurées à l'aide de la sonde diélectrique (85070E Dielectric probe kit, Agilent, USA) décrite dans le chapitre II. L'évolution de ces deux paramètres obtenue par mesure est ensuite comparée à celle représentée par le modèle théorique de Debye.

II.2. Etudes théorique et expérimentale

La sonde diélectrique permet d'avoir les valeurs des parties réelle et imaginaire de la permittivité équivalente du milieu caractérisé (Equation III.1). La sonde qui est reliée à un analyseur de réseaux vectoriel et pilotée par ordinateur (chapitre II) permet de récupérer les données mesurées dans un fichier contenant : la fréquence, la partie réelle et la partie imaginaire de la permittivité équivalente.

$$\varepsilon_{eq}(\omega) = \varepsilon'_{eq}(\omega) + j\varepsilon''_{eq}(\omega)$$

Équation III-1

Les mesures sont effectuées sur la bande de l'analyseur de réseau (30 kHz – 6 GHz) pour une solution saline (eau+NaCl) de conductivité 1.6 S/m. Cette valeur de conductivité est typique des milieux de culture **et** connue pour favoriser la viabilité des cellules biologiques.

La figure III.1 montre la partie réelle $\varepsilon'_{eq}(\omega)$ mesurée et théorique (Debye) pour ce type de solution.

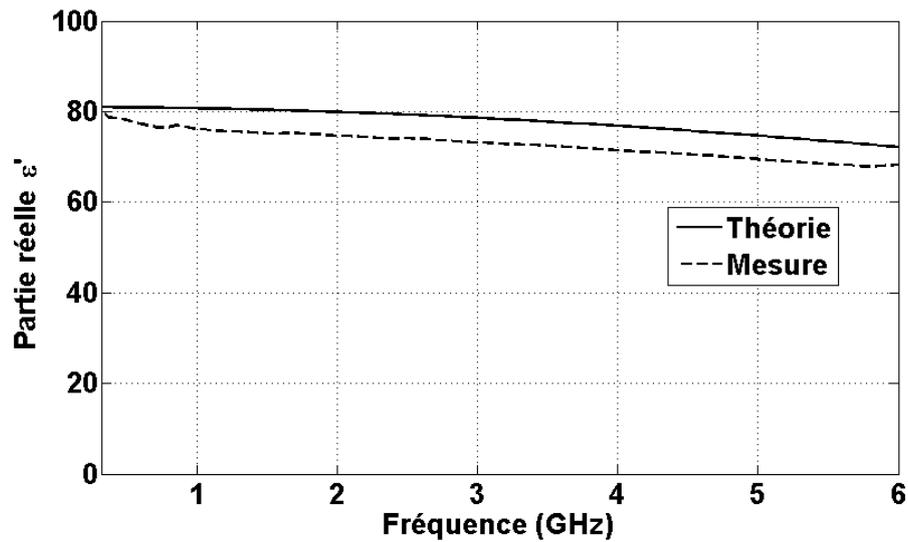


Figure III.1: Partie réelle $\epsilon'_{eq}(\omega)$ mesurée et théorique pour la solution NaCL (1.6 S/m).

La figure III.2 montre les parties imaginaires obtenues par théorie et mesure en fonction de la fréquence

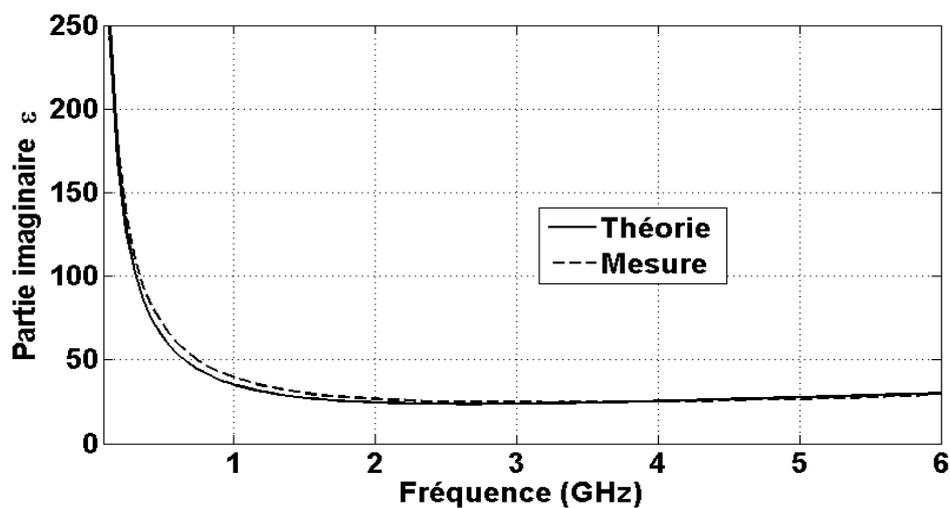


Figure III.2: Partie imaginaire $\epsilon''_{eq}(\omega)$ mesurée et théorique (Debye) pour la solution NaCL (1.6 S/m).

Tout d'abord, nous constatons que les résultats obtenus par mesure et théorie sont conformes, avec un léger écart qui est très probablement dû aux valeurs prises dans le modèle théorique.

La partie réelle mesurée correspond à la partie réelle du modèle théorique de Debye. Elle représente la permittivité relative du milieu et décroît légèrement en fonction de la

fréquence (de 78 en basse fréquences à 70 pour 6 GHz). L'écart maximum entre les valeurs obtenues par mesure et par le modèle théorique est égal à 6%.

La partie imaginaire décroît également en fonction de la fréquence. Elle traduit deux types de pertes:

- Les pertes par conduction dues au déplacement des ions lors de l'application d'un champ électrique. Ce type de perte est désigné par la conductivité électrique.
- Les pertes diélectriques de polarisation dues au déphasage entre le mouvement des dipôles et le champ électrique appliqué. Aux basses fréquences, ces pertes sont faibles parce que les dipôles arrivent à suivre les variations du champ appliqué et le déphasage reste faible. Lorsque la fréquence augmente, le déphasage augmente et cause des pertes diélectriques qui se traduisent par un échauffement thermique. Aux fréquences hautes, la période du champ électrique E devient petite que le temps de relaxation des dipôles constituant le milieu et ces derniers ne sont plus influencés par le champ électrique. Ce phénomène intervient à une fréquence particulière appelée fréquence de relaxation du milieu. Cette fréquence est située autour de 16.9 GHz lorsque le milieu considéré est l'eau comme illustré dans le chapitre précédent.

La figure III.3 montre l'évolution de la conductivité équivalente du milieu obtenue par théorie et par mesure.

Les résultats montrent que les valeurs théoriques et mesurées sont presque identiques sur toute la bande de fréquence. Aux basses fréquences, c'est le terme σ_{statique} qui caractérise le comportement du milieu. Lorsque la fréquence augmente, le terme $\varepsilon''_{eq}(\omega)$ augmente et devient prédominant.

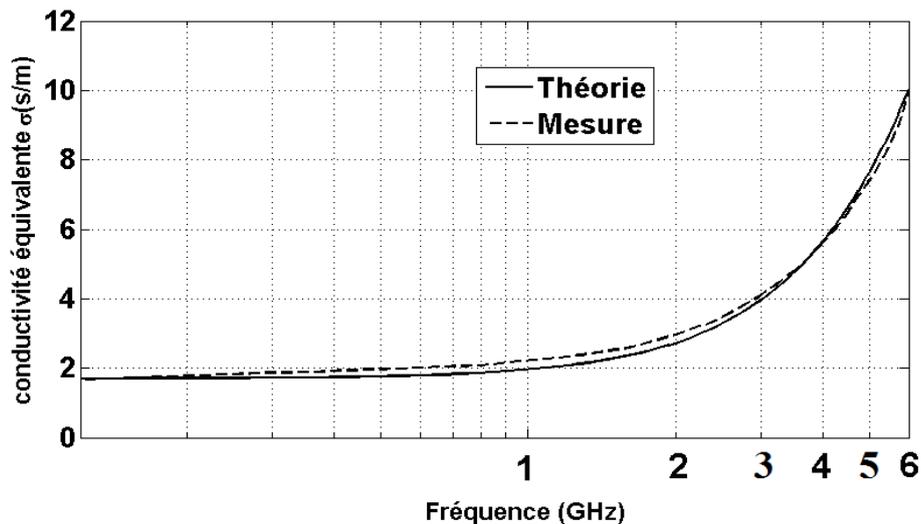


Figure III.3 : Conductivité équivalente $\sigma'_{eq}(\omega)$ mesurée et théorique (Debye) pour la solution NaCl (1.6 S/m).

La figure III.4 montre les deux termes de la partie imaginaire de la permittivité équivalente théorique pour la solution NaCl de conductivité 1.6 S/m en fonction de la fréquence. Le terme $\frac{\sigma}{\omega\epsilon_0}$ domine aux basses fréquences. Le terme $\epsilon''(\omega)$ représentant les pertes diélectriques augmente en fonction de la fréquence et coupe la courbe des pertes de conduction à une fréquence particulière appelée fréquence de transition du comportement conducteur au comportement diélectrique.

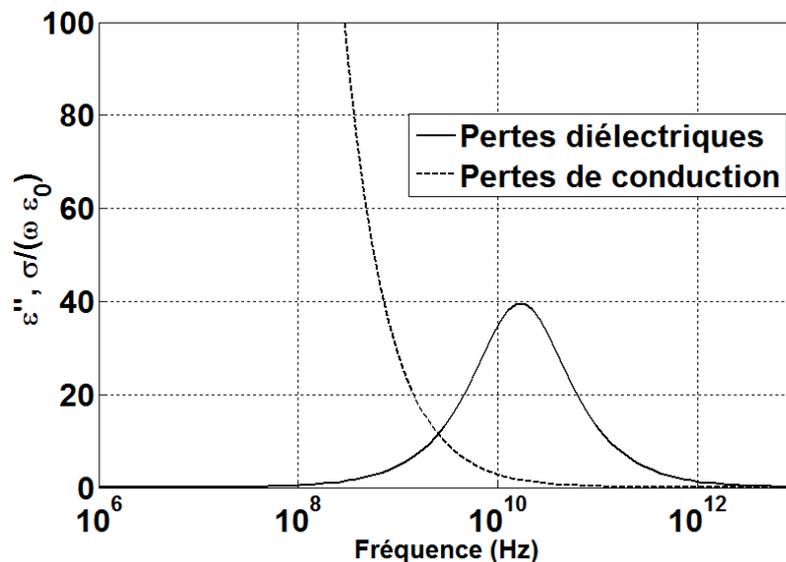


Figure III.4: Partie imaginaire de la permittivité équivalente complexe pour la solution NaCl (1.6 S/m)

A la fréquence de transition, la partie réelle mesurée représentant la permittivité relative ϵ_r est égale à la partie imaginaire qui est égale à : $\frac{\sigma}{\omega\epsilon_0\epsilon_r}$. Nous pouvons donc calculer la fréquence de transition (Equation II.21), à partir de l'équation suivante:

$$f_t = \frac{\sigma}{2\pi\epsilon_0\epsilon_r} = 360 \text{ MHz.}$$

II.3. Conclusion

Enfin, nous pouvons déduire que le modèle de Debye décrit bien le comportement des solutions choisies pour nos travaux. La réponse du milieu biologique dépend de la fréquence. Aux basses fréquences, les pertes par conduction dues à la conductivité sont plus importantes que les pertes diélectriques qui apparaissent aux hautes fréquences. La transition entre les comportements conducteur et diélectrique est déterminée par une fréquence spécifique liée à la conductivité électrique et la permittivité du milieu. Les spectres des impulsions utilisées dans notre étude sont beaucoup plus inférieurs à la fréquence de relaxation (spectres <1 GHz), le comportement diélectrique n'intervient pas et c'est l'effet de la conductivité qui domine.

Après avoir expliqué le comportement du milieu biologique en fonction de la fréquence, nous présentons dans la partie suivante l'étude d'un système d'exposition aux microondes avec un applicateur constitué d'une cuvette sans électrode remplie de solution biologique.

III. DOSIMÉTRIE D'UN SYSTÈME D'EXPOSITION IN VITRO À 2.45 GHZ

III.1. Introduction

Afin d'obtenir des informations sur l'effet des micro-ondes (micro-wave MW) appliquées sur les cellules vivantes, différents types de systèmes d'exposition ont été spécialement développés au cours des deux dernières décennies. Ces systèmes d'exposition sont utilisés soit pour des applications médicales, soit l'étude des effets biologiques des MW et les mécanismes. Comme nous l'avons expliqué précédemment, les études bioélectromagnétiques se confrontent à la difficulté du contrôle des paramètres physiques et

biologiques au cours des expériences. En outre, comme les expérimentations bioélectromagnétiques impliquent différentes cibles, les protocoles et les configurations d'exposition peuvent difficilement être standardisés. Par conséquent, la conception de chaque système d'exposition doit être soutenue par la dosimétrie électromagnétique numérique et validée par les mesures expérimentales.

Pour l'étude des effets des MW sur les propriétés biophysiques, différentes techniques peuvent être utilisées, telles que des techniques basées sur l'infrarouge (IR) ou la spectroscopie RMN (résonance magnétique nucléaire).

La plupart des systèmes d'exposition sont conçus pour une exposition à des champs micro-ondes suivie d'une analyse biophysique. Dans la partie suivante, nous proposons un système d'exposition qui autorise l'acquisition de la température et des mesures de fluorescence lorsque l'échantillon biologique placé dans une cuvette spectrofluométrique est exposé au signal MW avec une antenne coaxiale. Les mesures de fluorescence sont effectuées sur les échantillons biologiques qui sont exposés aux MW. A partir des mesures de fluorescence, le paramètre generalized polarization (GP) d'une suspension des vésicules géantes unilaminaires (ou giant unilaminar vesicles en anglais - GUV) est calculé.

Pour le dispositif d'exposition, l'adaptation (le coefficient de réflexion S_{11} et l'impédance), la distribution du champ électromagnétique et le taux d'absorption spécifique (SAR) sont fournis à partir d'une analyse électromagnétique rigoureuse avec l'outil FDTD.

Ce travail a été réalisé en collaboration avec Dr. Mihaela MOISESCU, Dr. Tudor SAVOPOL et Dr. Eugenia KOVACS de l'Université de Médecine et Pharmacie Carol Davila à Bucarest, département de Biophysique et Biotechnologies Cellulaires.

Ce système d'exposition a été conçu à l'Institut pour Lasers, Plasma et Physique de Bucarest et il est utilisé à l'Université Carol Davila depuis plusieurs années. Afin de connaître plus précisément son comportement du point de vue électromagnétique, nous avons été sollicités par le groupe roumain pour effectuer l'étude dosimétrique qui est présentée par la suite.

III.2. Description du système et des moyens de mesure expérimentaux

Le dispositif global est composé d'un système de spectrofluorimétrie combiné à un système d'exposition à des micro-ondes à la fréquence 2,45 GHz. Le système d'exposition comprend un générateur, un coupleur bidirectionnel, un adaptateur d'impédance et un applicateur placé dans un support qui contient l'échantillon biologique.

Le générateur (Sairem, France) permet de délivrer un signal MW de fréquence égale à 2.45 GHz avec une puissance de sortie réglable (jusqu'à 120 W). Comme le montre la figure III.5 (A), le générateur est connecté au coupleur bidirectionnel (Hewlett Packard 777D, CA, USA) qui permet de mesurer les ondes incidente et réfléchie et d'effectuer ainsi le monitoring des bio-expérimentations. L'adaptateur d'impédance (Figure III.5 (B)) est constitué fondamentalement d'une ligne de transmission dont on modifie l'impédance caractéristique pour obtenir une impédance optimale entre le générateur et l'applicateur. Une fois l'adaptation d'impédance réalisée, à savoir quand une puissance minimale réfléchie est mesurée avec un Wattmètre (Hewlett Packard 436 A, CA, USA), nous pouvons considérer que le système est adapté et nous pouvons ensuite lancer les expérimentations.

L'élément qui permet d'appliquer le signal microonde au milieu biologique est un câble coaxial dénudé à sa terminaison. Le conducteur central métallique est directement en contact avec la suspension biologique (figure III.5(C)) et forme un élément rayonnant. Le diamètre interne du câble coaxial est de 0,8 mm et le diamètre externe est égal à 2,75 mm. Ces valeurs de diamètres sont déterminées pour une impédance 50 ohms du câble coaxial [1].

La longueur de l'élément rayonnant dans la solution biologique est de 2 mm. Cette dimension est faible par rapport à la longueur d'onde dans la solution donnée par l'équation :

$$\lambda = \frac{c}{\sqrt{\varepsilon_r} \times f} = 14.2 \text{ mm},$$

où c est la vitesse de la lumière, f est la fréquence de travail et ε_r représente la permittivité relative du milieu biologique. La valeur de la permittivité relative (74) est obtenue par mesure selon la procédure donnée dans la section précédente.

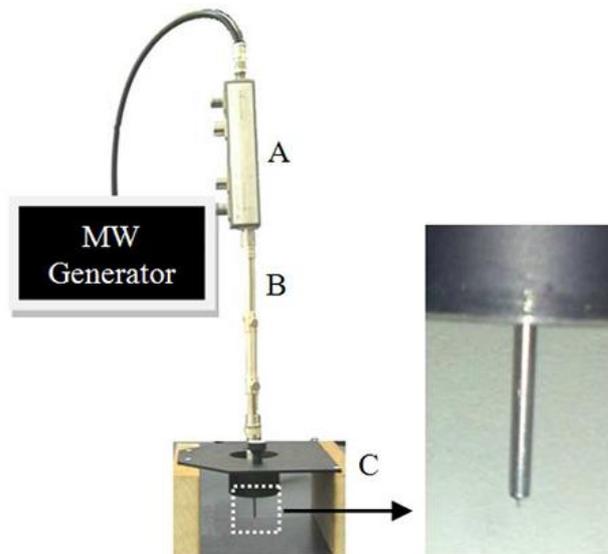


Figure III.5: Schéma du système d'exposition MW avec l'antenne coaxiale

Cette longueur particulière de l'élément rayonnant a fourni la meilleure adaptation d'impédance à la fréquence 2,45 GHz pour ce système. L'emplacement de l'antenne permet de délivrer la densité de puissance micro-ondes dans le centre de la cuvette près de la zone de l'analyse spectrofluorimétrique (faisceau de lumière).

Une suspension de vésicules unilaminaires géantes GUV (Geant Unilaminar Vesicule en anglais) est placée dans une cuvette en plastique de dimensions $12 \times 12 \times 40$ mm (figure. III.6 (a)) dont l'épaisseur des parois est de 1 mm. Le volume de la solution exposée est de $10 \times 10 \times 23.5$ mm, ce qui correspond à un volume de 2.35 mL. La suspension de GUV, marquée avec $10 \mu\text{M}$ Laurdan (6-dodecanoyl-2-diméthylamino-naphthalène) (Molecular Probes, Oregon, USA) est préparée à partir de DMPC (1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) (Sigma-Aldrich GmbH, Allemagne) [2].

La figure III.6 (b) montre le système spectrofluométrique (Spex, Allemagne) qui est composé d'un dispositif appelé « holder » (TLC50, Quantum du Nord-Ouest Inc, USA) qui soutient la cuvette. Des ouvertures rectangulaires de 4×8 mm se trouvent sur trois côtés du holder afin de permettre des mesures de fluorescence (le quatrième côté à 180° par rapport au trajet des rayons lumineux d'excitation est fermé par un obturateur en aluminium). Le système est piloté avec un logiciel informatique. Une sonde de température (Luxtron, Model One, CA, USA) immergée dans le milieu permet l'acquisition de température au cours de l'exposition aux micro-ondes. L'extrémité de la fibre optique est proche de la pinoche de l'applicateur. Enfin,

un agitateur magnétique placé au fond de la cuvette a également été utilisé au cours des expériences pour homogénéiser le milieu biologique.

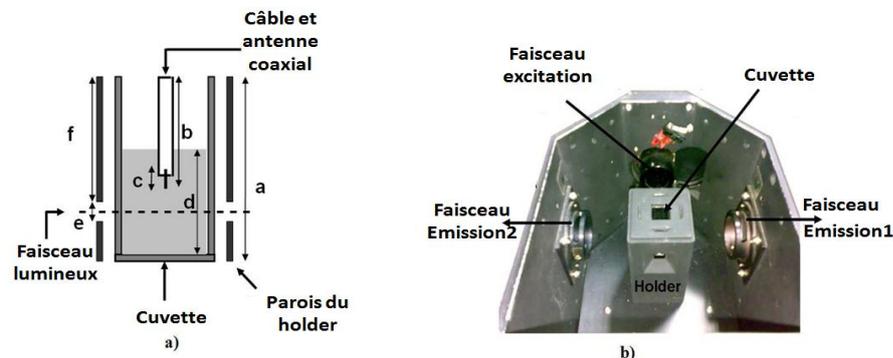


Figure III.6 : Système d'exposition étudié. a) Cuvette spectrofluométrique avec la solution $a=40$ mm, $b=28$ mm, $c=2$ mm, $d=23.5$ mm, $e=4$ mm, $f=30$ mm. b) Cuvette dans le holder.

Pour le protocole de mesures utilisé, la suspension de GUV est thermostatée à une température initiale de 15°C . Puis, un signal MW est appliqué jusqu'à ce qu'une température de 40°C est atteinte dans la suspension GUV. Les expériences sont effectuées à $1,2$ W de puissance incidente qui correspond à la puissance (mesurée à l'aide du coupleur bidirectionnel) fournie à la suspension biologique. Durant l'exposition MW, les spectres d'émission de Laurdan sont enregistrés et les valeurs du paramètre generalized polarization (GP) sont calculées comme indiqué dans la section III.5 et détaillé dans la référence [3]. Les valeurs de GP sont représentées en fonction de la température.

Avant de montrer le type de résultats obtenu avec ce système, la caractérisation de son comportement du point de vue électromagnétique est présentée dans la partie suivante.

III.3. Caractérisation électromagnétique

III.3.1. Modélisation numérique

Afin de caractériser la réponse de l'échantillon biologique à l'exposition $2,45$ GHz, une analyse numérique a été effectuée à l'aide de la méthode FDTD. Le calcul nécessite un maillage spatial du système d'exposition et prend en compte les propriétés physiques de l'échantillon biologique telles que la permittivité relative et la conductivité électrique. La structure géométrique modélisée numériquement (figure III.7) est composée du câble coaxial ouvert, de la cuvette contenant la suspension biologique, et la partie interne du holder (principalement métallique). La géométrie est discrétisée avec un maillage uniforme $0,2 \times 0,2$

x 0,2 mm. Une excitation EM localisée d'impédance interne 50Ω est placée à l'entrée du câble coaxial. Le signal délivrée est une gaussienne modulée avec une sinusoïde de fréquence 2.45 GHz.

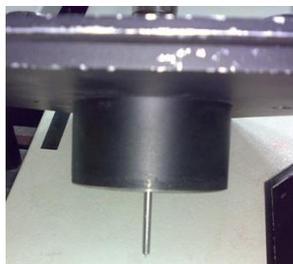
La méthode FDTD permet de calculer les valeurs des champs EM dans la cuvette exposée aux MW. En outre, elle nous donne le débit d'absorption spécifique (DAS) qui est une unité couramment utilisée dans les études de bioélectromagnétiques.

Dans notre étude, les propriétés électromagnétiques considérées pour le milieu biologique sont la permittivité diélectrique $\epsilon_r = 74$, la conductivité électrique $\sigma = 2,85 \text{ S / m}$ et la masse volumique $\rho = 1000 \text{ kg/m}^3$, mesurées à la température ambiante à la fréquence 2,45 GHz.

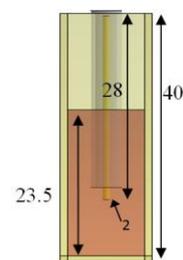
III.3.2. Adaptation d'impédance

L'adaptation en impédance de ce système peut être réalisée en utilisant deux éléments : l'antenne coaxiale et l'adaptateur d'impédance. L'antenne coaxiale a été initialement conçue pour permettre une adaptation grossière sur une bande plus large autour de la fréquence de travail. Les conditions d'exposition comme par exemple la température peuvent influencer les paramètres électromagnétiques (permittivité/conductivité) du milieu biologique et par conséquent l'adaptation du système. Pour cette raison, un adaptateur d'impédance est inséré dans le système afin de réaliser une adaptation plus fine et fonction des conditions d'exposition spécifiques.

La première étape consiste à modéliser l'applicateur dont les dimensions détaillées en mm sont présentées dans la figure III.7.



a)



b)

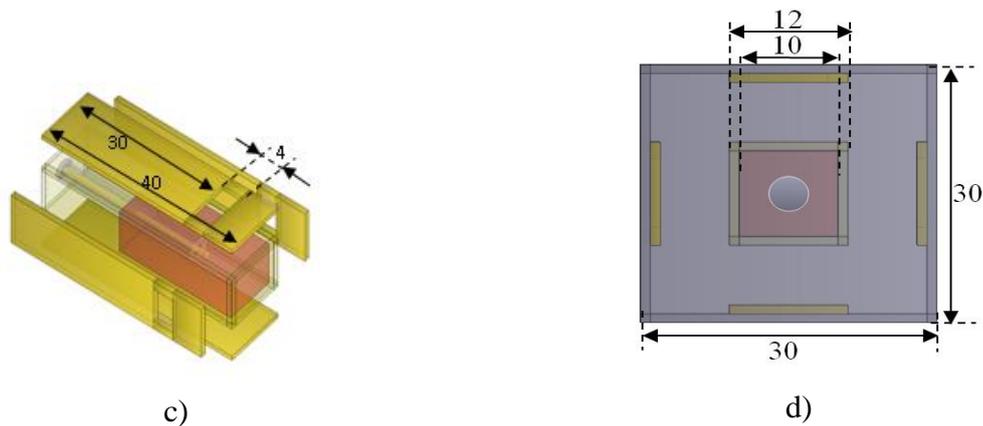


Figure III.7 : Applicateur étudié : a) image de l'antenne coaxiale b) la cuvette et l'antenne coaxiale modélisées, c) la cuvette et l'antenne coaxiale avec le holder modélisé vue latérale, d) la cuvette et l'antenne coaxiale avec le holder modélisé vue de dessus (Dimensions en mm)

L'un des paramètres classiques de la caractérisation d'une structure en HF est le module du coefficient de réflexion $|S_{11}|$ qui traduit la part de l'énergie réfléchi par le système par rapport à celle acceptée par ce dernier. Il est ici exprimé en dB, ce qui signifie que plus le module de S_{11} est faible (ou grand en valeur absolue), meilleure est l'adaptation. La figure III.8 montre le module de S_{11} en fonction de la fréquence.

Comme attendu précédemment, l'adaptation n'est pas optimale pour les dimensions l'antenne coaxiale dont la longueur initiale est égale à 30 mm. Dans ce cas, il est donc conseillé d'utiliser l'adaptateur d'impédance pour optimiser le pourcentage de puissance transmise et l'efficacité du dispositif d'exposition.

Afin d'obtenir une impédance équivalente égale à 50Ω sur une bande autour de la fréquence 2.45 GHz, une étude paramétrique sur la longueur de l'antenne coaxiale a été ensuite effectuée.

Le module du coefficient de réflexion de l'antenne avec les dimensions initiales (30 mm) égal à -4.4 dB à la fréquence 2.68 GHz. Ce minimum n'est pas centré à la fréquence de travail 2.45 GHz et sa valeur correspond à 36 % de réflexion. Dans ce cas l'adaptation est faite à l'aide de l'adaptateur d'impédance.

Nous avons proposé d'améliorer l'adaptation en modifiant la dimension de l'antenne. Après avoir modifié les dimensions de l'antenne, le module de S_{11} présente un minimum égal à -21 dB à la fréquence 2.45 GHz (figure III.8). Cette valeur correspond à moins de 1 % de la puissance réfléchi. Enfin, la courbe montre que le système est correctement adapté

($|S_{11}| < -10$ dB) sur la bande [1.89 – 2.65] GHz. La valeur -10 dB correspond à 10 % de réflexion. La longueur totale du conducteur central du câble coaxial est de 33.2 mm. La longueur de la partie dénudée et enfoncée dans la solution biologique n'a pas été changée.

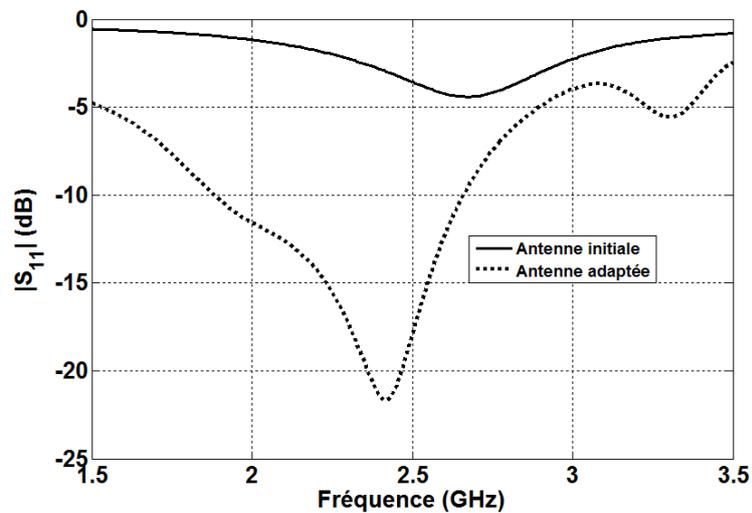


Figure III.8: Module de coefficient de réflexion de l'appicateur (cuvette et antenne coaxiale)

III.3.3. Distribution du SAR

La distribution SAR calculée avec l'outil FDTD est présentée dans la figure III.9. La valeur SAR moyenne dans l'ensemble du volume est de 448 W/kg pour une puissance incidente égale à 1 W. Les valeurs de champ électromagnétique dans la suspension GUV sont plus élevées à proximité de l'antenne coaxiale. Comme la distribution SAR n'est pas homogène, un agitateur magnétique de dimensions 1 x 3 mm recouvert de PTFE (Cole-Parmer, Amex, Autriche) est utilisé pour homogénéiser la température dans le milieu biologique. Pendant l'exposition, la puissance incidente MW livrée à l'échantillon biologique est égale à 1,2 W. Pour cette puissance la valeur du DAS moyen est de 538 W/kg pour l'ensemble du volume.

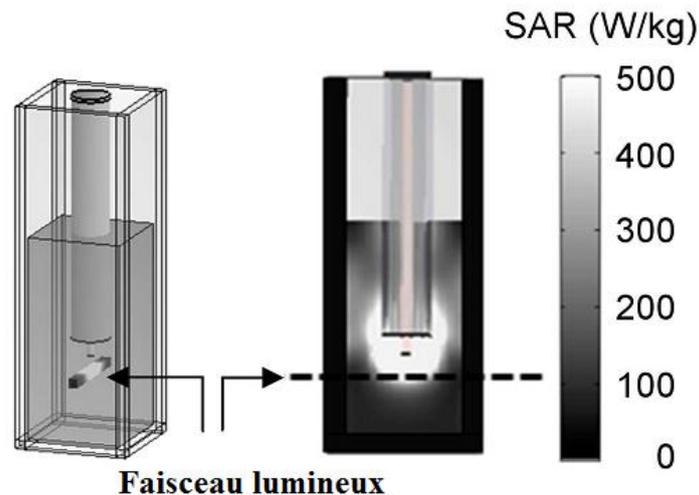


Figure III.9: Distribution du SAR dans le milieu biologique placé dans la cuvette

La figure III.10 présente la répartition de SAR dans la région où les faisceaux lumineux traversent la suspension GUV. La valeur du SAR présente une variation avec un maximum placé dans le centre de la cuvette près de l'antenne coaxiale. Toutefois, la valeur moyenne le long des faisceaux lumineux (534 W / kg pour 1,2 W de puissance incidente) est similaire à celle obtenue pour l'ensemble du volume.

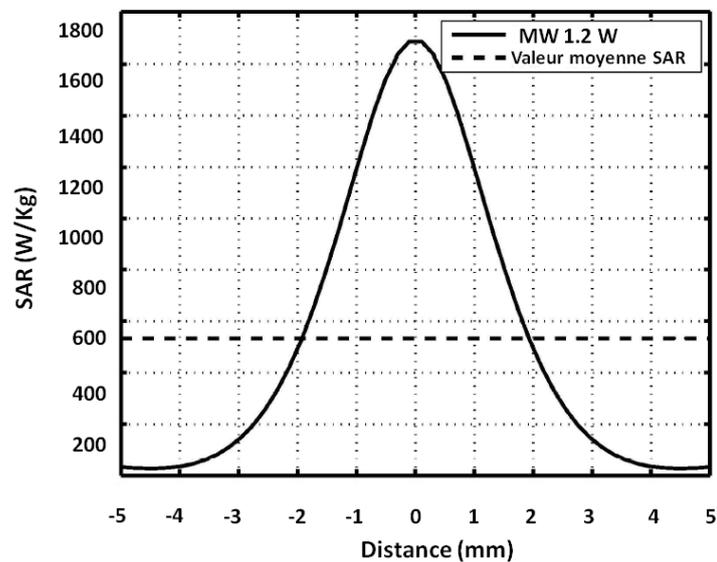


Figure III.10: Distribution du SAR le long du faisceau de lumière à travers la cuvette à 2,45 GHz à 1,2 W de puissance incidente

III.4. Mesure de température

Pendant l'exposition, les mesures de température sont enregistrées à l'aide de la sonde Luxtron dans la solution biologique à proximité de l'antenne coaxiale. Comme le montre la figure III.11, la température atteint 40 ° C en 600 s (la température initiale est de 15° C).

La valeur moyenne du SAR peut être également calculée en utilisant la formule :

$$C \frac{\Delta T}{\Delta t},$$

où C représente la chaleur spécifique du milieu biologique et elle vaut 4187 W/kg /K, $\frac{\Delta T}{\Delta t}$ correspond à la pente initiale de la température en fonction du temps.

La valeur moyenne du SAR obtenue est égale à 537 W / kg pour une puissance incidente de 1,2 W. Cette valeur est très proche de celle obtenue à partir du champ électrique (534 W/kg)

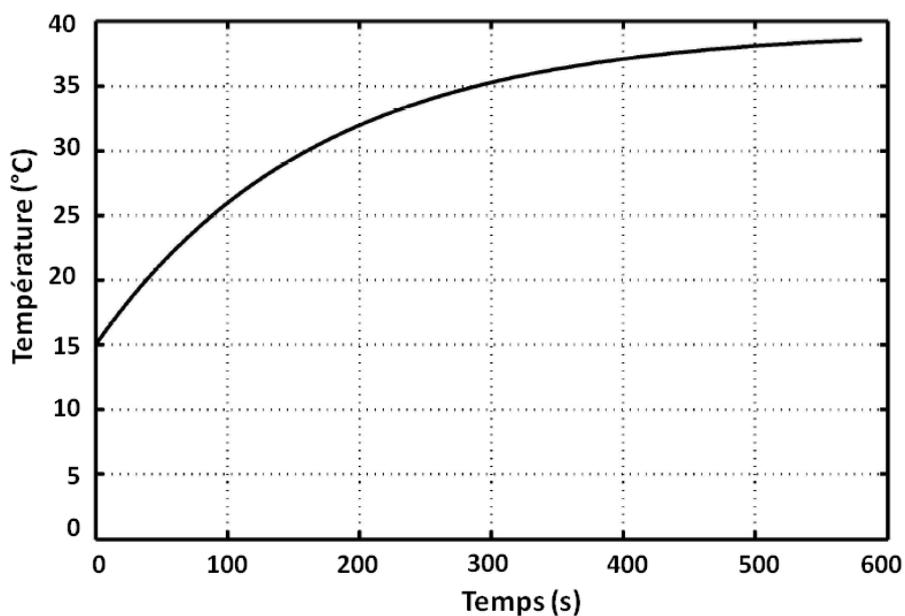


Figure III.11 : Température mesurée dans la solution en fonction du temps pour une puissance 1.2 W

III.5. Mesures de polarisation membranaire généralisée

A titre d'illustration, des mesures de fluorescence effectuées avec ce système d'exposition sont présentée dans cette partie.

La polarisation généralisée de la membrane (generalized polarization en anglais - GP) est un paramètre qui représente la présence de petites molécules mobiles polarisables (comme l'eau par exemple) dans une membrane biologique. Le GP peut être mesuré par des techniques de fluorescence, en utilisant un colorant spécifique « Laurdan ». Les molécules dipolaires réagissent avec le Laurdan avec un moment dipolaire élevé en modifiant son spectre d'émission vers les basses énergies où les longueurs d'onde sont plus élevées car une partie de l'énergie d'excitation est dissipée dans le processus de réorientation des dipôles. L'intensité de fluorescence du Laurdan est mesurée à deux longueurs d'ondes spécifiques ($\lambda_1=437$ nm et $\lambda_2=485$ nm), appelées respectivement I_B et I_R . La valeur numérique de GP est donnée par la l'équation III.2:

$$GP = \frac{I_B - I_R}{I_B + I_R}$$

Équation III-2

Si la membrane est déstabilisée par un facteur externe, comme par exemple l'exposition aux micro-ondes, les molécules d'eau pénètrent dans la bicouche lipidique de la membrane, et les valeurs de GP deviennent plus petites. Dans nos expériences, les valeurs de GP sont mesurées en temps réel lors de l'exposition aux MW.

La figure III.12 montre l'évolution de la polarisation généralisée (GP) mesurée pour une exposition à une onde MW de puissance incidente égale à 1.2 W. La courbe présente une variation des valeurs GP normale lorsque la température varie de 15 ° C à 40 ° C.

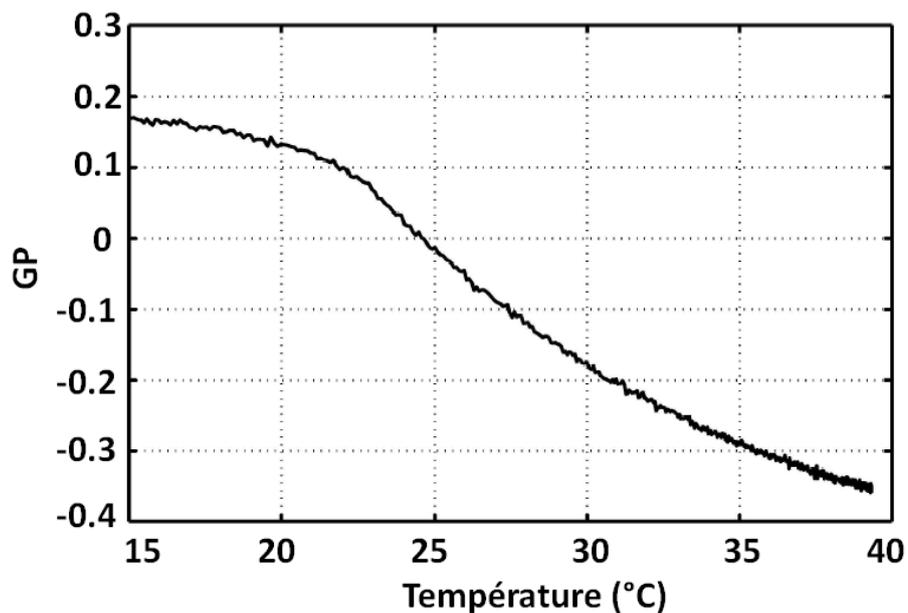


Figure III.12: Polarisation générale de la suspension GUV chauffée par une puissance incidente 1,2 W

Ce système permet d'obtenir l'évolution GP fonction de la température. Dans les expériences proposées, l'augmentation de la température est induite par l'exposition MW. Pour une élévation de température obtenue avec un chauffage classique, la variation mesurée GP était légèrement différente de celle obtenue avec une exposition aux MW. Cependant, à cause de l'inhomogénéité du champ électromagnétique, il semble difficile de préciser si la variation GP est induite seulement par l'augmentation de la température ou également par l'exposition au champ électromagnétique. Pour déterminer les effets possibles des signaux MW sur la polarisation généralisée, des expériences complémentaires devraient être réalisées à une température constante avec un signal MW modulé qui n'induit pas de chauffage complémentaire.

III.6. Conclusion

Dans cette partie, la caractérisation rigoureuse du système d'exposition basé sur une antenne coaxiale dans une cuvette biologique pour des mesures de fluorescence a été présentée. Une dosimétrie précise et détaillée de l'applicateur a été effectuée. Avec ce système, des mesures de fluorescence GP de suspension GUV ont été acquise pendant l'exposition aux MW. Pour résumer, l'applicateur étudié permet des études

bioélectromagnétiques pour faire des mesures de fluorescence et de la température en temps réel lors de l'exposition à micro-ondes aux milieux biologiques.

Par ailleurs, ce système utilise un applicateur type cuvette de même type que celui étudié par la suite lorsque les signaux appliqués sont des nanopulses. La manière d'injecter les signaux est différente de celle classiquement utilisée pour les nanopulses (voir sous-chapitre IV). Cependant, il peut être possible d'envisager cette technique pour une application localisée sur un nombre faible de cellules comme les techniques de type patch-clamp utilisée dans [4].

IV. CUVETTE BIOLOGIQUE AVEC DES ÉLECTRODES

IV.1. Introduction

Cette partie est consacrée à l'étude d'un applicateur qui est la cuvette avec des électrodes en contact avec la solution (figure III.13). La cuvette étudiée est une cuvette biologique standard de plexiglass avec deux électrodes métalliques parallèles entre lesquelles peut être placé l'échantillon biologique. Ce type de cuvette contient les cellules dans leur milieu de culture et présente l'avantage de permettre l'exposition d'une population grande de cellules.



Figure III.13: Cuvette biologique avec deux électrodes

Cette partie de l'étude est composé de deux étapes :

- Une première qui consiste à faire la caractérisation EM fréquentielle de la cuvette contenant des solutions ioniques présentant des propriétés semblables aux échantillons biologiques. Dans cette étape, l'impédance, la distribution du champ électrique, le diagramme de rayonnement du système d'exposition et le SAR dans la solution biologique sont présentés.
- Une deuxième étape consiste à faire une caractérisation temporelle du système d'exposition afin d'étudier la réponse de la cuvette lorsque des impulsions de différentes formes et durées. Des mesures avec des basses et hautes tensions sont également illustrées.

Ces deux étapes s'appuient sur la théorie, la simulation et sont validées par les mesures. L'objectif de cette étude est d'arriver à comprendre le comportement de la cuvette et de déterminer ses limites de fonctionnement. Ceci nous permettra d'en déduire quel est le type d'impulsions pour lesquelles la cuvette est mieux adaptée.

IV.2. Caractérisation fréquentielle

IV.2.1. Impédance théorique de la cuvette

Pour trouver le modèle théorique statique (valable aux basses fréquences) de l'impédance de la cuvette, le point de départ est donné par l'équation III.3 qui relie la densité surfacique du courant au champ électrique (Tableau III.1):

$$\vec{J} = (\sigma + j\omega\varepsilon_0\varepsilon_r) \times \vec{E} \quad \text{Équation III-3}$$

où :

- J = densité surfacique du courant (A/m²)
- σ = conductivité électrique de la solution placée entre les électrodes de la cuvette (S/m).
- ε_0 = permittivité du vide ($8,854 \times 10^{-12} \text{ m}^{-3} \text{ kg}^{-1} \text{ s}^4 \text{ A}^2$).
- ε_r = permittivité relative complexe de la solution placée entre les électrodes de la cuvette
- ω = pulsation (rad/s), ($\omega=2\pi f$ avec f est la fréquence)
- \vec{E} est le champ électrique appliqué entre les électrodes de la cuvette (V/m)

En intégrant la densité du courant sur la surface des électrodes, nous obtenons le courant électrique total (Equation III.4):

$$I = (\sigma + j\omega\varepsilon_0\varepsilon_r) \times E \times S \quad \text{Équation III-4}$$

où : S = la surface des électrodes

Or le champ électrique est égal à $E = \frac{V}{d}$ où V et d représentent, respectivement, la tension appliquée et la distance entre les électrodes.

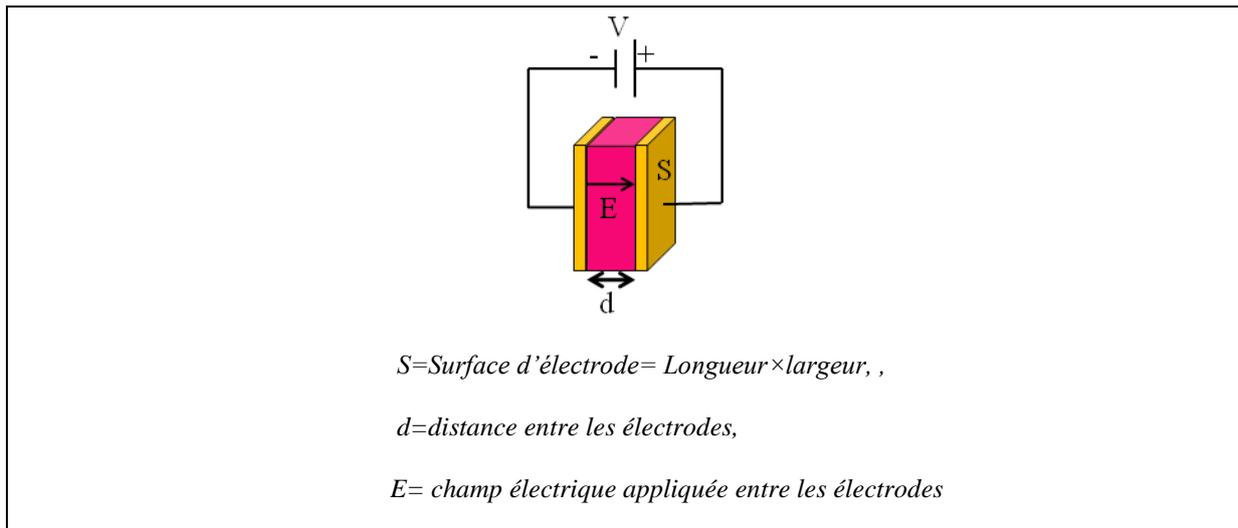


Tableau III.1 : Schéma des électrodes soumises à une tension appliquée

L'équation III.5 du courant électrique devient ainsi :

$$I = (\sigma + j\omega\varepsilon_0\varepsilon_r) \times \frac{V}{d} \times S \quad \text{Équation III-5}$$

L'impédance théorique de la cuvette qui est donnée par le rapport de la tension sur le courant sera donc :

$$Z = \frac{V}{I} = \frac{d}{S(\sigma + j\omega\varepsilon_0\varepsilon_r)} \quad \text{Équation III-6}$$

L'impédance de la cuvette (équation III.6) dépend ainsi des dimensions géométriques de la cuvette et des propriétés électromagnétiques, à savoir la conductivité électrique et la permittivité relative de la solution qu'elle contient.

IV.2.2. Etude paramétrique de la l'impédance

Après avoir déterminé l'impédance théorique de la cuvette, nous présenterons dans la suite l'étude de l'influence des différents paramètres géométriques (d , S) et électromagnétiques (σ , ε_r) sur son comportement fréquentiel.

Les paramètres correspondant à la configuration utilisée par défaut sont : la distance inter-électrodes $d = 4$ mm, la surface des électrodes $S = 2.1 \text{ cm} \times 1.2 \text{ cm}$ (2.52 cm^2), la conductivité électrique $\sigma = 0.31 \text{ S/m}$. La permittivité relative est égale à 80. Comme il sera montré par la suite, cette configuration permet d'obtenir une impédance égale à 50Ω en basse fréquence, ce qui est particulièrement utile pour nos études. A chaque fois, un seul paramètre varie et les autres sont fixés aux valeurs par défaut.

IV.2.2.1. Influence de la distance inter-électrodes

La majorité des cuvettes commerciales possèdent un écartement inter-électrode constant et connu pour pouvoir y introduire le milieu. Selon le type de cuvettes utilisées, les espaces inter-électrodes les plus courants sont de 1, 2 ou 4 mm. L'intérêt de réduire la distance entre les électrodes est motivé par la possibilité d'atteindre des niveaux de champs électriques plus grands lors de l'exposition.

La figure III.14 montre les parties réelle et imaginaire de l'impédance théorique de la cuvette pour les différentes distances inter-électrodes citées précédemment. Une échelle semi-logarithmique est utilisée pour mettre en évidence le comportement de l'impédance sur une large bande de fréquences avec un zoom particulier sur la partie basse fréquence.

Les résultats montrent que pour les trois cas, aux basses fréquences les parties réelle et imaginaire possèdent un comportement résistif. La partie réelle est constante et la partie imaginaire est nulle jusqu'à une fréquence autour de 20 MHz. La valeur de la distance entre les électrodes influe sur la valeur de la partie résistive de l'impédance aux basses fréquences. Un rapport de proportionnalité est obtenu entre les valeurs de l'écartement entre les électrodes et les valeurs de la partie réelle correspondante : pour $d = 1$ mm, $\text{Re}(Z) = 12.5 \Omega$, pour $d = 2$ mm, $\text{Re}(Z) = 25 \Omega$ et pour $d = 4$ mm, $\text{Re}(Z) = 50 \Omega$.

Lorsque la fréquence augmente, pour les trois cas étudiés, la partie réelle commence à décroître et la partie imaginaire n'est plus nulle.

Aux hautes fréquences (à partir de 3GHz), les parties réelle et imaginaire de l'impédance deviennent très faibles. A cette zone de fréquence, le modèle théorique n'est plus valide.

Pour résumer, la distance entre les électrodes influe sur la valeur de la partie résistive aux basses fréquences et l'impédance varie proportionnellement avec d . Pour cette configuration, en choisissant une valeur particulière de d , une impédance 50Ω aux BF peut être obtenue.

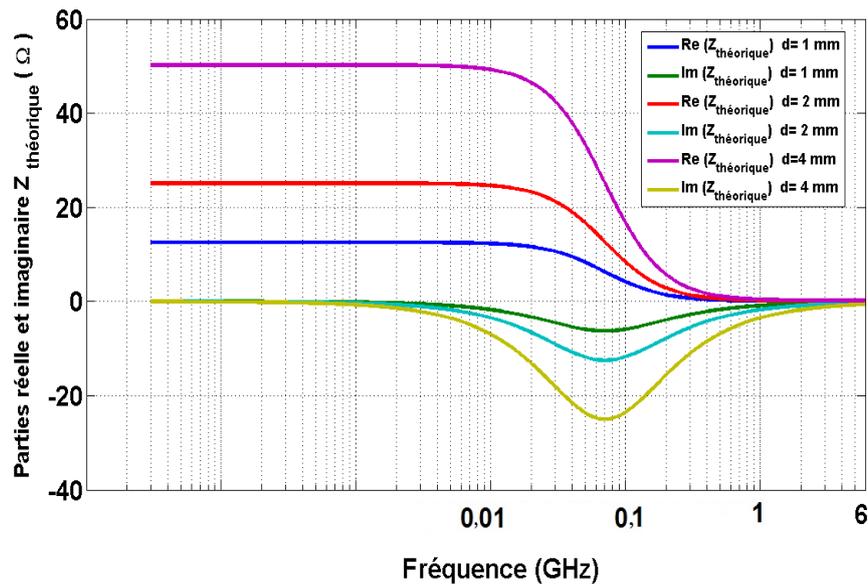


Figure III.14 : Impédance théorique de la cuvette pour différentes valeurs de distance entre les électrodes

IV.2.2.1. Influence de la surface des électrodes

La figure III.15 montre les parties réelle et imaginaire de l'impédance théorique de la cuvette pour différentes valeurs de surface d'électrodes. Les résultats montrent que pour les trois cas, aux BF l'impédance possède un comportement résistif (partie réelle constante et la partie imaginaire est nulle jusqu'à une fréquence de 20 MHz). La surface des électrodes influe sur la valeur de la partie résistive de l'impédance aux BF. La surface des électrodes et la partie réelle correspondante sont inversement proportionnelles. Nous avons varié la taille de la surface en changeant la longueur ou la largeur des électrodes. Pour $S = 1.05 \times 0.6 \text{ cm}^2$, la partie réelle est égale à $200 \text{ } \Omega$, pour $S = 2.1 \times 0.6 \text{ cm}^2$, elle vaut $100 \text{ } \Omega$ et pour $2.1 \times 1.2 \text{ cm}^2$, elle vaut $50 \text{ } \Omega$. De même que la distance entre les électrodes, la surface des électrodes n'influe pas sur la transition entre les comportements BF et HF.

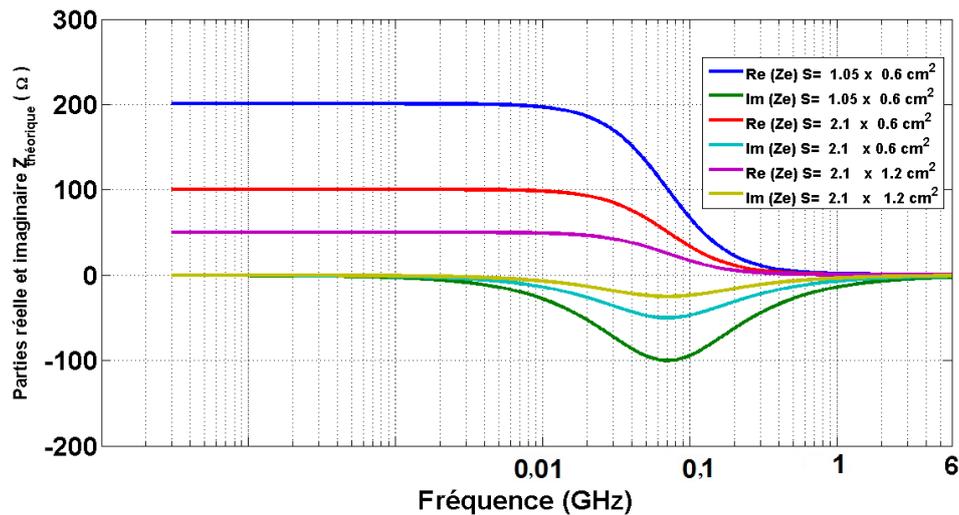


Figure III.15 : Impédance théorique de la cuvette pour différentes valeurs de surface d'électrodes

IV.2.2.2. Influence de la conductivité électrique

La figure III.16 montre les parties réelle et imaginaire de l'impédance théorique de la cuvette pour trois valeurs de conductivité électrique : 0.31 S/m, 1 S/m et 1.5 S/m. Les autres paramètres sont fixés aux valeurs par défaut données précédemment.

Lors de l'étude de l'influence de la valeur de la conductivité sur l'évolution de l'impédance de la cuvette deux effets principaux se dégagent:

- Tout d'abord, la valeur de la partie réelle de l'impédance aux basses fréquences change de manière inversement proportionnelle à la valeur de la conductivité électrique. Ainsi, lorsque la conductivité augmente, la partie réelle diminue. Pour les trois valeurs de conductivités considérés, la partie réelle est respectivement égale à 50 Ω, 15.8 Ω et 10 Ω. A noter que l'utilisation de solutions plus conductrices (> 1 S/m) est préférée pour des expériences biologiques. En effet, ces types de solutions permettent un meilleur entretien du bien-être des cellules et le traitement, basé sur des protocoles standards, des cultures cellulaires est plus facile.
- Ensuite, plus la valeur de la conductivité est grande, plus le comportement résistif pur est prolongé vers des fréquences plus hautes. Ceci est dû au fait que la conductivité équivalente varie avec la fréquence. Ce comportement est

retrouvé sur l'évolution de la fréquence de transition (Equation II.25) qui est proportionnelle à la valeur de la conductivité. Pour la solution de conductivité 0.31 S/m, la fréquence de transition est égale à 70 MHz. Pour la solution de conductivité cinq fois supérieure à la précédente (1.5 S/m), la fréquence de transition est égale à 351 MHz (également cinq fois supérieure).

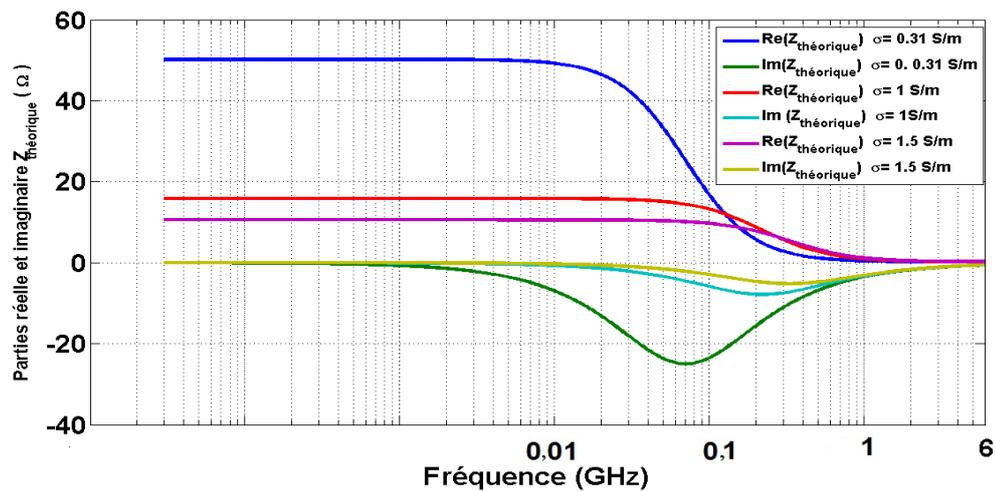


Figure III.16 : Impédance théorique de la cuvette pour différentes valeurs de conductivité électrique

IV.2.2.3. Conclusion

Pour résumer cette partie, l'impédance théorique de la cuvette dépend des dimensions géométriques et des propriétés électromagnétiques de la solution contenue dans la cuvette. Le modèle proposé révèle un caractère résistif de l'impédance de la cuvette en BF (partie réelle constante et partie imaginaire nulle). La valeur de la partie résistive de l'impédance varie de manière :

- proportionnelle avec la distance inter-électrodes,
- inversement proportionnelle avec la surfaces des électrodes,
- proportionnelle avec la valeur de la conductivité

De plus, le comportement résistif se prolonge vers les hautes fréquences de manière proportionnelle avec la valeur de la conductivité.

IV.2.3. Impédance mesurée de l'ensemble câble-cuvette

Après avoir étudié l'impédance théorique de la cuvette, nous présentons dans cette partie l'évolution de l'impédance mesurée. Le dispositif expérimental (figure III.17) est constitué d'un analyseur de réseau vectoriel VNA calibré (plan de calibration au niveau de la sortie du VNA), d'un morceau de câble coaxial 50 Ω de longueur environ 10 cm dont l'âme et la tresse extérieure sont mis en contact direct par pression mécanique avec les électrodes de la cuvette placée dans un support en plastic.

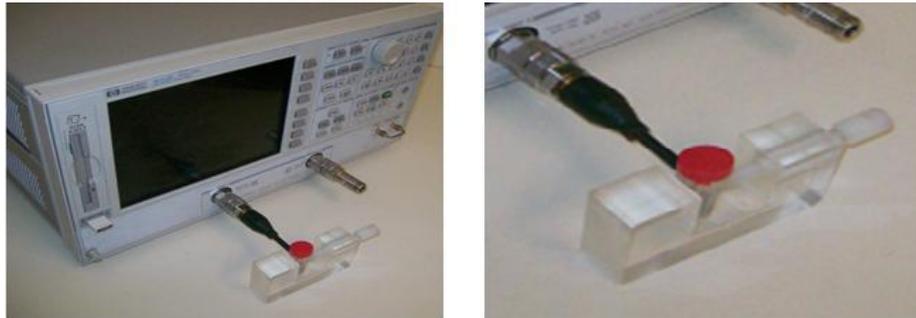


Figure III.17 : Cuvette et mesure à l'analyseur de réseau vectoriel.

Les mesures concernent le coefficient de réflexion de l'ensemble câble-cuvette (801 points de mesures répartis logarithmiquement entre 30 kHz et 6 GHz sont utilisés). La calibration a été faite au plan de l'entrée de l'ensemble câble-cuvette.

Cinq configurations différentes sont étudiées selon la charge placée à l'extrémité du câble coaxial:

- Circuit ouvert (sans cuvette)
- Court-circuit (sans cuvette)
- Cuvette vide (la cuvette ne contient pas de solution)
- Cuvette contenant une solution de NaCl de concentration 20 mM ($\sigma = 0.2$ S/m)
- Cuvette contenant une solution de NaCl de concentration 150 mM ($\sigma = 1.13$ S/m)

La figure III.18 montre les modules des coefficients de réflexion mesurés à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette pour les cinq mesures effectuées. Les courbes obtenues montrent que le module du coefficient de réflexion est constant aux BF. Il vaut 0 dB (1 en linéaire) pour

les cas de cuvette vide, câble ouvert et court circuit. Ces résultats sont compatibles avec la théorie car aux basses fréquences le câble de transmission est transparent et le coefficient de réflexion est alors directement défini par la charge placée à son extrémité. La cuvette vide forme une capacité dont le diélectrique est l'air et elle présente un circuit ouvert aux BF. Aux hautes fréquences, le module du coefficient de réflexion n'est plus constant à cause de la désadaptation sachant que la calibration a été faite à l'entrée du câble de transmission. Les résultats pour la cuvette remplie de solution ainsi que la partie HF seront analysés par la suite en fonction de l'impédance.

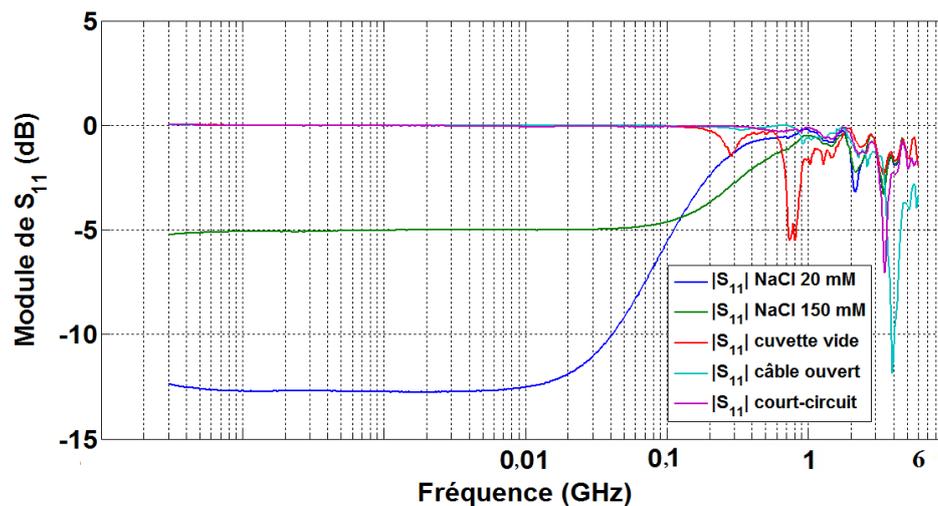


Figure III.18 : Module de coefficient de réflexion mesuré à l'entrée de l'ensemble câble cuvette pour les différentes configurations

L'impédance à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette qu'on appelle $Z_{\text{mesurée}}$ peut être déduite du coefficient de réflexion par l'équation III .7:

$$Z_{\text{mesurée}} = Z_c \frac{1 + |\Gamma|}{1 - |\Gamma|} \quad \text{Équation III-7}$$

où Z_c est l'impédance caractéristique du VNA égale à 50Ω et Γ est le coefficient de réflexion.

La figure III.19 montre le module de l'impédance mesurée en fonction de la fréquence pour les cinq mesures effectuées.

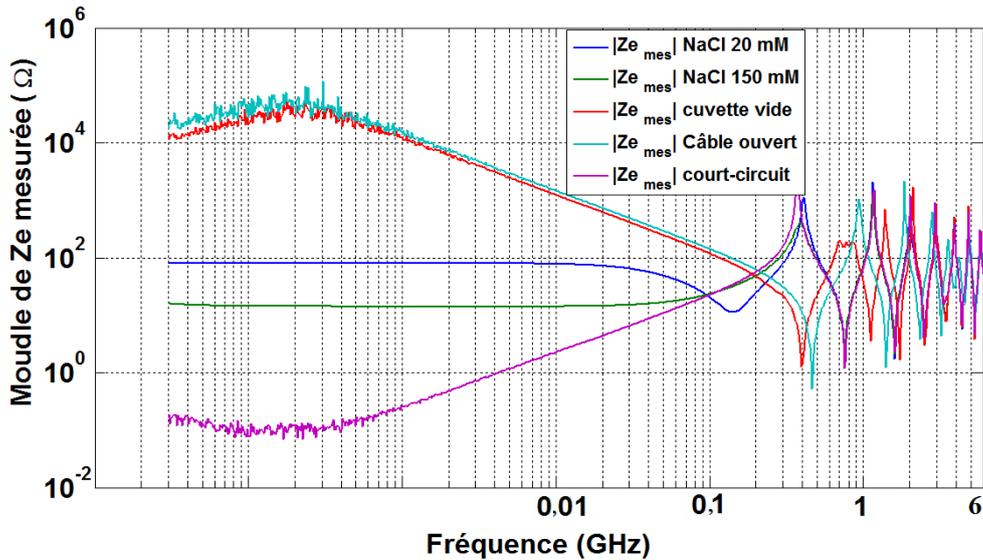


Figure III.19 : Impédance mesurée à l'entrée de l'ensemble câble cuvette

Pour la cuvette remplie avec les solutions NaCl 20 mM et NaCl 150 mM, l'impédance présente un module presque constant de 80 Ω et de 14 Ω, respectivement, jusqu'à environ 20MHz. Ces valeurs sont compatibles avec le modèle BF théorique décrit dans la partie précédente.

$$Z_{cuvette} = \frac{d}{S \times \sigma} \quad \text{Équation III-8}$$

Avec cette formule et pour la cuvette utilisée ($d = 4 \text{ mm}$, $S = 2.1 \text{ cm} \times 1.2 \text{ cm}$) l'impédance BF est égale à $Z_{NaCl20mM} = 79.36\Omega$ pour $\sigma_{NaCl20mM} = 0.2 \text{ S/m}$. Pour une conductivité électrique $\sigma_{NaCl150mM} = 1.13 \text{ S/m}$, l'impédance est $Z_{NaCl150mM} = 14\Omega$.

Pour les fréquences supérieures à quelques GHz, les impédances correspondant aux cas NaCl 20 mM et NaCl 150 mM et câble en court-circuit sont quasiment identiques. Dans cette gamme de fréquence, c'est donc le câble de transmission qui détermine principalement l'impédance de l'ensemble « câble-cuvette ».

Comme montré précédemment, la permittivité équivalente ($\epsilon_r - j\sigma/\epsilon_0\omega$) permet de mettre en évidence une fréquence caractéristique (fréquence de transition) du comportement EM lorsque les parties réelles et imaginaires sont égales. La fréquence de transition est égale à 50 MHz et 300 MHz, respectivement, pour les deux milieux de conductivités 0.2 S/m et 1.13 S/m. En dessous de ces fréquences, les parties réelles sont constantes illustrant le comportement résistif du dispositif. Au delà, l'aspect diélectrique du milieu devient prédominant avec une diminution de la résistivité du milieu. Enfin, plus haut en fréquence,

apparaissent des phénomènes de résonance liés aux caractéristiques géométriques du dispositif constitué de la cuvette remplie de solution et du câble de transmission.

Les figures III.20 et III.21 montrent le module de l'impédance mesurée pour les cas cuvette à vide et câble ouvert.

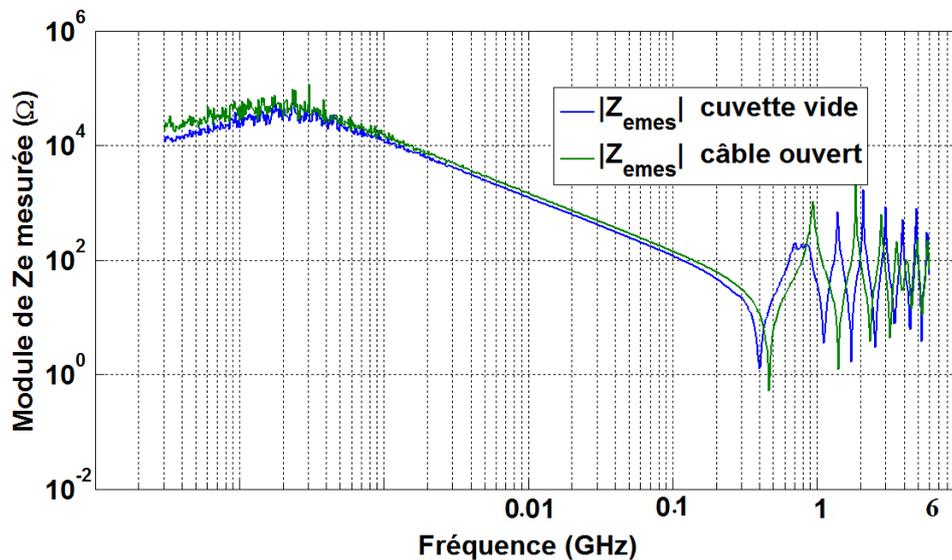


Figure III.20: Impédance mesurée à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette à vide et câble ouvert

Les valeurs de l'impédance « cuvette vide » et « câble ouvert » sont très semblables. Aux BF, elles montrent des valeurs fortes correspondant à un circuit ouvert. Pour les fréquences inférieures à 500 kHz, une dispersion importante due au câble de transmission est observée.

Aux HF, nous constatons une légère différence des fréquences de résonance due au changement des dimensions de la structure complète lorsque la cuvette est reliée au câble.

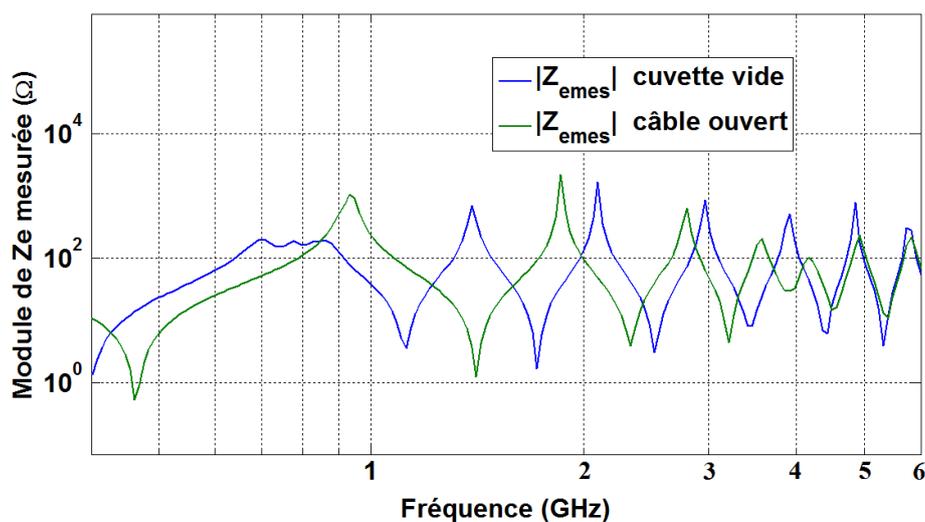


Figure III.21 : Zoom de la partie haute fréquence de l'impédance mesurée à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette à vide et câble ouvert

Pour connaître plus précisément l'impédance de la cuvette et son comportement sur toute la gamme de fréquence 30 kHz - 6 GHz, le câble de connexion sera pris en compte comme illustré dans la partie suivante.

IV.2.4. Modélisation de l'impédance de l'ensemble « câble-cuvette »

Il est possible de modéliser l'impédance de l'ensemble « câble-cuvette » comme une ligne de transmission (câble) terminée par une impédance (impédance de la cuvette) :

$$Z_e = Z_c \frac{Z_l + jZ_c \tan(\beta l)}{Z_c + jZ_l \tan(\beta l)} \quad \text{Équation III-9}$$

où Z_c est l'impédance caractéristique du câble de connexion égale à 50Ω , Z_l est l'impédance de charge correspondant à la cuvette, l est la longueur du câble de connexion et β est le nombre d'onde dans le câble.

Or $\beta = \frac{2\pi}{\lambda_g}$, où λ_g est la longueur d'onde guidée dans le câble définie par : $\lambda_g = \frac{c}{f\sqrt{\epsilon_r}}$,

Le coefficient k est défini ensuite par $k = \frac{2\pi l \sqrt{\epsilon_r}}{c}$ où f est la fréquence, ϵ_r est la permittivité relative du diélectrique du câble de connexion et c est la célérité (la vitesse de la lumière dans le vide).

L'impédance peut s'écrire alors :

$$Z_e = Z_c \frac{Z_l + jZ_c \tan(kf)}{Z_c + jZ_l \tan(kf)} \quad \text{Équation III-10}$$

Le coefficient k peut être déterminé à partir de l'équation III.10:

$$k = \frac{1}{f} \tan\left(\frac{Z_c(Z_l - Z_e)}{j(Z_e Z_l - Z_c^2)}\right) \quad \text{Équation III-11}$$

Le coefficient k est calculé avec la formule précédente à partir de l'impédance d'entrée obtenue par mesure pour deux cas : cuvette à vide et câble en court-circuit (figure III.22). Aux fréquences inférieures à 1 MHz, le coefficient ainsi déterminé n'est pas constant. La longueur d'onde dans le câble étant très grande, la détermination de k n'est pas très précise. Aux

fréquences supérieures à 300 MHz, le coefficient n'est pas constant non plus et ceci est dû au fait que le court-circuit et le circuit ouvert considérés ne sont pas parfaits. Entre 10 MHz et 100 MHz, le coefficient k est quasiment constant et peut être estimé à $k = 4.10^{-9}$. (Ces mesures et calculs ont été faits avec un câble de transmission de longueur environ à $l=10\text{cm}$ et $\epsilon_r = 4$ pour le diélectrique du câble).

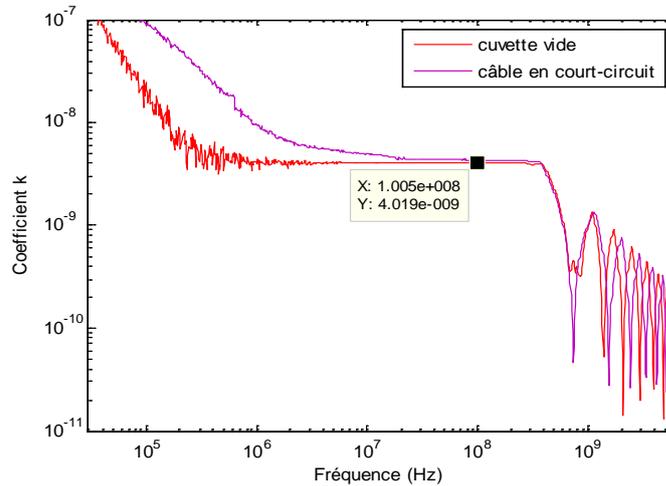


Figure III.22 : Coefficient k obtenu par mesures

IV.2.5. Comparaison théorie mesure

Nous pouvons donc calculer l'impédance de l'ensemble câble-cuvette par théorie et par mesure. L'impédance théorique de la cuvette seule s'exprime avec l'équation III.6 et nous pouvons déterminer son impédance mesurée à partir de l'impédance mesurée à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette :

$$Z_{cuvette\text{mesurée}} = Z_c \frac{Z_{emesurée} - jZ_c \tan(\beta l)}{Z_c - jZ_{emesurée} \tan(\beta l)} \quad \text{Équation III-12}$$

Le tableau III.2 montre un récapitulatif des équations des impédances obtenues par théorie et mesure :

Théorie	Mesure
$Z_e = Z_c \frac{Z_l + jZ_c \tan(\beta l)}{Z_c + jZ_l \tan(\beta l)}$	$Z_{emesurée} = Z_c \frac{1 + \Gamma }{1 - \Gamma }$

$Z_{cuvette} = \frac{d}{S(\sigma + j\omega\epsilon_0\epsilon_r)}$	$Z_{cuvette} = Z_c \frac{Z_{emesurée} - jZ_c \tan(\beta l)}{Z_c - jZ_{emesurée} \tan(\beta l)}$
---	---

Tableau III.2 : Impédance théorique et mesurée de l'ensemble câble-cuvette et de la cuvette seule

Afin de tester la validité du modèle de l'impédance de l'ensemble câble-cuvette, nous allons comparer l'impédance théorique de l'ensemble câble-cuvette à celle mesurée à l'aide de l'analyseur de réseau. La figure III.23 montre les parties réelles et imaginaires de l'impédance d'entrée de l'ensemble câble-cuvette par mesure et théorie pour une solution de conductivité 0.31 S/m (cette configuration de cuvette et milieu biologique est aussi appelée « solution adaptée » par rapport à l'adaptation 50 Ω BF qu'elle permet d'obtenir). Les résultats montrent que les valeurs de l'impédance obtenues par théorie et par mesure sont très semblables. Aux HF, les résonances apparaissent aux mêmes fréquences.

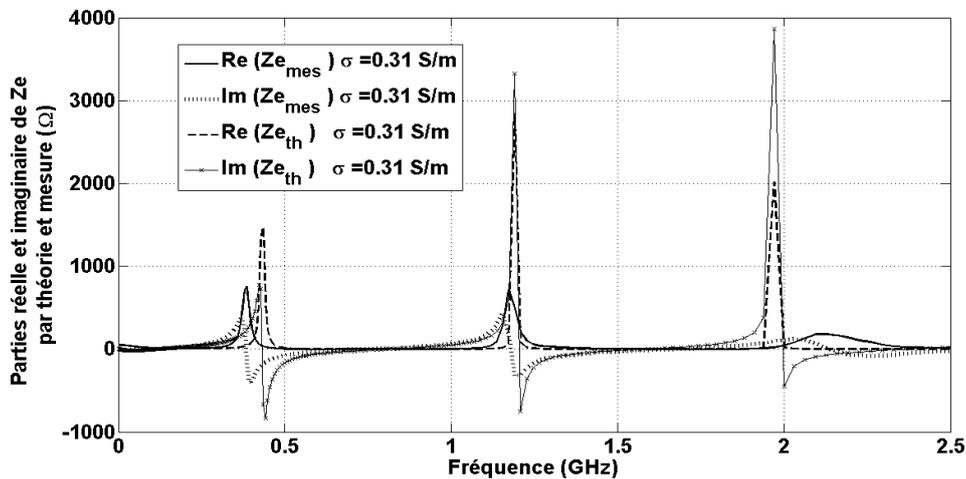


Figure III.23 : Impédance mesurée et théorique à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette avec une solution adaptée en échelle linéaire

Pour une meilleure illustration du comportement BF, l'impédance est représentée en échelle semi logarithmique dans la figure III.24. Nous remarquons que les parties résistives obtenues par théorie et par mesure sont similaires et elles sont égales à 50 Ω. Le modèle théorique utilisé permet donc de bien modéliser l'évolution de l'impédance mesurée.

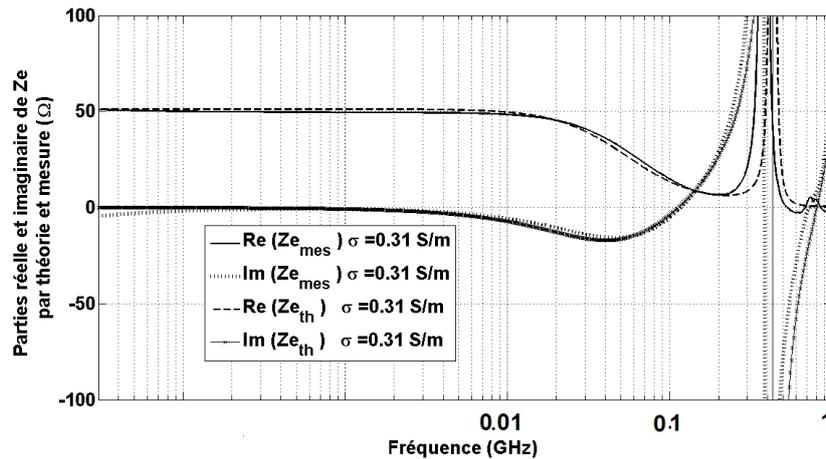


Figure III.24 : Impédance mesurée et théorique à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette pour une solution adaptée en échelle semi-logarithmique

Les résultats dans cette figure sont limités à la fréquence 1 GHz pour bien montrer le comportement BF.

IV.2.6. Identification des résonances

Pour identifier la position des résonances qui ont eu lieu aux hautes fréquences, nous avons comparé, sur la figure III.25, l'impédance mesurée de l'ensemble câble-cuvette avec celle de la cuvette seule. Pour l'impédance de l'ensemble câble-cuvette, des résonances apparaissent aux fréquences suivantes : 0.385 GHz, 1.19 GHz, 2.126 GHz et 2.885 GHz. L'impédance de la cuvette seule montre une résonance à la fréquence 2.885 GHz. La longueur

d'onde correspondante à cette fréquence est $\lambda = \frac{c}{\sqrt{\epsilon_r} \times f} = \frac{3 \times 10^8}{\sqrt{80} \times 2.885 \times 10^9} = 1.1$ cm. Cette

longueur d'onde correspond à la largeur de l'électrode de la cuvette. Nous en déduisons que la résonance de la fréquence 2.885 GHz est due à la cuvette alors que les autres résonances sont plutôt induites par le système global (câble-cuvette).

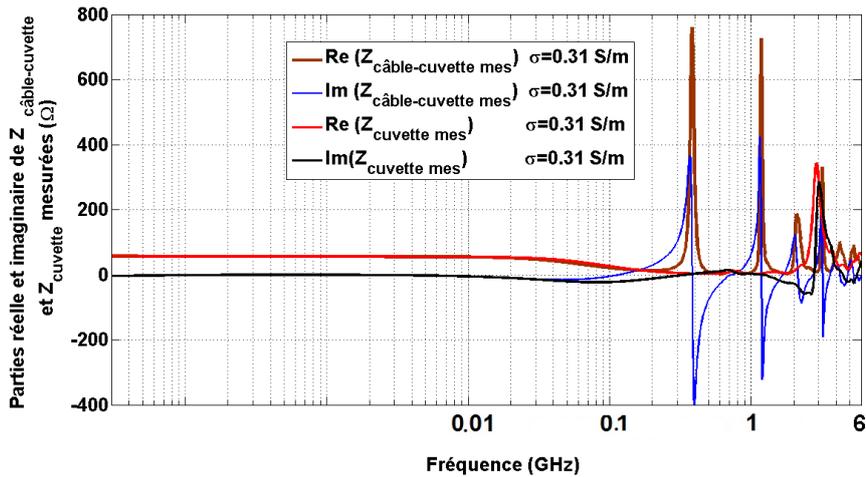


Figure III.25: Impédance mesurée à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette et impédance mesurée de la cuvette pour une solution adaptée

IV.2.7. Bande passante par mesure

La figure III.26 montre le module du coefficient de réflexion S_{11} (dB) mesuré à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette pour la configuration solution adaptée. A partir du module de $|S_{11}|$, la puissance transmise au dispositif (normalisée par rapport à la puissance incidente) est calculée avec l'équation suivante : $P_t/P_i = 1 - |S_{11}|^2$.

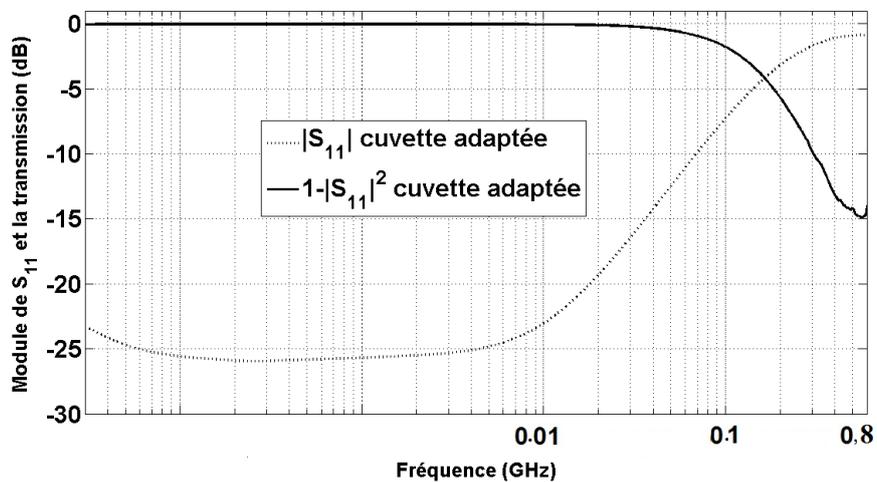


Figure III.26: Puissance réfléchie et puissance transmise de la cuvette pour une solution adaptée

Nous pouvons noter une très bonne adaptation en BF : le module de S_{11} est égal à -25 dB aux basses fréquences ($f < 10$ MHz) et le ratio puissance transmise/puissance incidente est très important aux BF. La bande passante de la cuvette à -10 dB est de 70 MHz. Lorsque la fréquence augmente (> 150 MHz), une forte remontée du module du coefficient de réflexion (> -5 dB) est constatée, le système n'est plus très bien adapté.

IV.2.8. Conclusion

Dans cette partie, une caractérisation fréquentielle théorique et expérimentale de l'impédance d'un applicateur type cuvette biologique a été proposée. L'impédance de la cuvette présente un comportement résistif constant en BF qui dépend des caractéristiques géométriques de la cuvette et des paramètres EM de la solution biologique qu'elle contient. Lorsque la fréquence augmente, le comportement résistif constant n'est plus conservé à cause de la variation avec la fréquence des propriétés électromagnétiques (conductivité, et permittivité) de la solution. Aux HF, des résonances apparaissent à des fréquences particulières qui sont associées aux caractéristiques géométriques de la cuvette et de l'ensemble câble de connectique-cuvette. De plus, l'analyse a permis d'investiguer la bande passante de la cuvette. Une bonne adaptation (< -10 dB) est ainsi obtenue pour des fréquences ≤ 70 MHz.

Il est donc possible d'ajuster les paramètres géométriques de la cuvette ainsi que la valeur de la conductivité électrique pour obtenir une impédance équivalente BF égale à 50Ω (avec les dimensions de la cuvette décrite précédemment, la conductivité est de 0.31 S/m). L'adaptation 50Ω et la bande passante de la cuvette sont particulièrement importantes lors du couplage avec les générateurs d'impulsions nanosecondes comme nous pourrons le constater dans la partie suivante.

IV.3. Mesures temporelles

Cette partie consiste à étudier la réponse de la cuvette pour différentes impulsions nanosecondes appliquées. Nous présentons 4 différents types d'impulsions:

- Une mesure avec plusieurs impulsions rectangulaires de durées comprises entre 1 et 15 ns avec une tension basse (< 1 V)
- Une mesure avec une impulsion rectangulaire de durée 10 ns avec une tension haute égale à 4.5 kV
- Une mesure avec une impulsion bipolaire de durée 3 ns et d'amplitude crête à crête 3 kV
- Une mesure avec une impulsion monopolaire de durée 3 ns et d'amplitude 1.5 kV

La figure III.27 reprend le schéma général du système d'exposition complet :

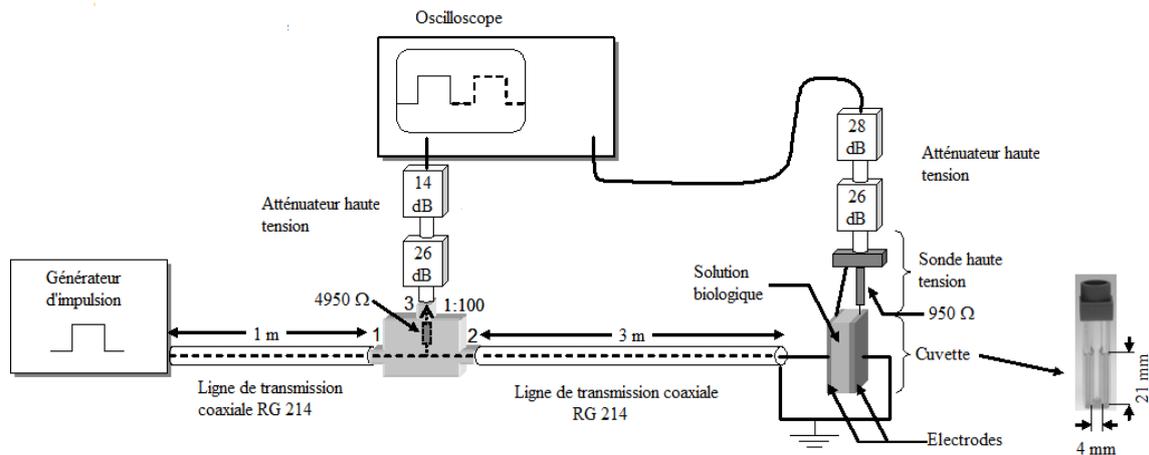


Figure III.27: Schéma détaillé du système d'exposition complet

Le système d'exposition est composé du générateur, une ligne de transmission et l'applicateur (la cuvette) qui permet d'appliquer des impulsions à la suspension cellulaire.

Nous avons utilisé les trois types de générateurs, décrits dans le chapitre 2. Le premier est le générateur Pulselab qui permet de délivrer des impulsions de basses tensions ($< 1V$) et de durée entre 1 et 100 ns avec un temps de montée de 250 ps. Ce type de générateur est utilisé pour la phase de caractérisation temporelle. Le deuxième type de générateur est un générateur de haute tension (FPG 10-1SM10, FID technologie, Allemagne) qui peut fournir des impulsions de durée 10 ns avec une amplitude réglable entre 4,5 kV et 10 kV. Le troisième est un générateur de haute tension (HT Horus, Limoges, France) qui se compose d'une source laser permettant de déclencher des photo-commutateurs. Ce générateur peut fournir des impulsions de durée 3 ns avec une amplitude réglable entre 0 kV et 3 kV crête à crête (cc).

L'applicateur considéré est la cuvette standard biologique avec une distance inter-électrodes égale à 4 mm. La cuvette est remplie d'un milieu de culture type solution saline (NaCl).

L'extracteur des signaux (Tap off) permet d'extraire un signal dont l'amplitude est égale à $1/100^{\text{ème}}$ de celle du signal se propageant sur le câble. Ce dispositif a trois accès comme l'indique la figure III.27. Le signal incident entre par l'accès 1. L'accès 3 permet l'extraction d'une partie du signal incident et réfléchi avec un rapport 1 / 100 de tension. Le signal est transmis à la cuvette par l'accès 2 du tap off. Il est possible d'obtenir les signaux incidents et réfléchis en utilisant des retards électriques introduits à l'aide des deux lignes de transmission.

La tension entre les électrodes de la cuvette est mesurée à l'aide de la sonde haute tension (2440, Barth Electronic Technology, USA) spécialement conçue pour la mesure des impulsions courtes haute tension. La sonde se caractérise par une large bande passante (6 GHz) et elle contient une résistance d'entrée de 950 Ω qui permet de mesurer la tension avec un ratio de 1:20.

Les impulsions mesurées sont affichées sur un oscilloscope numérique (DSO, TDS 6124C, Tektronix, USA). L'oscilloscope a une bande passante de 12 GHz et une impédance d'entrée égale à 50 Ω . Des atténuateurs (GHMF, Barth Electronics, USA) sont placés entre l'oscilloscope, d'une part, et le Tap off et la sonde haute tension, d'autre part, pour ne pas dépasser les valeurs de tensions limites de l'oscilloscope utilisé.

IV.3.1. Mesure basse tension : caractérisation

Dans ce cas, le générateur de basse tension Pulselab est utilisé dans le dispositif expérimental. La figure III.28 montre les allures temporelles des signaux mesurés au niveau du tap off et de la cuvette pour des impulsions avec des durées différentes (2 ns, 10 ns et 15 ns). Le signal mesuré à l'aide du tap off contient le signal délivré par le générateur et le signal réfléchi par l'applicateur.

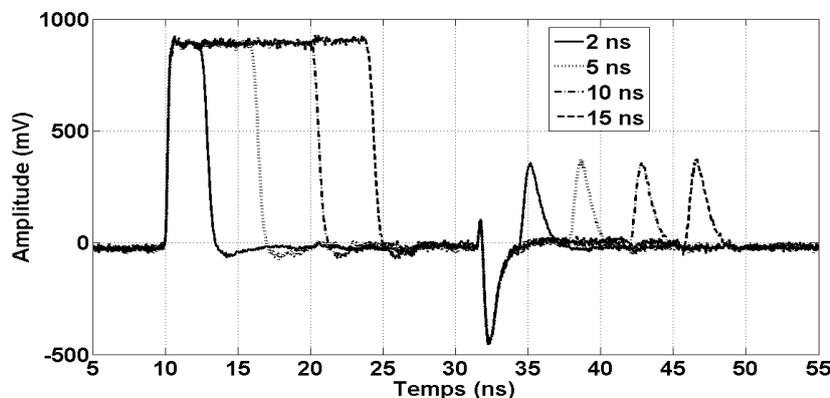


Figure III.28 : Impulsions mesurées au niveau de tap off pour des durées différentes

L'amplitude initiale des impulsions délivrées est 946 mV. Un câble a été placé entre le tap off et la cuvette permettant de dissocier les ondes incidente et réfléchie.

La figure III.29 montre les allures temporelles des signaux mesurés avec la sonde haute tension au niveau des électrodes de la cuvette. Le signal mesuré au niveau de la cuvette représente l'onde transmise effectivement vers la cuvette. L'onde transmise est égale à la différence entre l'onde incidente et réfléchie.

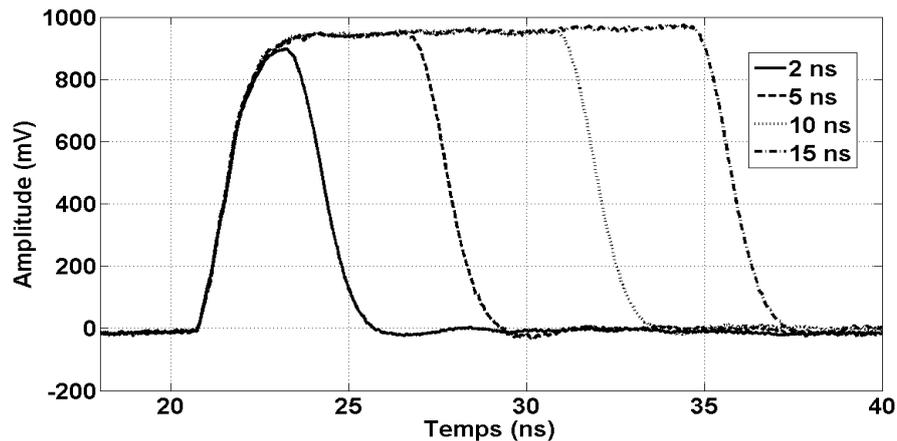


Figure III.29: Impulsions mesurées avec la sonde haute tension au niveau de la cuvette

En analysant les deux figures précédentes, il en ressort que l'onde réfléchie est formée de deux rebonds décalés d'une durée presque égale à celle de l'impulsion. Ces rebonds correspondent aux fronts de montée de l'impulsion. Ces fronts représentent les composantes hautes fréquences (HF) du spectre de l'impulsion. Le temps de montée est défini par le délai nécessaire à l'impulsion pour passer de 10% à 90% de l'amplitude maximale. La partie constante de l'impulsion représentant les composantes basses fréquences (BF) du spectre est complètement transmise dans la cuvette.

L'amplitude de l'impulsion mesurée au niveau de la cuvette pour le cas de l'impulsion 10 ns est 900 mV. Cette impulsion n'est pas déformée, car aux basses fréquences l'impédance de l'ensemble cuvette-solution est proche de 50Ω . L'ensemble est ainsi adapté avec le générateur. Cependant, les fronts de montée sont dégradés. Dans ce cas, le temps de montée est évalué à 1.5 ns.

Contrairement à l'impulsion 10 ns, l'impulsion 2 ns est atténuée en terme d'amplitude qui, au niveau de la cuvette est égale à 850 mV. De plus, les fronts de montée sont dégradés. Ceci est dû à la désadaptation du dispositif aux hautes fréquences où l'impédance est différente de 50Ω .

Pour résumer, l'impulsion de durée 10 ns est transmise à la cuvette sans pertes dans l'amplitude au niveau de la partie continue. L'impulsion de durée 2 ns a présenté une dégradation de l'amplitude (850 mV au lieu de 946 mV). Les fronts de montée sont dégradés dans les deux cas. Il en ressort que la cuvette est bien adaptée pour être utilisée avec des impulsions de durée 10 ns et limitée pour les impulsions de durée plus courtes (de l'ordre de 2 ns). De même, la cuvette est limitée pour des impulsions de temps de montée ≤ 1.5 ns. Ce comportement peut être relié au fait que lorsque la durée de l'impulsion est plus courte, son contenu spectral est plus large et contient des composantes plus hautes en fréquence où

l'impédance de la cuvette n'est plus constante et adaptée comme illustré dans la partie précédente.

IV.3.2. Traitement et analyse des résultats

Le signal mesuré au niveau de la cuvette représente l'onde transmise effectivement vers la cuvette. Pour la vérification, les ondes incidentes et réfléchies sont découpées à partir du signal global sur une même durée. L'onde résultante de la différence des deux signaux incident et réfléchi, est ensuite comparée à celle mesurée par la sonde. Cette procédure permet de vérifier la propagation des impulsions dans la chaîne de mesure du système d'exposition ainsi que le bon fonctionnement de la sonde.

La figure III.30 montre les différents signaux pour une impulsion de durée 10 ns. Les résultats montrent que la différence entre les ondes incidente et réfléchie donne une impulsion quasi identique à celle mesurée par la sonde. Les amplitudes du signal mesuré avec la sonde et celles obtenues à partir des ondes incidente et réfléchie sont égales à celle du signal incident. Ceci montre l'efficacité de la sonde pour la mesure des impulsions.

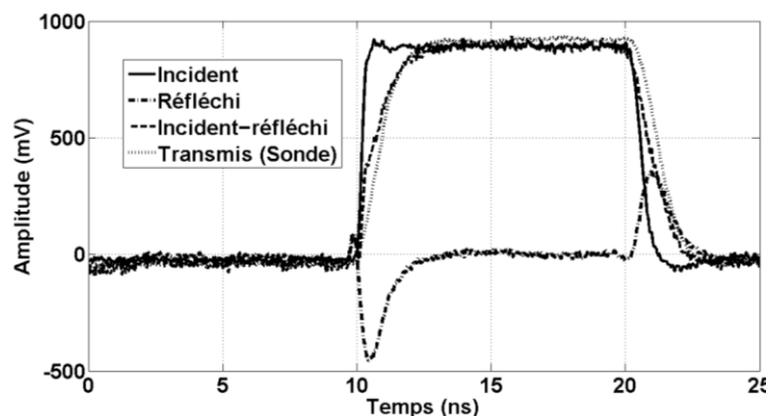


Figure III.30: Signaux incident, réfléchi, différence incident –réfléchi et transmis (Sonde).

IV.3.3. Effet de la désadaptation

L'effet de la désadaptation est également illustré dans la figure III.31 sur les spectres normalisés, par rapport à leur maximum, correspondant aux signaux mesurés au niveau du générateur et de l'ensemble cuvette-solution pour les deux impulsions 2 et 10 ns. Il en ressort que le spectre de l'impulsion 2 ns est plus atténué que celui de l'impulsion 10 ns. Le spectre de l'impulsion 10 ns au niveau du générateur et la cuvette présente le même lobe principal. Nous obtenons une légère atténuation dans les lobes secondaires. Le lobe principal du spectre de l'impulsion 2 ns au niveau de la cuvette est atténué par rapport à celui au niveau du générateur. Nous avons donc des pertes plus importantes dans le contenu spectral dans le cas

de l'impulsion 2 ns. Nous rappelons que l'adaptation à -10 dB de la cuvette est réalisée pour des fréquences inférieures à 70 MHz.

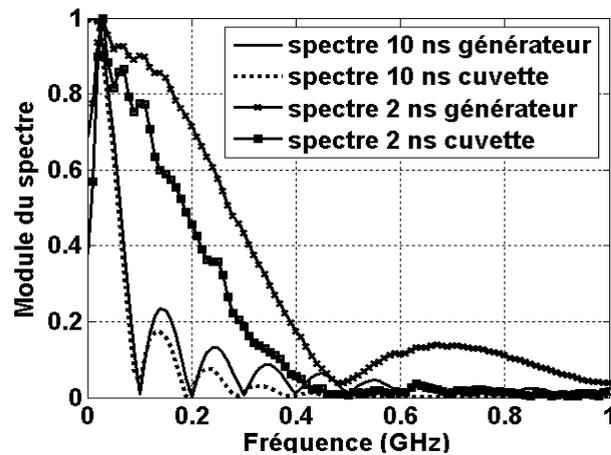


Figure III.31 : Spectres des impulsions 2 et 10 ns après le générateur et au niveau de la cuvette

IV.3.4. Connectique

La caractérisation fréquentielle de l'ensemble câble-cuvette nous a permis de constater que le comportement de l'impédance équivalente aux hautes fréquences dépend du câble utilisé. Afin de voir l'influence du câble et la connexion utilisés pour relier la cuvette au générateur, nous présentons dans cette partie des mesures effectuées avec trois types de connectique : un câble HNB de longueur 20 cm, un câble APC 7 mm de longueur 10 cm et un connecteur de type N avec deux plaques métalliques soudées qui vont être posées en contact direct sur les électrodes de la cuvette (Tableau III.3).

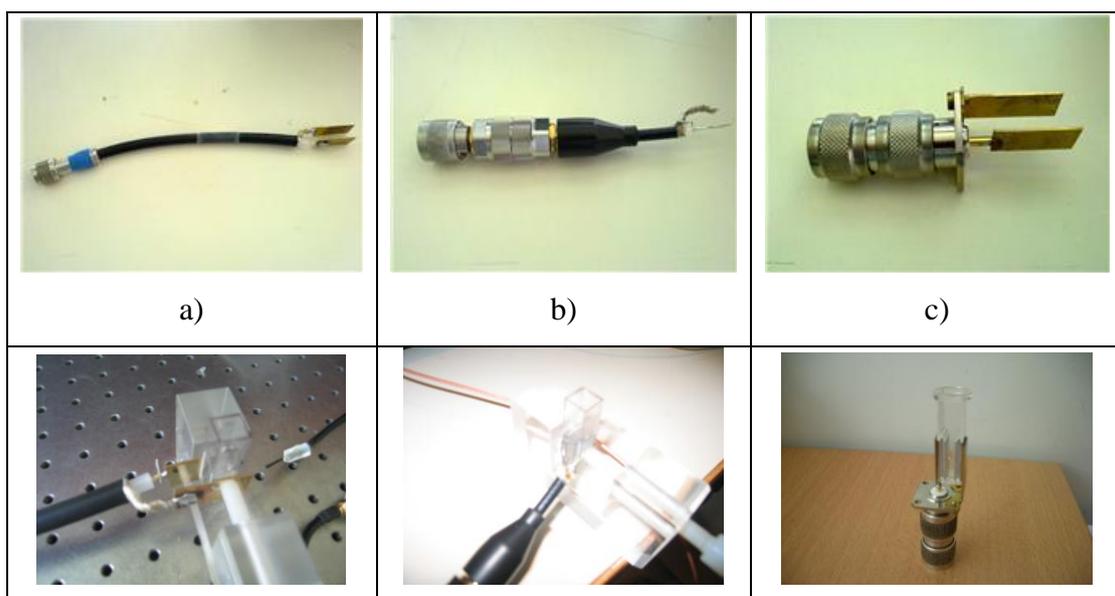
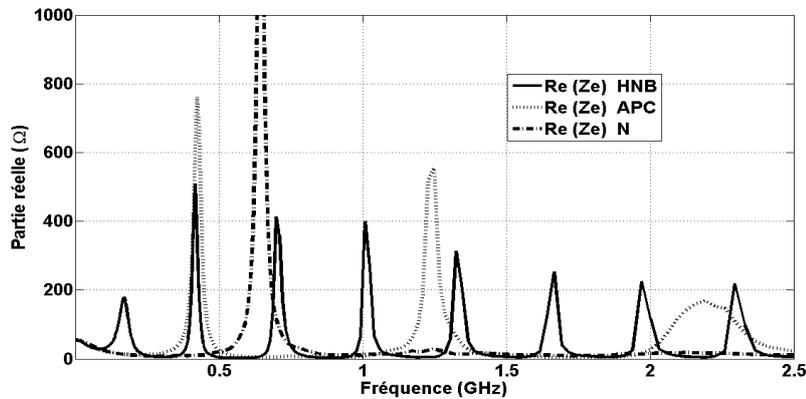
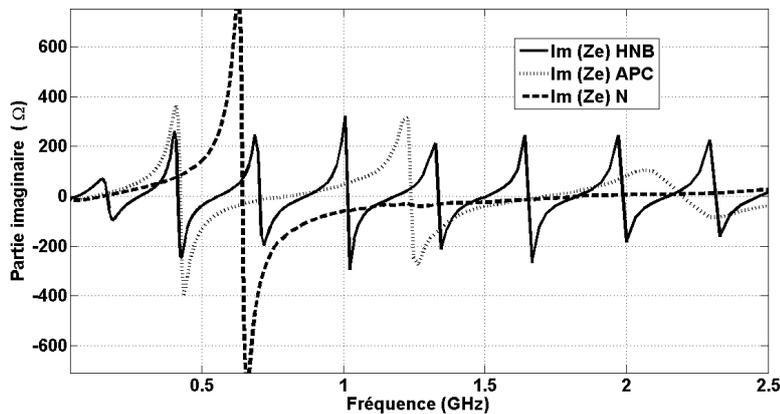


Tableau III.3 : Les différents types de connectiques utilisées en mesure a) HNB, b) APC 7mm, c) connecteur N

La figure III.32 (a) et (b) montre les parties réelles et imaginaires de l'impédance mesurée de la cuvette remplie d'une solution 50Ω ($\sigma = 0.31 \text{ S/m}$) reliée avec les trois types de connectiques.



a)



b)

Figure III.32 : Impédance de la cuvette mesurée avec différents types de câble a) Partie réelle, b) Partie imaginaire

Les résultats montrent que les premières résonances apparaissent à 170 MHz, 420 MHz et 650 MHz respectivement pour les cas HNB, APC, et N. Ceci est normal car la fréquence de résonance est inversement proportionnelle à la longueur du câble de transmission. Le nombre de résonances est également plus grand pour le cas de la transition HNB que pour les deux autres cas. Les résonances interviennent aux hautes fréquences et causent la désadaptation de l'impédance. Cependant, l'effet de ces résonances reste conditionné par le contenu spectral de l'impulsion appliquée. Par exemple, le spectre de l'impulsion de durée 10 ns est majoritairement contenu dans des fréquences inférieures à 100 MHz. Donc, les résonances situées à des fréquences plus hautes n'ont pas d'influence puisque l'énergie à ces fréquences est presque nulle (figure III. 32).

Pour illustrer les effets des connectiques sur le profil temporel des impulsions, des mesures ont été faites pour des impulsions 10 ns en basse tension (générateur pulse labs). La figure III.33 montre les signaux mesurés au niveau du tap off pour une impulsion de durée 10 ns et d'amplitude 946 mV pour les trois types de connectiques :

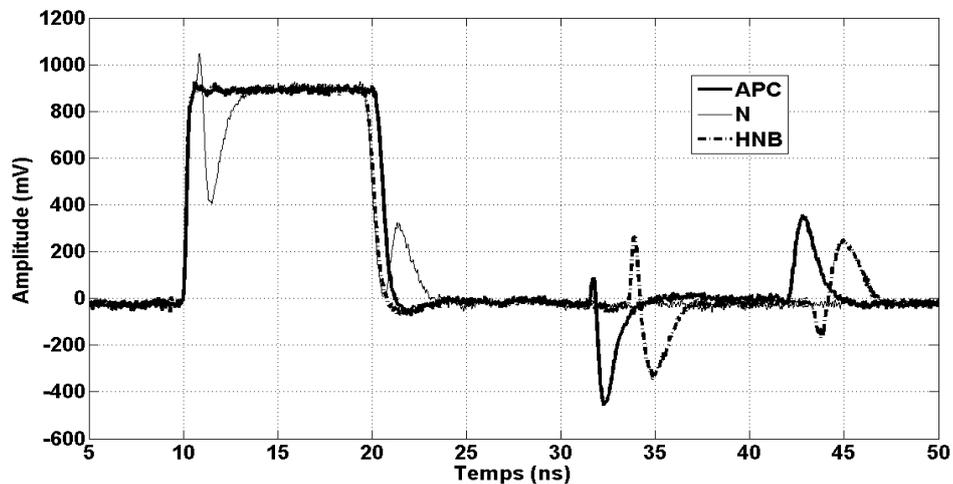


Figure III.33 : Signaux mesurés au niveau du tap off pour différents types de câble

Il en ressort que pour la transition N, les rebonds qui correspondent aux fronts de montée ne sont pas décalés puisque la cuvette est reliée directement au Tap off sans utiliser un câble qui introduirait un retard. Pour les deux autres connectiques (APC et HNB), il y a une différence entre les formes des rebonds. Cette différence est attribuée aux propriétés du câble de transmission qui sont associées à un circuit électrique équivalent avec des effets différents (capacitif, selfique...). Pour connaître l'influence de ces connectiques sur la réponse de la cuvette aux impulsions, nous présentons dans la figure III.34 l'allure temporelle des impulsions mesurées au niveau de la cuvette.

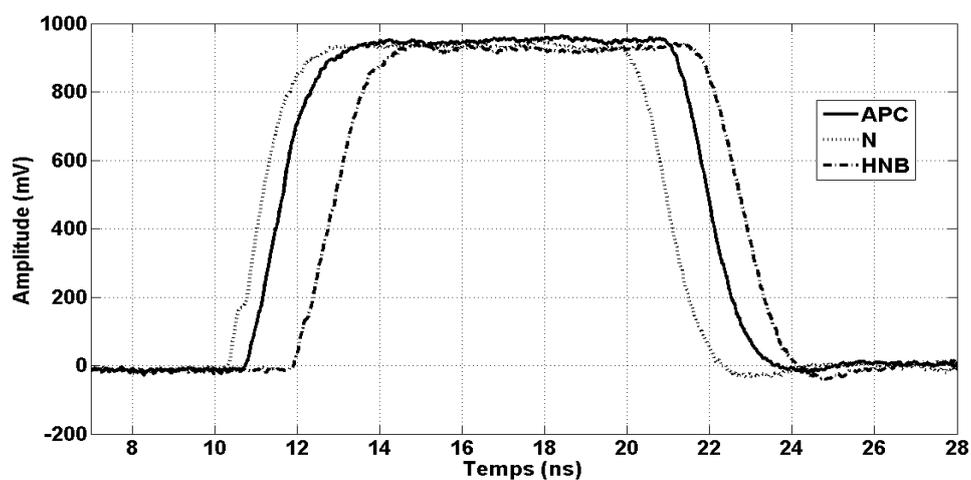


Figure III.34 : Signaux mesurés au niveau de la cuvette pour différents types de câble

Nous remarquons que les trois impulsions présentent presque la même amplitude. Par contre, l'impulsion mesurée dans le cas du câble APC montre un front de montée moins dégradé que dans les deux autres cas sans qu'il y ait pour autant une énorme différence.

Après avoir étudié le comportement de la cuvette et sa réponse aux différentes impulsions, nous avons effectué des mesures haute tension avec des impulsions de durée 10 ns et 2 ns afin de valider la phase de la caractérisation.

IV.3.5. Mesure haute tension 10 ns.

Le générateur de technologie FID délivrant des impulsions de durée 10 ns et d'amplitude 4.5 kV est utilisé dans le dispositif expérimental.

La figure III.35 montre les signaux mesurés avec le tap off et la sonde haute tension. Les résultats montrent que l'amplitude (4.5 kV) et la durée (10 ns) des signaux incident et appliqué sont conservées. Le rapport de tension entre les signaux incident et appliqué est d'environ 0,9. Toutefois, les temps de montée et de descente sont légèrement dégradés. Cette dégradation est due, comme expliqué dans la partie précédente, à la variation d'impédance de la cuvette pour les hautes fréquences. Nous pouvons néanmoins en déduire que l'impulsion de durée 10 ns et de haute tension est bien transmise à la cuvette.

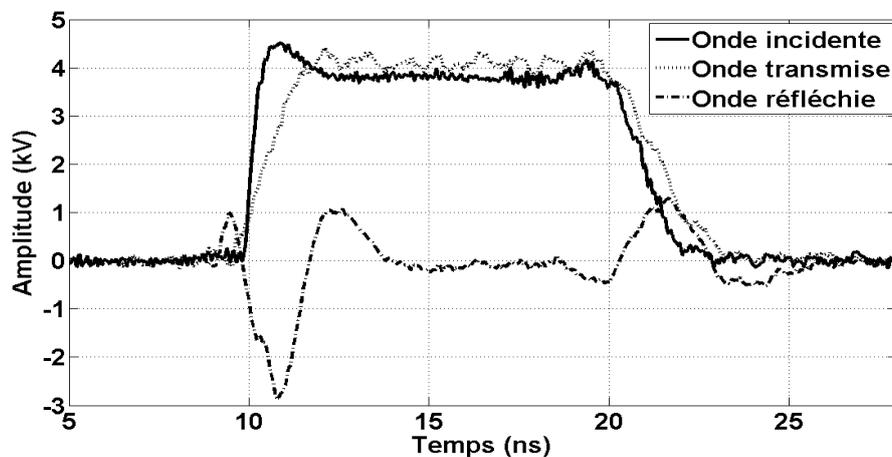


Figure III.35 : Allure temporelle des l'impulsion 10 haute tension : incidente, réfléchie et

IV.3.6. Mesures haute tension 3 ns : monopolaire et bipolaire

Pour ces mesures, le générateur Horus-Laser est utilisé dans le dispositif expérimental du système d'exposition. Il permet de délivrer des impulsions de durée 3 ns avec 3 kV crête à crête d'amplitude avec un profil temporel contrôlable. L'impulsion peut être monopolaire

(rectangulaire) ou bipolaire. Nous présentons, dans la suite, des mesures effectuées avec les deux types d'impulsions.

IV.3.6.1. Impulsion monopolaire

La figure III.36 montre les signaux mesurés : incident, appliqué et réfléchi. Dans ce cas, l'amplitude du signal appliqué est plus faible que celle du signal incident. Le rapport de tension entre les signaux incident et appliqué est d'environ 0,75. L'atténuation obtenue sur l'amplitude du signal appliqué est due au fait que l'impulsion de 3 ns a un spectre fréquentiel plus large par rapport à la bande passante de la cuvette. Ceci explique également la dégradation du front de montée de l'impulsion.

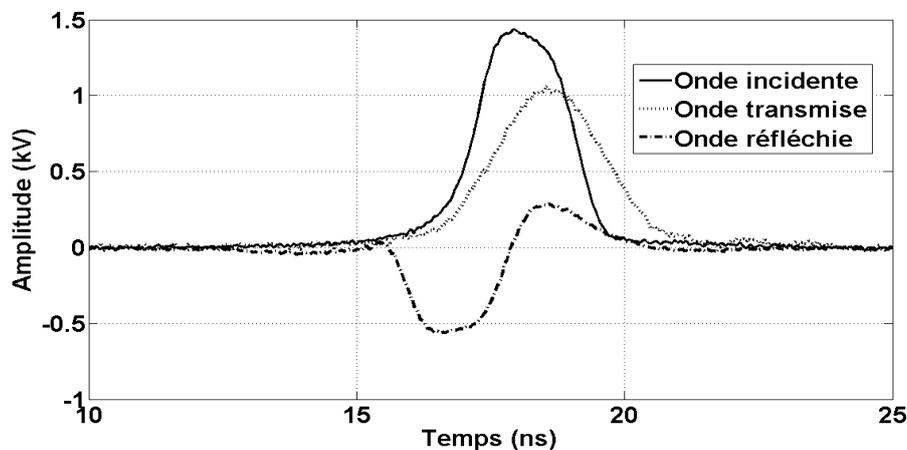


Figure III.36: Allure temporelle des l'impulsion 3 ns monopolaire haute tension : incidente, réfléchie et transmise

IV.3.6.2. Impulsion bipolaire

Dans ce cas, l'impulsion générée présente deux polarités : positive et négative. Pour ce type d'impulsion, le spectre est centré autour d'une fréquence f_0 . La figure III.38 montre les signaux mesurés : incident, transmis et réfléchi. La fréquence centrale du spectre pour l'impulsion bipolaire de durée 3 ns est 250 MHz. Le rapport de tension entre les signaux incident et appliqué est d'environ 0,5. De même que pour l'impulsion monopolaire, l'atténuation sur l'amplitude du signal appliqué s'explique par la désadaptation de la cuvette en hautes fréquences. Cet effet est d'autant plus prononcé que la fréquence centrale du spectre pour l'impulsion bipolaire est décalée vers les HF.

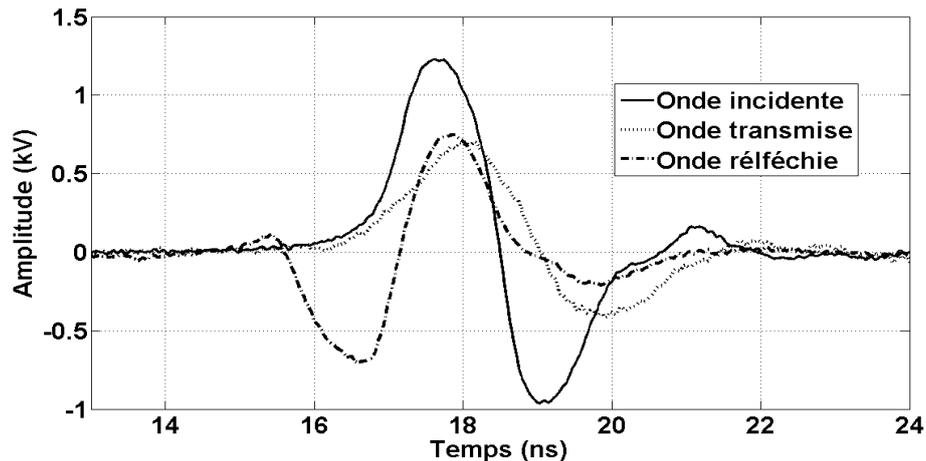


Figure III.37 : Allure temporelle des l'impulsion 3 ns bipolaire haute tension : incidente,

IV.3.7. Conclusion

Dans cette partie, la réponse de la cuvette soumise à différentes impulsions nanosecondes a été étudiée. Les impulsions appliquées présentaient : des niveaux de tension bas ($< 1V$) et haut ($3 - 4.5 kV$), des durées comprises entre 1 et 10 ns et des formes monopolaires et bipolaires.

Il n'y a pas d'effet particulier constaté sur les impulsions appliquées entre une basse et une haute tension. En revanche, l'analyse de ces résultats a mis en évidence que la cuvette est adaptée pour des impulsions d'une durée égale à 10 ns, étant plutôt limitée pour des impulsions de durées plus courtes d'environ 2-3 ns. En effet, plus les impulsions sont de courte durée et ont un spectre large, plus les amplitudes des impulsions appliquées au niveau de la cuvette sont atténuées. Ceci est dû à la bande passante de la cuvette ; vers les HF l'impédance de la cuvette n'est plus constante et adaptée. La bande passante de la cuvette fixe également des limites sur les fronts de montée ($< 1.5 ns$) des impulsions appliquées. En ce qui concerne les impulsions bipolaires, les effets décrits précédemment sont plus prononcés car les spectres sont situés autour d'une fréquence centrale encore plus éloignée de la bande passante de la cuvette.

Les impulsions que l'on souhaite appliquer sont de courtes durées ce qui impose un large spectre fréquentiel. L'impédance de la cuvette étant variable en fonction de la fréquence, cela rend difficile l'adaptation de la chaîne générateur/applicateur sur une très large bande de fréquence. Ainsi, afin de compléter l'étude expérimentale et de mieux comprendre la réponse temporelle de la cuvette aux différentes impulsions, une étude numérique est proposée dans la partie suivante.

IV.4. Modélisation numérique

La modélisation numérique permettra de continuer l'étape de caractérisation afin d'apporter des informations complémentaires concernant la réponse du système étudié aux impulsions nanosecondes. Cette étude dosimétrique servira aussi à quantifier les niveaux de champs absorbés par le milieu biologique et à les comparer aux niveaux de tensions incidentes.

Le système modélisé, présenté dans la figure III.38, se compose de la cuvette auquel vient se relier, de part et d'autre des électrodes, un câble coaxial avec une transition formée de deux fils métalliques reliés. La modélisation est réalisée en utilisant le code FDTD développé à Xlim.

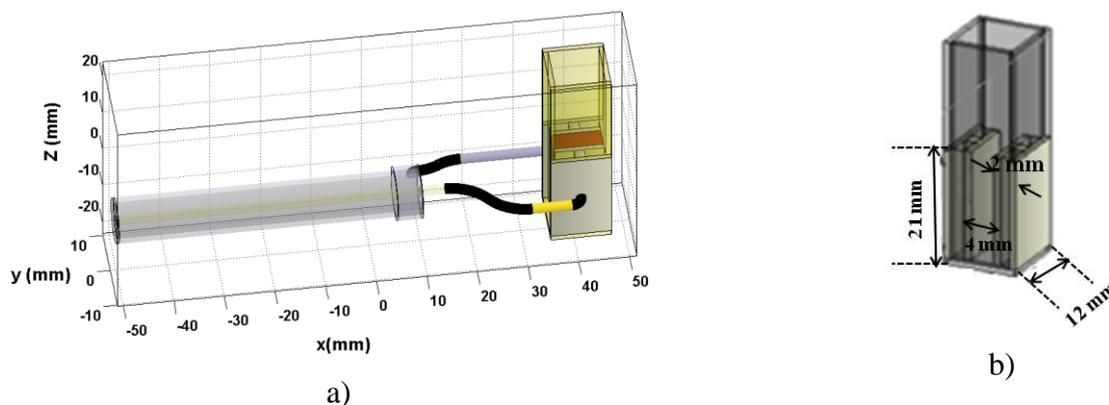


Figure III.38: a) câble de transmission relié à la cuvette, b) cuvette modélisée avec les dimensions

Nous avons modélisé la cuvette avec les dimensions utilisées dans les mesures. La longueur des électrodes est 2.1 cm, sa largeur 1.2 cm et la distance entre les électrodes est 4 mm. Le calcul nécessite un maillage spatial du système d'exposition et prend en compte les propriétés physiques de l'échantillon biologique telles que la permittivité relative et la conductivité électrique. La géométrie est discrétisée avec un maillage uniforme 0.2 x 0.2 x 0.2 mm. Une excitation EM localisée basée sur le principe des fils minces d'impédance interne de 50 Ω est placée à l'extrémité du câble coaxial.

Le Tableau III.4 reprend toutes les caractéristiques diélectriques des éléments du système d'exposition modélisé :

Propriétés Milieu	Permittivité ϵ_r	Conductivité σ (S/m)	Densité volumique ρ (Kg/m ³)
Verre	2.5	0	1
Téflon (diélectrique)	2.2	0	1
Paroi métallique	0	∞	1
Milieu biologique	80	différent	1000
Câble coaxial	2.2	0	1

Tableau III.4 : Propriétés électromagnétiques des différents milieux de la structure modélisée

Les résultats de la modélisation numérique illustrés par la suite concernent :

- l'impédance d'entrée de l'ensemble câble-cuvette,
- la distribution spatio-temporelle et fréquentielle du champ électrique dans le câble et dans la cuvette,
- le débit d'absorption spécifique (DAS) dans le milieu biologique,
- le rayonnement champ lointain.

IV.4.1. Impédance d'entrée

La figure III.39 (a) et (b) montre l'impédance d'entrée obtenue par simulation pour deux longueurs de câble différentes 10 et 20 cm. La conductivité électrique du milieu est égale à 0.31 S/m pour obtenir une impédance égale à 50 Ω . Il en ressort que la longueur du câble n'influence pas la partie basse fréquence de l'impédance. Par contre, lorsque la longueur du câble change, les dimensions géométriques de la structure complète sont modifiées et la position des fréquences de résonance qui dépendent de ces dimensions varie également.

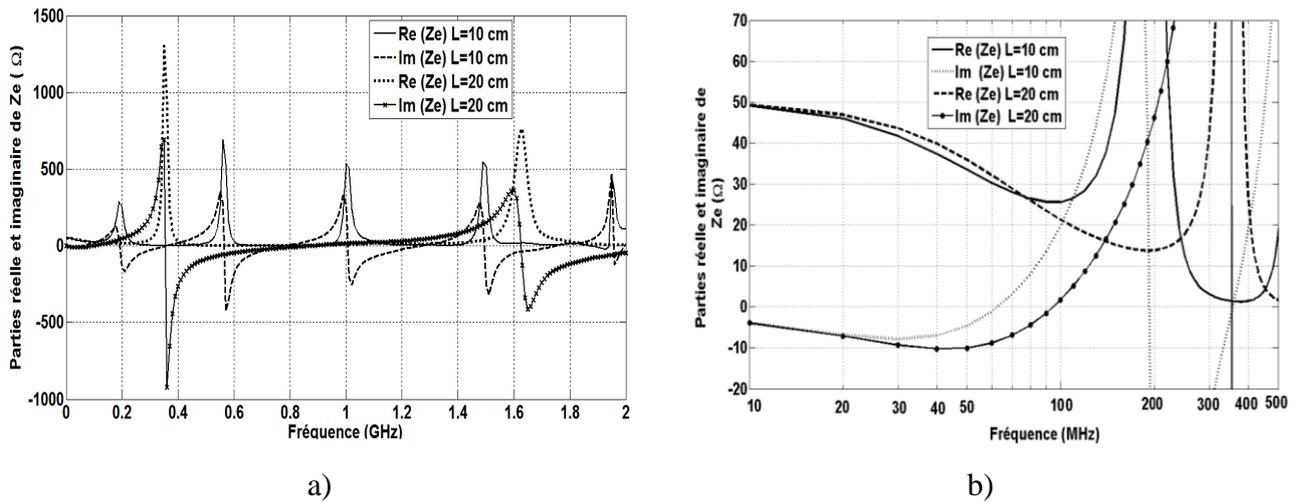


Figure III.39: Impédance d'entrée de l'ensemble câble-cuvette pour deux longueurs de câble différentes : a) Echelle linéaire, b) Echelle semi-logarithmique

Les résultats d'impédance obtenus par simulation sont comparés aux résultats expérimentaux et présentés dans la figure III.40 :

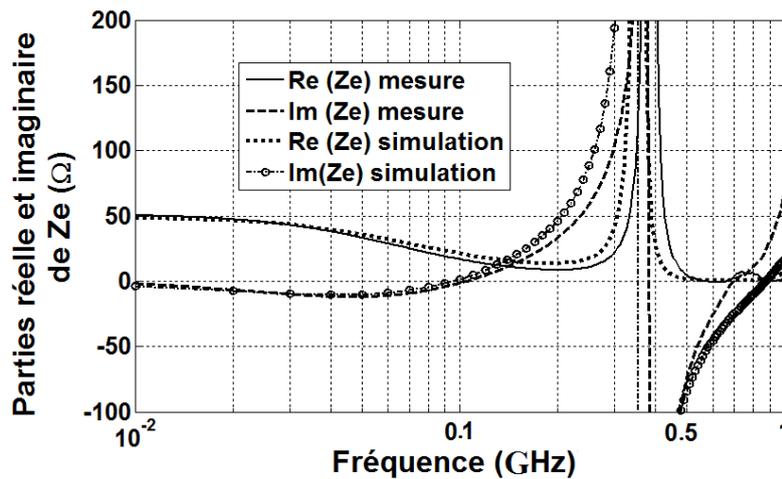


Figure III.40 : Impédance d'entrée de l'ensemble câble-cuvette par simulation et mesure

Pour les deux cas, la longueur du câble est environ de 10 cm et la conductivité électrique est égale à 0.31 S/m pour avoir une impédance égale à 50 Ω . Il en ressort que les valeurs d'impédance obtenues par simulation sont identiques aux basses fréquences avec un petit écart de fréquence de résonances aux HF à cause de la légère différence de dimensions géométriques.

Nous n'avons pas présenté l'étude paramétrique complète de l'impédance par simulation pour éviter la redondance des données.

IV.4.2. Cartographie spatio-temporelle

La cartographie spatio-temporelle consiste à montrer la distribution du champ électrique à l'intérieur de la structure modélisée dans plusieurs plans et à des instants différents.

Comme l'illustre la figure III.41, les cartographies temporelles du champ électrique sont représentées sur trois plans à z constant : z_1 , z_2 et z_3 placés respectivement en bas, au milieu et en haut de la cuvette. L'impulsion appliquée est caractérisée par une durée de 10 ns et une amplitude de 2 kV. Le pas temporel est $dt = 0.35$ ps. L'instant t est précisé par le produit du nombre d'itération temporelles et du pas temporel dt .

Quatre instants différents ont été choisis (Figure III.42):

- (t_1), pendant la partie basse tension de l'impulsion
- (t_2), pendant le front de montée de l'impulsion
- (t_3), pendant la partie haute tension de l'impulsion
- (t_4), pendant le front de descente de l'impulsion

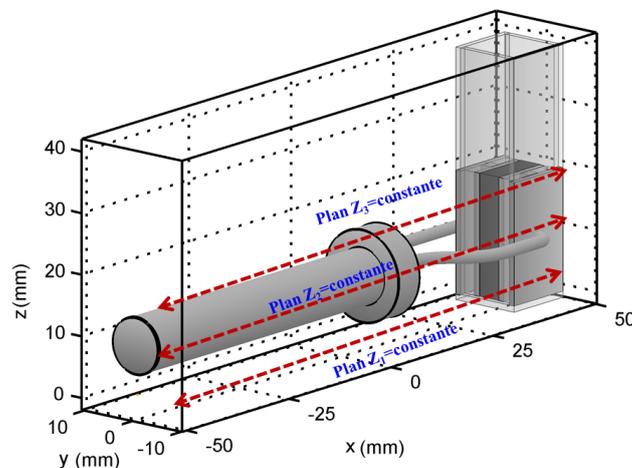


Figure III.41: La cuvette reliée au câble de transmission par modélisation

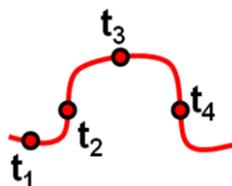


Figure III.42 : Impulsion avec les instants de calcul du champ électrique temporel

La figure III.43 montre le module du champ électrique E_y à l'instant t_1 dans les trois plans. La composante E_y a été présentée parce que le champ électrique est transversal aux électrodes. Le champ électrique dans la cuvette est nul sur les trois plans (les deux parties du début de la structure représentent le champ électrique au niveau du générateur). Ce résultat est compatible avec la théorie. En effet, le champ électrique (E) étant lié à la tension appliquée (V) par la relation : $E = V/d$ où d est la distance inter-électrodes (4 mm), il est normal d'obtenir un champ électrique nul pour une tension nulle.

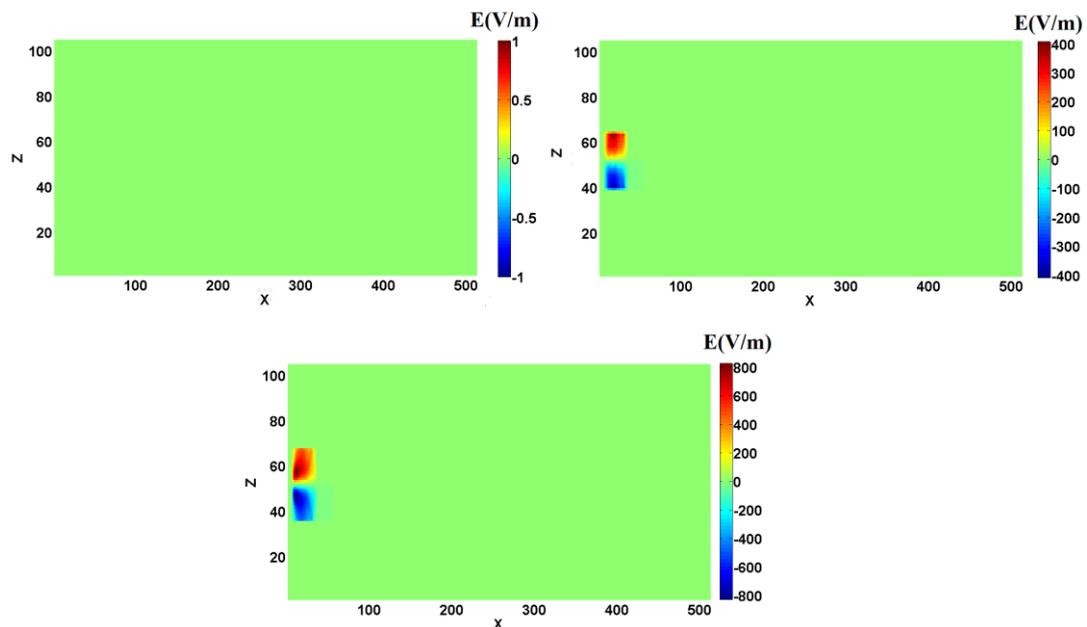


Figure III.43: Cartographie temporelle du champ E_y à l'instant t_1 pour trois plans z différents

Le câble coaxial n'apparaît pas dans la figure III.44 car elle correspond à plan Z plus bas que celui du câble.

La distribution du champ électrique à l'instant t_2 dans les trois plans est présentée dans la figure III.44. Le module du champ électrique à l'intérieur de la cuvette est constant et égal à 222 kV/m. Cette valeur est inférieure à la valeur 500 kV/m obtenue théoriquement avec la formule précédente (pour $V = 2$ kV et $d = 4$ mm). Cette différence s'explique par le fait qu'une partie de l'onde incidente est réfléchiée à cause de la désadaptation de la cuvette. Le temps de montée correspond à la partie haute fréquence du spectre de l'impulsion où l'impédance de la cuvette n'est plus égale à 50Ω . Le module du champ électrique à l'intérieur de la cuvette dépend de l'amplitude de la tension qui est transmise au milieu biologique. En plus, nous pouvons remarquer que le champ électrique est spatialement homogène.

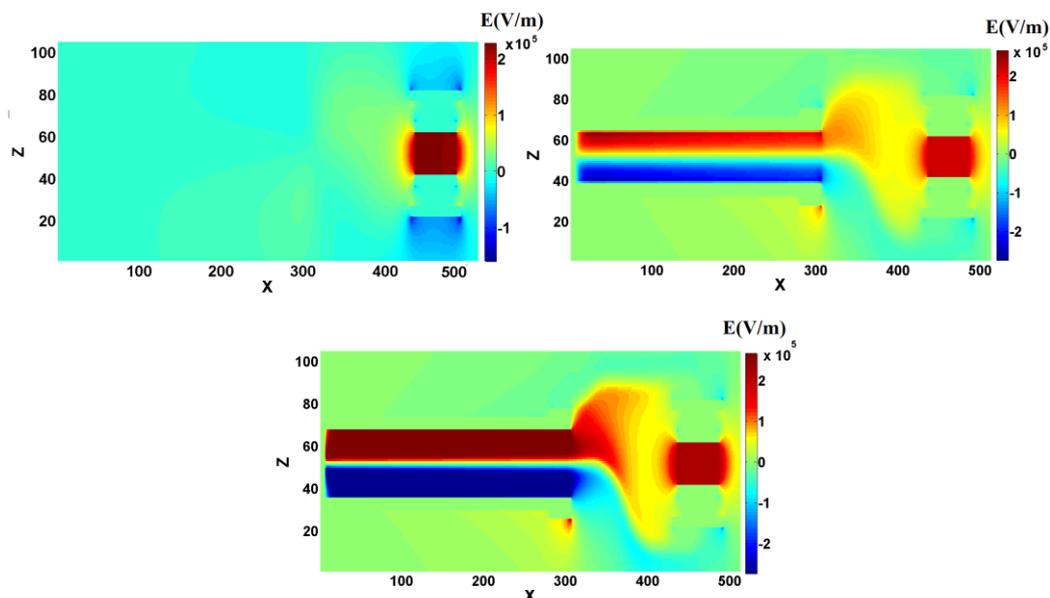


Figure III.44 : Cartographie temporelle du champ E_y à l'instant t_2 pour trois plans z différents

La figure III.45 montre le module du champ électrique E_y à l'instant t_3 dans les trois plans. A cet instant, le module du champ électrique est égal à 504.4 kV/m. Cette valeur est proche de celle obtenue théoriquement (500 kV/m). En effet, l'instant t_3 correspond à la partie continue de l'impulsion qui représente la partie BF du spectre (< 70 MHz) où la cuvette est adaptée avec le générateur et l'énergie est quasi-entièrement transmise dans le milieu. De même que précédemment, le champ électrique est homogène pour les trois plans.

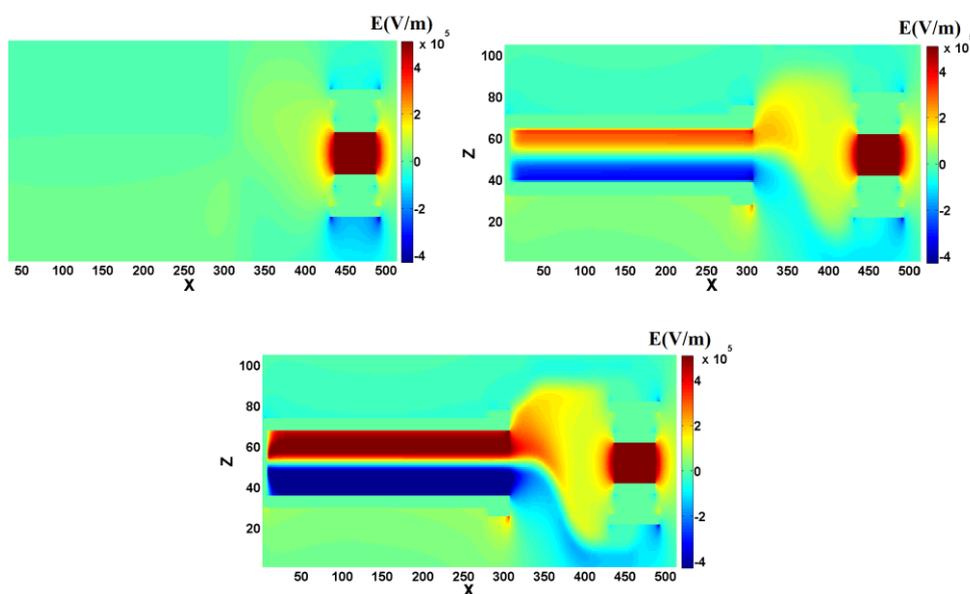


Figure III.45: Cartographie temporelle du champ E_y à l'instant t_3 pour trois plans z différents

Pour donner une vue globale sur l'évolution de la tension à l'intérieur de la cuvette biologique, sa distribution spatio-temporelle est montrée dans la figure III.46 (a) et (b) pour une impulsion rectangulaire de durée égale à 10 ns (a) et pour une impulsion bipolaire de durée 3 ns (b). La distribution spatio-temporelle de la tension est obtenue en intégrant le champ électrique.

Les résultats obtenus montrent que la distribution de la tension est homogène dans la cuvette pour les deux impulsions appliquées et dans tous les plans z . Nous pouvons remarquer que les formes temporelles des impulsions dans la cuvette obtenues par simulation sont identiques à celles mesurées avec la sonde haute tension pour l'impulsion 10 ns délivrée par le générateur FID et l'impulsion bipolaire fournie par le générateur Horus (Figure III.35 et III.37)

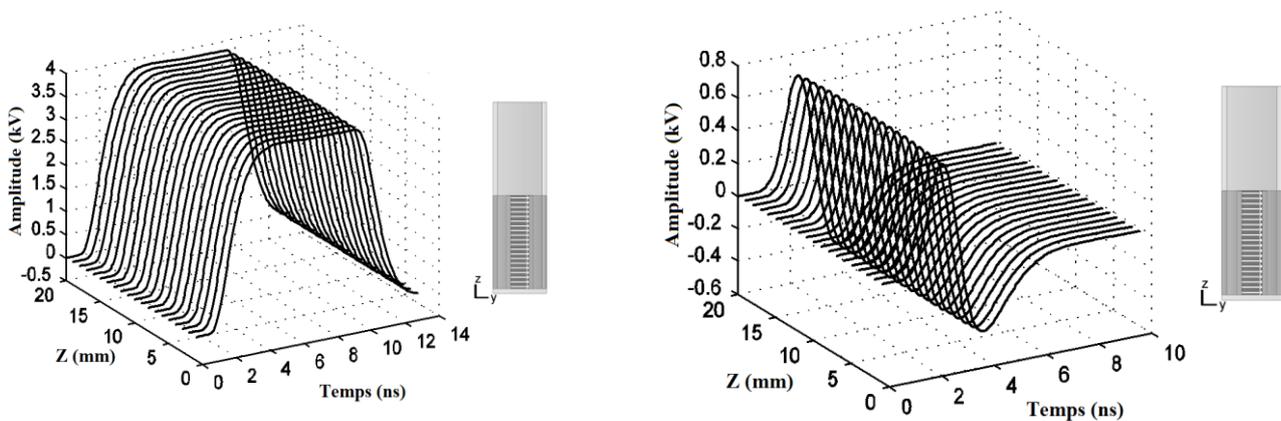


Figure III.46: Distribution spatio-temporelle de la tension dans la cuvette :a) Impulsion 10 ns rectangulaire, b) Impulsion 3 ns bipolaire

IV.4.3. Cartographie fréquentielle

La distribution fréquentielle du champ électrique permet de voir la propagation du champ dans la structure et d'illustrer le couplage entre les différentes parties. Etant la composante dominante dans le câble de transmission, le module de la composante E_z du champ électrique dans les trois plans (x , y et z) de la structure à la fréquence 50 MHz est présenté dans la figure III.47 (a, b, c). Le module de la composante E_z est illustré au début du câble, à l'extrémité du câble, au niveau de la transition et au niveau de la cuvette contenant le milieu biologique. L'énergie au niveau du câble coaxial est bien guidée, le champ est uniforme entre le conducteur central et la gaine. Au niveau de la connexion câble-cuvette, deux lobes qui correspondent aux deux parties de la transition sont observés (Figure III.47 (b, d)). Ces lobes traduisent un rayonnement en champ proche qui est plus important du côté du conducteur du câble que du côté masse. Donc, une partie de l'énergie arrive à la cuvette par

rayonnement. Le module du champ E_z dans le milieu biologique est très faible par rapport au module du champ provenant du générateur dans le câble coaxial (Figure. III.47 (c)).

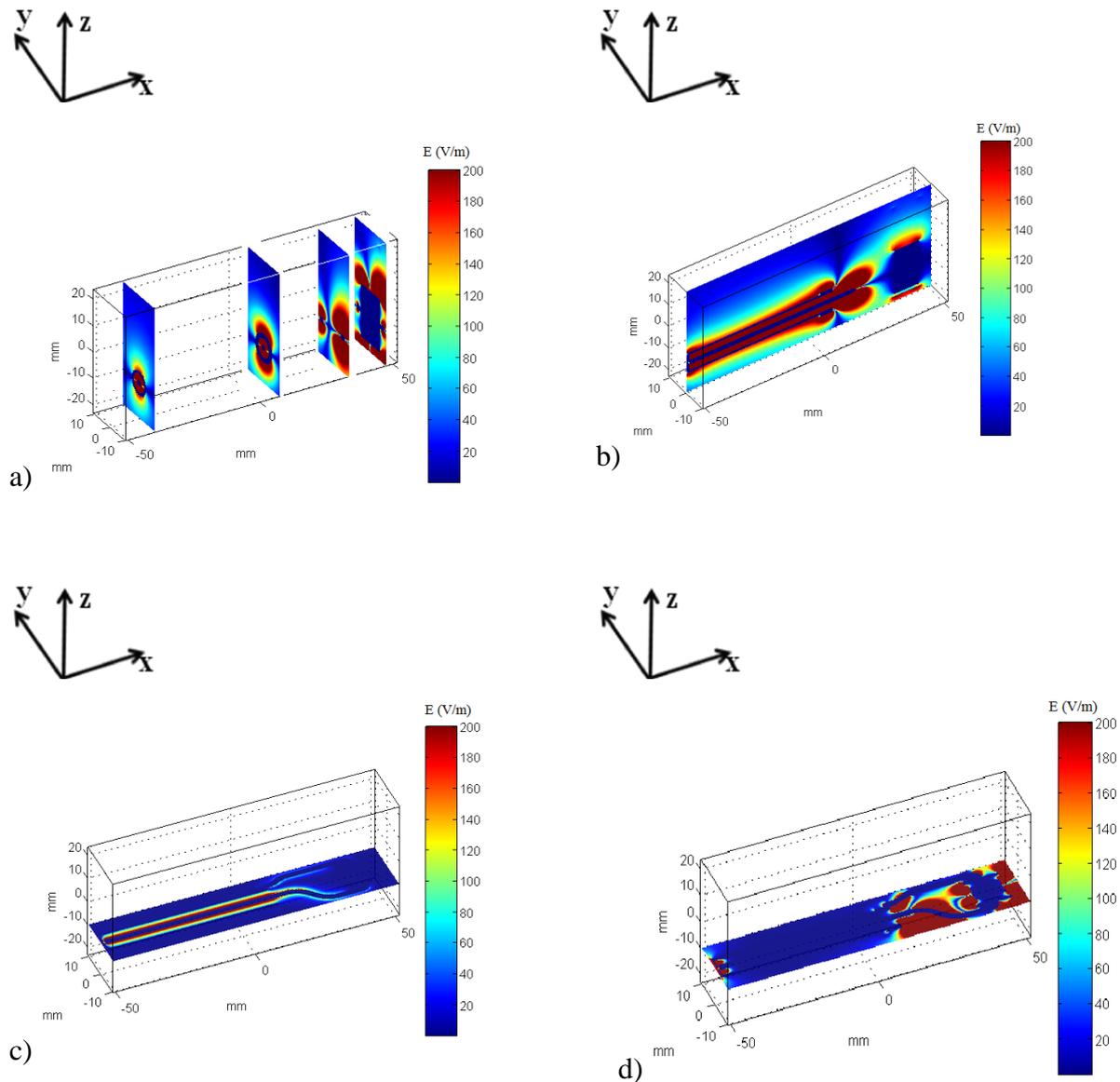


Figure III.47 : Distribution du champ électrique à la fréquence 50 MHz : a) E_z à $x=cte$, b) E_z à $y=cte$, c) E_z à $z=cte$, d) E_x à $z=cte$

Le rayonnement proche et le couplage dans la structure modélisée sont dus au fait que le système est ouvert surtout au niveau de la transition non isolée entre le câble coaxial et la cuvette. L'utilisation de champs électriques de fortes amplitudes nécessitent l'étude de rayonnement du diagramme de rayonnement du système en champ lointain afin de quantifier l'énergie rayonnée et son influence sur l'environnement matériel.

IV.4.4. Rayonnement champ lointain

L'étude du diagramme de rayonnement du champ électrique est également obtenue à partir de la simulation numérique avec la méthode FDTD. Nous avons vu dans les parties précédentes que l'adaptation de l'impédance équivalente de l'applicateur avec le générateur est limitée en fréquence à cause des propriétés géométriques et électromagnétiques. Donc, dans les zones de désadaptation, l'énergie réfléchie peut être rayonnée. La distribution du champ lointain permet de voir la propagation du champ dans l'environnement de la structure. La figure III.49 (a, b, c, d) montre le module du champ électrique E_{total} rayonné dans les plans $\theta = 0^\circ$, $\theta = 90^\circ$, $\varphi = 0^\circ$ et $\varphi = 90^\circ$ aux fréquences 100 MHz, 200 MHz et 500 MHz. Le système modélisé dans le repère cylindrique est montré dans la figure III.48.

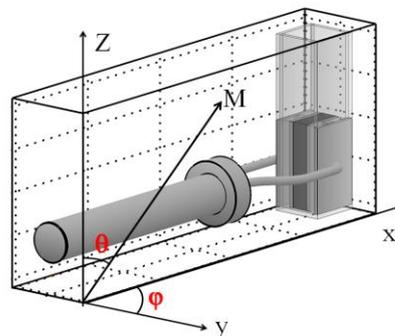
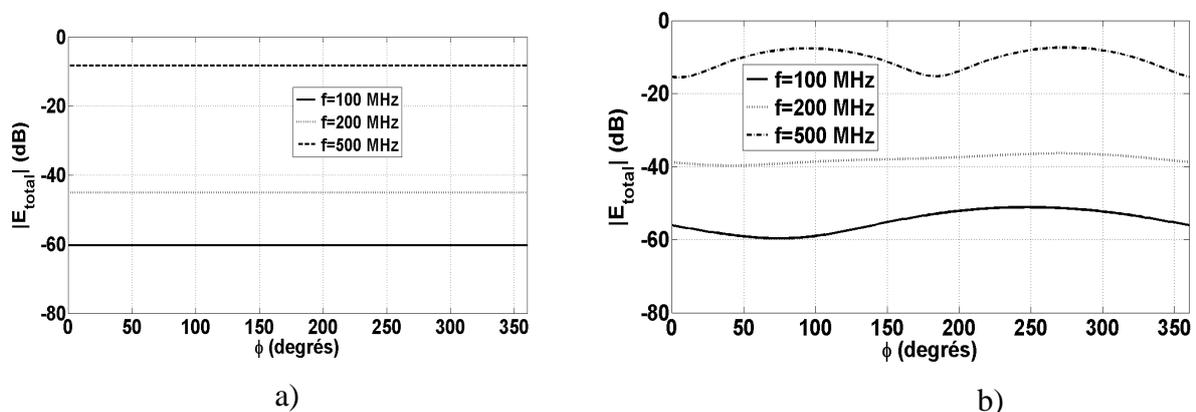


Figure III.48: Ensemble câble cuvette placé dans le repère cylindrique



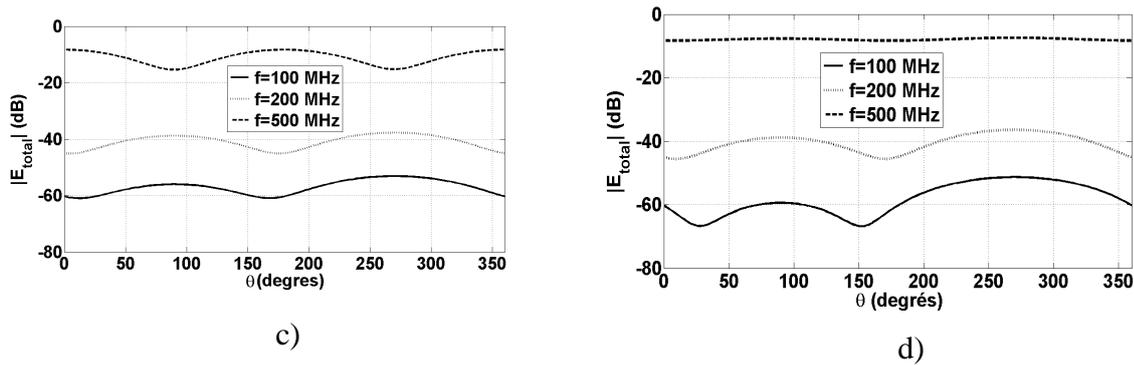


Figure III.49: Diagramme de rayonnement de l'ensemble câble-cuvette : a) E_{total} dans le plan $\varphi=0^\circ$ b) E_{total} dans le plan $\varphi=90^\circ$ c) E_{total} dans le plan $\theta=0^\circ$, c) E_{total} dans le plan $\theta=90^\circ$

Le champ E_{total} est égal à la racine de la somme du carré des modules de E_θ et E_φ . On remarque que le module du champ est très faible (≤ -35 dB) pour toutes les valeurs de $\varphi \in [0 ; 360^\circ]$ à $f=100$ et 200 MHz. Pour la fréquence 500 MHz, le module du champ électrique rayonné est égal -7 dB. On en déduit que lorsque la fréquence augmente, le champ rayonné devient plus important à cause de la désadaptation de l'impédance et du système qui est ouvert et contient deux transitions métalliques. Comme nous l'avons montré avant, la cuvette est adaptée pour être utilisée avec des impulsions de durée de l'ordre de 10 ns. L'énergie contenue dans le spectre de l'impulsion à la fréquence 500 MHz est presque nulle. Nous déduisons que le risque d'affecter l'environnement matériel par rayonnement à cette fréquence est très faible.

IV.4.5. Débit d'absorption spécifique

Afin d'estimer la quantité de puissance absorbée dans le milieu biologique, la distribution de DAS est calculée. La valeur moyenne de DAS a été évaluée dans la solution en fonction de la fréquence pour une puissance incidente égale à 1 W (Figure III.50). Une variation significative de la valeur moyenne a été observée à partir de 500 MHz. Au-dessous de cette fréquence, la valeur moyenne du DAS est égale 1250 W/kg. Le volume du milieu exposé est égal à 0.8 mL (20 mm \times 10 mm \times 4 mm) et la densité volumique de la solution est égale 1000 kg/m³. Avec ces données la valeur du SAR obtenue par calcul analytique pour une puissance incidente 1 W est de l'ordre de 1250 W/kg. Cependant, cela ne signifie pas que la distribution de DAS est homogène dans la solution biologique.

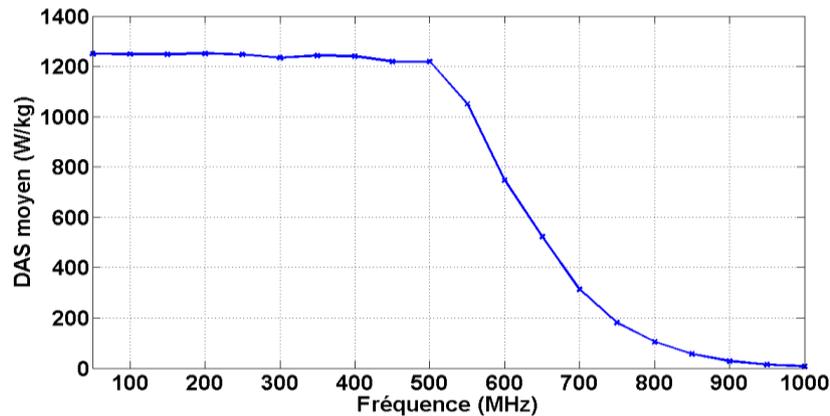
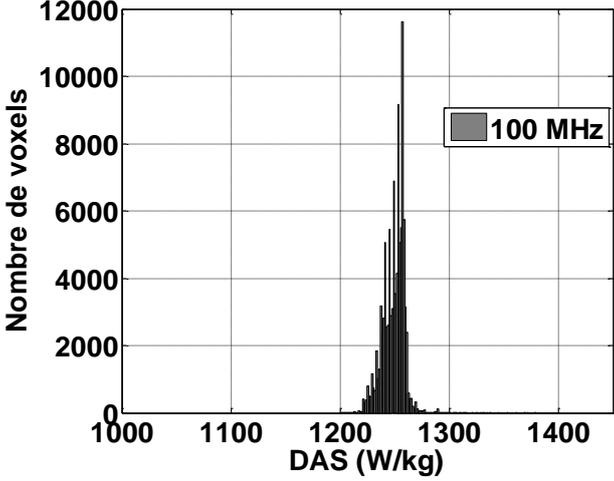
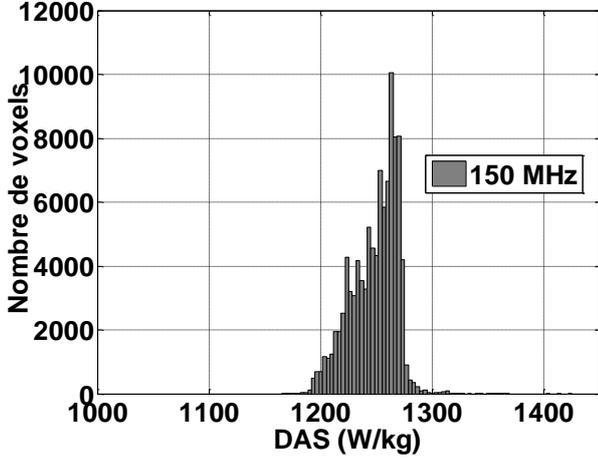
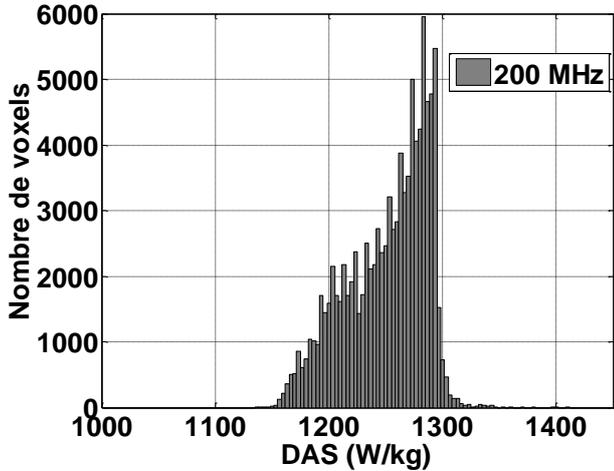


Figure III.50: Valeurs moyennes du DAS en fonction de la fréquence pour 1 W de puissance incidente

Pour mettre en évidence les hétérogénéités de DAS dans la solution biologique, les histogrammes représentant le nombre de voxels en fonction des valeurs du DAS à différentes fréquences (50 MHz - 300 MHz) sont montrés dans le tableau III.5. Ces derniers traduisent les niveaux d'exposition vus par la solution qui est modélisée par 100 000 voxels. Les valeurs de DAS moyen, l'écart-type (standard deviation en anglais - Sdt), la valeur de DAS maximum et minimum et la puissance dissipée sont également présentés dans le tableau III.4 :

Valeur moyenne : 1250 (W/kg)	
Std= 2.819	
Valeur minimale : 1234 (W/kg)	
Valeur maximale: 1303 (W/kg)	
Puissance dissipée : 0.997	

<p>Valeur moyenne : 1249 (W/kg)</p>	
<p>Sdt : 9.7</p>	
<p>Valeur minimale : 1201 (W/kg)</p>	
<p>Valeur maximale: 1379 (W/kg)</p>	
<p>Puissance dissipée : 0.9996</p>	
<p>Valeur moyenne : 1248 (W/kg)</p>	
<p>Sdt : 20</p>	
<p>Valeur minimale : 1167 (W/kg)</p>	
<p>Valeur maximale: 1423 (W/kg)</p>	
<p>Puissance dissipée : 0.9986</p>	
<p>Valeur moyenne : 1251 (W/kg)</p>	
<p>Sdt : 36</p>	
<p>Valeur minimale : 1136 (W/kg)</p>	
<p>Valeur maximale: 1466 (W/kg)</p>	
<p>Puissance dissipée : 0.9987</p>	

Valeur moyenne : 1247 (W/kg)	
Sdt : 55	
Valeur minimale : 1088 (W/kg)	
Valeur maximale: 1516 (W/kg)	
Puissance dissipée : 0.9985	
Valeur moyenne : 1234 (W/kg)	
Sdt : 78	
Valeur minimale : 1024 (W/kg)	
Valeur maximale: 1562 (W/kg)	
Puissance dissipée : 0.9978	

Tableau III.5 : Histogramme et valeur du DAS en fonction de la fréquence dans le milieu biologique placé dans la cuvette

Il en ressort que lorsque la fréquence augmente, la dispersion augmente (l'écart-type par rapport à la moyenne est de plus en plus grand). La dispersion est illustrée aussi sur les histogrammes. Aux BF (50 ; 100 MHz), un nombre important de voxels est concentré autour de la valeur 1250 W/kg alors que pour les HF un étalement plus important est constaté. Cela signifie que suivant la forme et le contenu spectral des impulsions, il est possible que les cellules biologiques ne voient pas la partie haute du spectre de la même façon suivant où elles se trouveront placées dans la cuvette.

V. CONCLUSION

Dans ce chapitre, la caractérisation électromagnétique d'appicateurs de type cuvette biologique utilisée par les biologistes pour la nanoporation a été proposée.

Dans une première partie, la caractérisation EM théorique et expérimentale d'un milieu biologique type a été brièvement présentée. Il en ressort que les propriétés EM (permittivité relative et conductivité) du milieu biologique varient avec la fréquence.

Puis, nous avons présenté l'étude d'un système d'exposition qui autorise l'acquisition de la température et des mesures de fluorescence lorsque l'échantillon biologique est exposé au signal microondes (MW) de fréquence 2.45 GHz avec une antenne coaxiale dans une cuvette spectrofluométrique. Nous avons modélisé l'appicateur comprenant la cuvette et l'antenne coaxiale pour étudier notamment la distribution de SAR. Une valeur de SAR moyenne dans l'ensemble du volume égale à 448 W/kg pour puissance incidente égale à 1 W est obtenue. Les valeurs de champ électromagnétique sont plus élevées à proximité de l'antenne.

Ensuite, les études théorique, numérique et expérimentale de la cuvette avec électrodes nous ont permis de caractériser ce type appicateur dans les deux domaines fréquentiel et temporel.

Nous avons vu que l'impédance équivalente de la cuvette varie en fonction de la fréquence et dépend des propriétés électromagnétiques et des dimensions géométriques. Cette étude a permis d'investiguer la bande passante de la cuvette. Les résultats obtenus montrent que, pour la configuration considérée, une bonne adaptation (≤ -10 dB) est obtenue jusqu'à environ 70 MHz.

En plus, cette analyse a montré que l'appicateur est adapté pour être utilisé avec des impulsions de durée 10 ns et limité aux impulsions de durée de l'ordre de 2-3 ns. La bande passante de la cuvette fixe également une limite à 1.5 ns sur les fronts de montée des impulsions. Les résultats de simulation et de mesures nous ont permis d'obtenir les valeurs des champs électriques dans la cuvette pour les différentes impulsions appliquées. La valeur du débit d'absorption spécifique (DAS) moyen dans la solution biologique a été évaluée à 1250 W/kg.

Afin de repousser la limite fréquentielle, des solutions basées entre autres sur l'utilisation d'une cuvette de basse impédance et d'une cellule triplaque TEM avec une cuvette à électrodes isolées sont investiguées dans la partie suivante.

VI. RÉFÉRENCES

- [1]. F. Combes, " Microondes: Lignes , guides et cavités", Donod 1996

- [2]. F. Szoka and D. Papahadjopoulos, "Procedure of preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation", Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Vol.75, pp. 4194-4198,1978.

- [3]. C. C. De Vequi-Suplicy, C. R. Benatti, and M. T. Lamy, "Laurdan in fluid bilayers: Position and structural sensitivity," Journal of Fluorescence, vol. 16, pp. 431-439, May 2006.

- [4]. G. Pakhomov, J. F. Kolb, J. A. White, R. P. Joshi, S. Xiao, and K. H. Schoenbach, "Long-lasting plasma membrane permeabilization in mammalian cells by nanosecond pulsed electric field (nsPEF)," Bioelectromagnetics, vol. 28, pp. 655-663, Dec 2007.

CHAPITRE IV : APPLICATEUR MICRODISPOSITIF

I. INTRODUCTION

Dans le chapitre précédent, nous avons étudié la cuvette biologique à deux électrodes en précisant ses limites de fonctionnement vis-à-vis des impulsions appliquées.

Ce chapitre est composé de deux parties.

La première consiste en l'étude des solutions qui permettent d'augmenter la bande passante de la cuvette afin de l'utiliser avec des impulsions plus courtes. Pour cela, deux axes sont explorés. Un premier consiste à utiliser une cuvette de basse impédance avec une solution de conductivité électrique plus grande que dans le cas d'une solution 50Ω . Ceci permettra a priori d'avoir un comportement résistif constant sur un spectre fréquentiel plus large. La cuvette basse impédance est reliée à un générateur dont l'impédance interne est égale à celle de la cuvette. La seconde solution est basée sur l'utilisation d'un applicateur constitué d'une cuvette biologique introduite dans un dispositif large bande type cellule triplaque TEM.

Enfin, la deuxième partie du chapitre sera essentiellement consacrée à l'étude d'un autre type d'applicateur nommé « microdispositif biopuce ». Cet applicateur basé sur la géométrie de ligne de transmission coplanaire et ayant des petites dimensions est utilisé pour des applications microfluidiques afin de faire des nanomanipulations des cellules biologiques.

II. REPOUSSEMENT DE LA LIMITE FRÉQUENTIELLE DE LA CUVETTE : BASSE IMPÉDANCE

Dans le chapitre précédent, nous avons prouvé que la bande passante de la cuvette est limitée par le comportement du milieu biologique. Afin d'augmenter la limite en fréquence, nous avons proposé d'utiliser une solution biologique dont la conductivité est plus grande. De plus, une conductivité plus grande favorise la viabilité des cellules biologiques dans leur milieu de culture.

Un système d'exposition, figure IV.1, composé d'une cuvette 10Ω connectée à un générateur d'impédance interne 10Ω est étudié dans cette partie. La même configuration de cuvette que celle utilisée précédemment est considérée. Pour obtenir une impédance équivalente BF égale à 10Ω , la conductivité électrique est fixée à 1.5 S/m .

Le générateur d'impédance 10Ω , associant une technologie microruban et des photocommutateurs commandés par une source laser, est capable de produire des impulsions de durée de l'ordre de quelques nanosecondes et d'amplitude de l'ordre de kV. La forme de

l'impulsion électrique délivrée peut être carrée ou bipolaire et dépend de la longueur de la ligne microruban. Le principe de ce type de générateur est expliqué plus en détails dans le deuxième chapitre. Le générateur est relié à la cuvette à l'aide de deux plaques métalliques soudées de part et d'autre de la carte. La figure IV.1 montre le schéma du générateur et la cuvette avec les dimensions correspondantes.

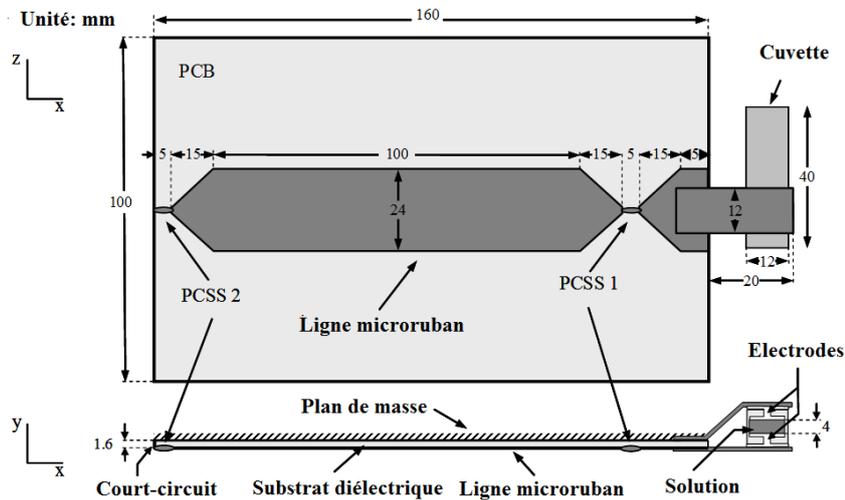


Figure IV.1 : Schéma du système d'exposition constitué du générateur 10Ω et la cuvette avec la connexion

Le système ci-avant est modélisé avec la méthode FDTD avec les dimensions notées ci-dessus. La figure IV.2 illustre la forme de l'impulsion délivrée par le générateur 10Ω obtenue par la simulation FDTD. Une tension égale à 2 kV peut être obtenue pour un fonctionnement sans pertes de propagation dans la ligne microruban. L'impulsion de forme rectangulaire a une largeur à mi-hauteur égale à 2 ns.

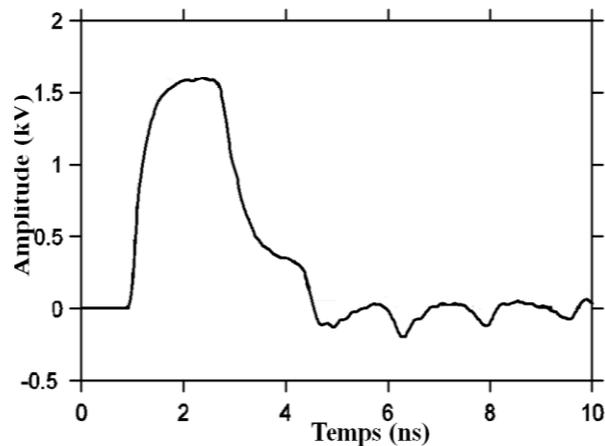


Figure IV.2: Impulsion délivrée par le générateur 10Ω obtenue par la simulation FDTD

Dans la figure IV.3 (a), nous montrons le profil temporel de l'impulsion au niveau de la cuvette obtenu par mesure et par simulation. La tension est mesurée au niveau de la cuvette avec la sonde haute tension et affichée sur l'oscilloscope. Il en ressort que l'impulsion mesurée au niveau des électrodes est déformée par rapport à celle qui est délivrée par le générateur (figure IV.2). Les fronts de montée sont dégradés à cause de l'impédance de la cuvette illustrée dans la figure IV.3 (b).

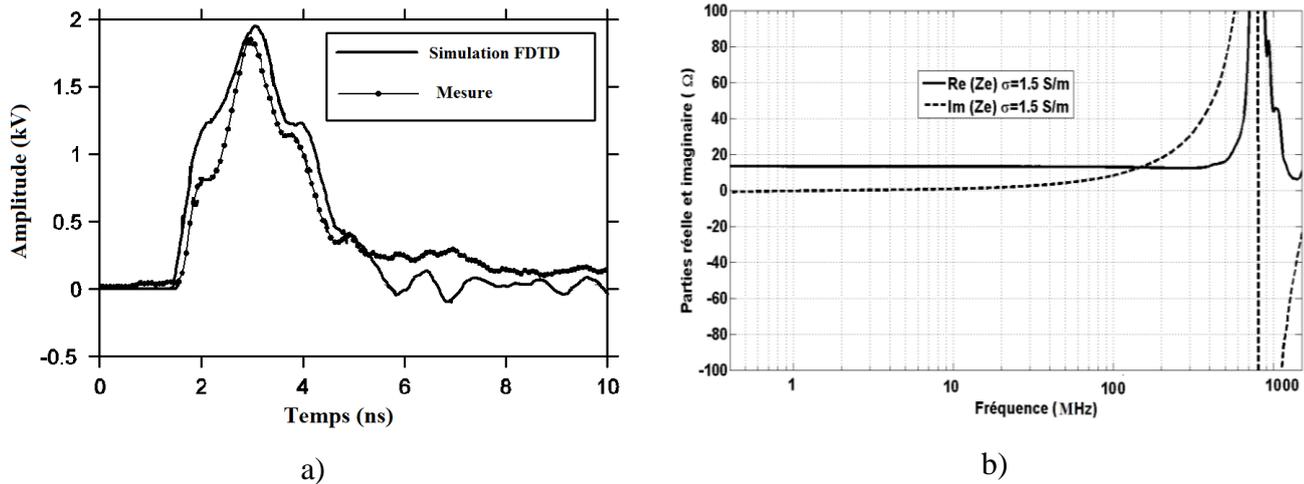


Figure IV.3 : a) Profil temporel de l'impulsion au niveau de la cuvette 10Ω par simulation et mesure,

b) Impédance de la cuvette en fonction de la fréquence par mesure

L'impédance montre un comportement résistif pur égal à 10Ω jusqu'à la fréquence 30 MHz. Ensuite, la partie réelle commence à varier et la partie imaginaire n'est plus nulle. Une résonance a lieu à la fréquence 800 MHz. Le contenu du spectre de l'impulsion reste non négligeable jusqu'à la fréquence 500 MHz. La variation de l'impédance en fonction de la fréquence cause la désadaptation aux hautes fréquences s'illustrant par la déformation des fronts montés et par l'augmentation de l'amplitude de l'impulsion au niveau de la cuvette (2 kV) par rapport à celle délivrée par le générateur (1.6 kV) montrée dans la figure IV.2.

Même si la cuvette 10Ω ne permet pas l'application des impulsions les plus courtes avec moins de pertes que la cuvette 50Ω , l'utilisation d'une cuvette basse impédance est préférable d'un point de vue biologique. En plus, la partie générateur demande à être optimisée pour d'une part réduire la valeur de la résistance du composant et d'autre part limiter les désadaptations en haute fréquence. Pour réduire les pertes dues à la bande passante limitée de l'applicateur, une autre solution est étudiée ci-après.

III. CELLULE TRIPLAQUE TEM ET CUVETTE

Dans la partie précédente de ce chapitre, nous avons vu que la cuvette biologique à électrodes devait être reliée à travers un câble de transmission pour y injecter l'impulsion appliquée. Afin d'éviter d'éventuels couplages destructifs ou rayonnements de la structure câble-cuvette, l'utilisation d'une cellule TEM pour l'application des impulsions est étudié ci-après. Une cellule TEM (figure IV.4) est une ligne de transmission de forme rectangulaire contenant une plaque métallique appelée 'septum', et plus étroite que les plaques métalliques extérieures qui sont reliées à la masse. Cette cellule est capable de générer des champs électriques et magnétiques, uniformes et perpendiculaires (mode TEM), dans une zone dite de test ou volume d'essai. La cellule TEM est caractérisée par sa structure guidante et elle peut être adaptée sur une large bande de fréquence. L'énergie se propage le long de la ligne pour être dissipée dans une charge.

La cuvette est insérée entre le septum et une face métallique de la cellule TEM (figure IV.4). L'objectif de cette partie est d'étudier le comportement de l'ensemble cellule TEM-cuvette dans les domaines fréquentiel et temporel. Nous cherchons à savoir si la cellule TEM présente d'autres avantages à part la réduction de l'encombrement et l'évitement d'utiliser des câbles dénudés.

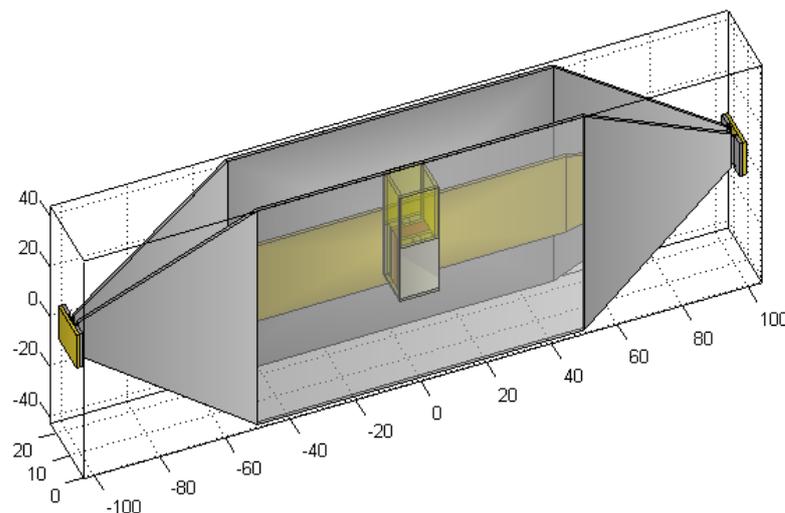


Figure IV.4: Cellule TEM avec une cuvette placée entre le septum et la masse

III.1. Caractérisation fréquentielle

III.1.1. Exposition par conduction : contact électrodes-solution

Dans cette partie, nous présentons la caractérisation fréquentielle du système composé de la cellule TEM et la cuvette à électrodes en contact avec le milieu exposé. La caractérisation est faite à l'aide de l'analyseur de réseau vectoriel en mesurant le coefficient de réflexion à l'entrée du système. L'impédance d'entrée est calculée à partir du coefficient de réflexion afin de voir l'influence de la cuvette sur l'impédance de la cellule TEM qui est à priori un système large bande. La cellule TEM utilisée dans les mesures est adaptée jusqu'à la fréquence 2.5 GHz.

La figure IV.6 montre le module du coefficient de réflexion de la cellule TEM chargée avec une impédance 50Ω en sortie en fonction de la fréquence pour trois cas différents. La figure IV.5 illustre les trois cas analysés qui correspondent à : la cellule TEM vide, la cellule TEM contenant une cuvette vide et cellule TEM contenant une cuvette remplie d'une solution d'impédance équivalente BF égale à 50Ω . Le coefficient de réflexion d'une cuvette 50Ω montré dans le chapitre III est également tracé pour comparaison.

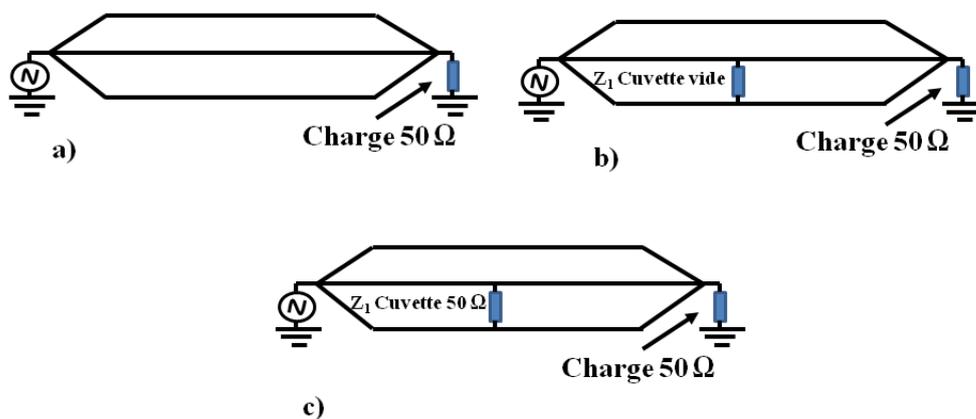


Figure IV.5: a) Cellule TEM vide, b) Cellule TEM avec la cuvette vide, c) Cellule TEM avec la cuvette remplie d'une solution 50Ω

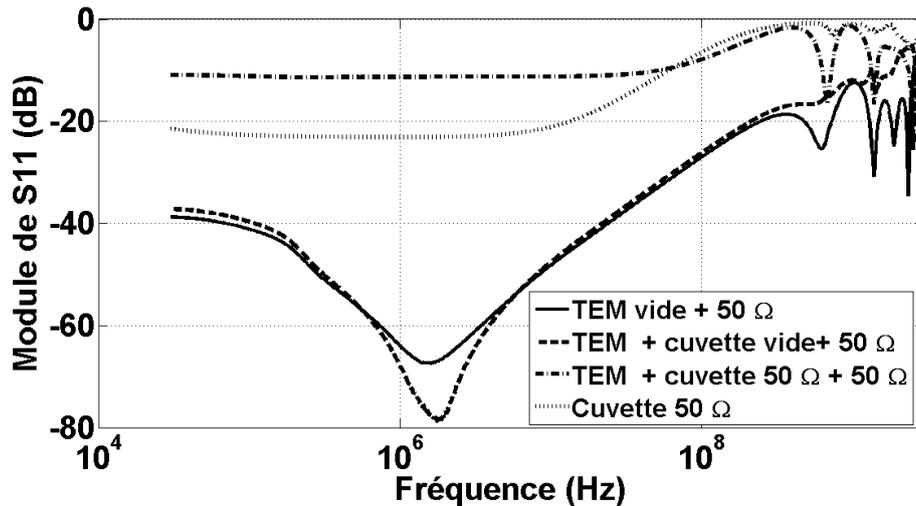
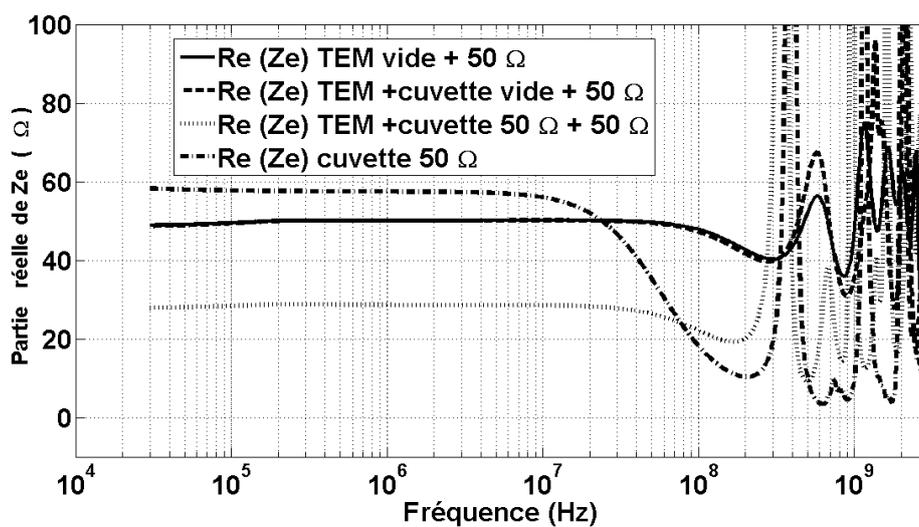


Figure IV.6: Module de S_{11} pour la cellule TEM avec la cuvette à électrodes en contact

Les résultats montrent des valeurs similaires pour les coefficients de réflexion de la cellule TEM à vide et de la cellule TEM avec la cuvette vide. En BF, une bonne adaptation est constatée pour ces deux cas ($|S_{11}| < -20$ dB). Lorsque la cellule TEM contient la cuvette remplie de solution 50Ω , le module $|S_{11}|$ est égal à -11 dB en BF. Le niveau d'adaptation se dégrade par rapport au cas de la cuvette seule reliée avec le câble de transmission (-24 dB). Cette désadaptation a deux causes : la limitation de la bande passante de la cuvette imposée par le comportement du milieu biologique et l'impédance équivalente du système n'est plus égale à 50Ω .

La figure IV.7 (a) et (b) montre les parties réelles et imaginaires de l'impédance d'entrée pour les quatre cas précédents.



a)

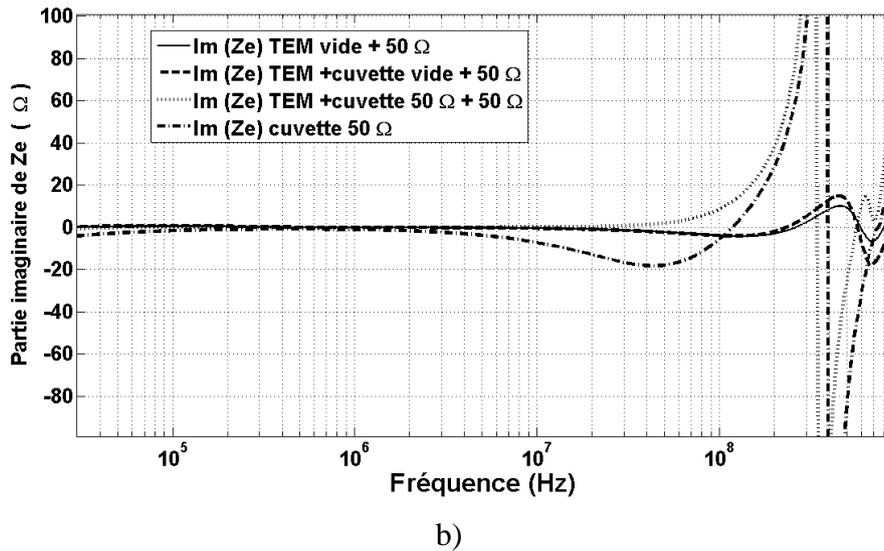


Figure IV.7: Impédance pour la cellule TEM avec la cuvette à électrodes en contact : a) Partie réelle, b) Partie imaginaire

Nous retrouvons une variation similaire pour l'impédance de la cellule TEM vide et celle de la cellule TEM avec la cuvette vide. La bande passante n'a pas changé et reste limitée par la fréquence de transition spécifique au milieu biologique. D'autre part, la partie réelle de l'impédance de la cellule TEM contenant une cuvette remplie de solution 50 Ω et chargée au bout avec une impédance 50 Ω présente un comportement BF résistif pur ($\sim 25 \Omega$). Cette valeur est compatible avec l'impédance équivalente donné par le circuit électrique (figure IV.8) qui correspond à deux charges 50 Ω branchées en parallèle.

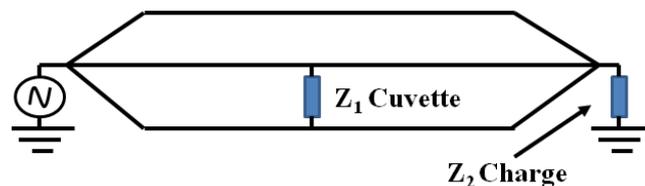


Figure IV.8: schéma équivalent de la cellule TEM avec la cuvette et la charge

Pour avoir une impédance équivalente égale à 50 Ω , nous avons proposé de charger le système cellule TEM-cuvette 50 Ω par un circuit ouvert (figure IV.9).

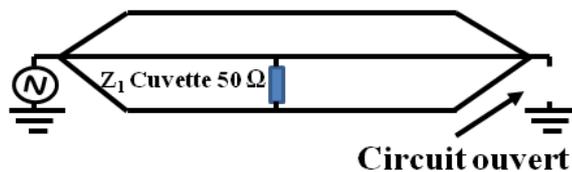


Figure IV.9: Cellule TEM chargée à circuit ouvert en sortie avec la cuvette remplie d'une solution 50 Ω

La figure IV.10 (a) et (b) montre que la partie réelle de l'impédance équivalente est égale 66Ω lorsque la cellule TEM est chargée par un CO. L'impédance équivalente n'est pas égale à 50Ω comme attendu théoriquement à cause du circuit ouvert. En effet, l'onde incidente qui se propage dans la cellule TEM réagit avec le milieu placé dans la cuvette, continue jusqu'au circuit-ouvert puis se réfléchit. Le module de S_{11} correspondant est de -17 dB en BF. Nous remarquons que la fréquence de transition n'a pas été changée.

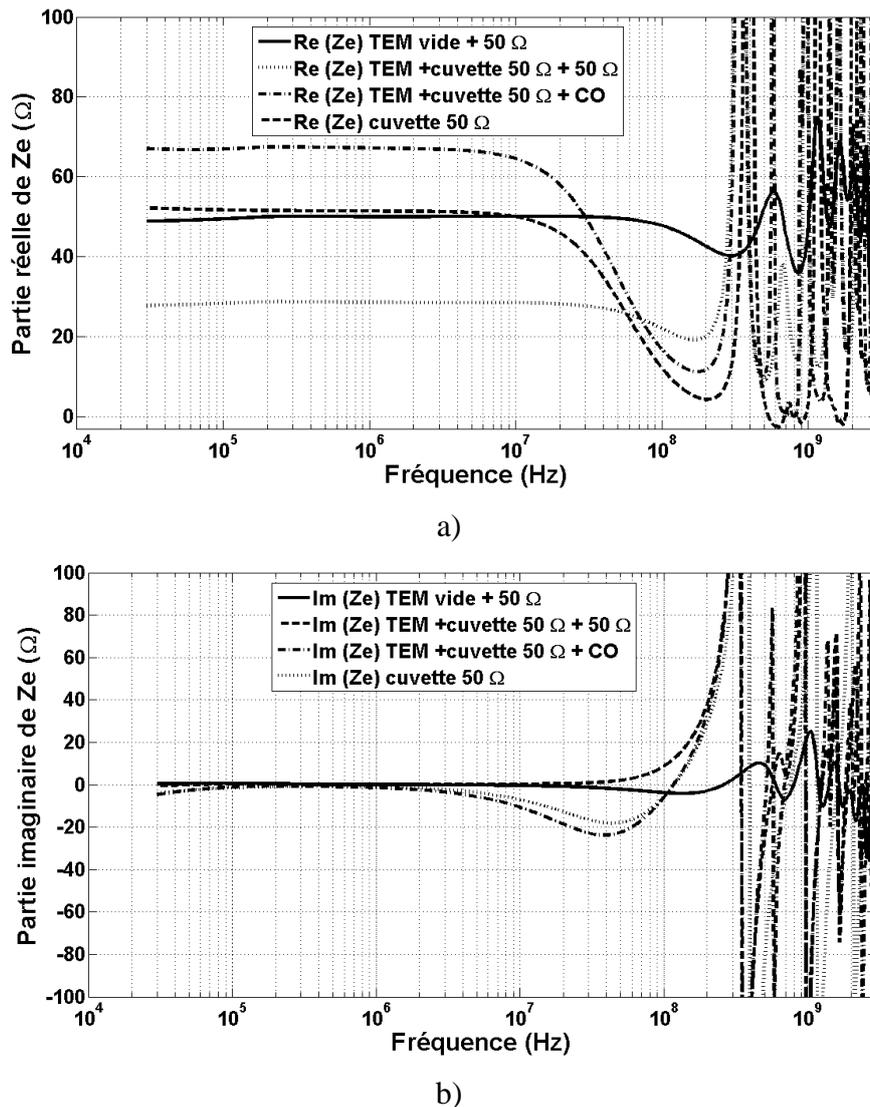


Figure IV.10: Impédance pour la cellule TEM avec la cuvette à électrodes en contact d'impédance équivalente 50Ω a) Partie réelle, b) Partie imaginaire.

Ensuite, nous avons proposé deux autres configurations afin obtenir une impédance équivalente égale à 50Ω (figure IV.11). La première consiste à introduire dans la cellule TEM une cuvette 100Ω ($\sigma = 0.15$ S/m) et la charger par une résistance 100Ω . La deuxième consiste à mettre deux cuvettes 100Ω de part et d'autre du septum dans la cellule TEM chargée par un circuit ouvert. La figure IV.12 montre le module du coefficient de réflexion

$|S_{11}|$ en fonction de la fréquence pour les deux configurations décrites et est comparé à celui de la cuvette 100 Ω toute seule. Les résultats montrent que le module de S_{11} est presque égal à -19 dB aux basses fréquences pour les deux cas de la cellule TEM alors qu'il vaut -8 dB pour la cuvette 100 Ω seule. Donc, à partir d'une solution non adaptée, nous avons obtenu un système adapté aux basses fréquences. En revanche, il n'y a pas une amélioration au niveau de la bande passante qui reste donc toujours limitée par les propriétés du milieu biologique.

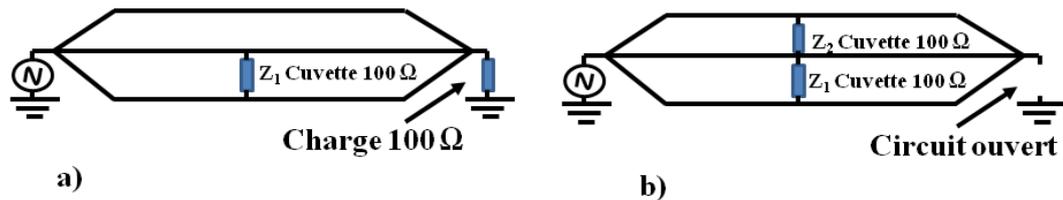


Figure IV.11: a) Cellule TEM chargée à 100 Ω en sortie avec la cuvette remplie d'une solution 100 Ω ,

b) Cellule TEM chargée à en circuit ouvert Ω en sortie avec 2 cuvettes remplies d'une solution 100 Ω

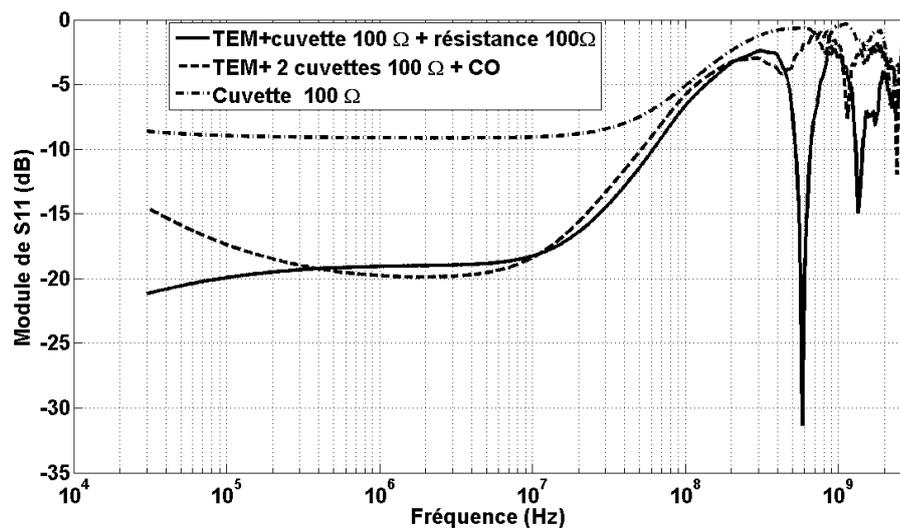


Figure IV.12 : Module du coefficient de réflexion de la cellule TEM avec la cuvette d'impédance 100 Ω

Pour résumer, le système composé de la cellule TEM avec la cuvette biologique à électrodes en contact avec la solution a été caractérisé. Nous n'avons pas obtenu des avantages au niveau de la bande passante par rapport à celle de la cuvette seule reliée avec un câble de transmission. Afin de repousser la limite en fréquence de la bande passante, nous avons envisagé une solution consistant à utiliser la cellule TEM avec la cuvette à électrodes isolées (sans contact avec la solution).

III.1.2. Exposition par électrodes isolées:

Lorsque le milieu biologique est exposé à un champ électrique, le courant total alors créé est:

$$\vec{J} = j\omega\varepsilon \vec{E} + \sigma \vec{E} = \varepsilon \frac{d\vec{D}}{dt} + \sigma \vec{E} \quad \text{Équation IV-1}$$

Ce courant est composé de deux parties : le courant de conduction ($j=\sigma \times E$) et le courant de déplacement (ou diffusion) $\varepsilon \frac{d\vec{D}}{dt}$.

La configuration avec une cuvette biologique à électrodes en contact (figure IV.13) avec la solution étudié précédemment est basée sur le phénomène de conduction. Le courant majoritaire résultant dans ce cas est dû au déplacement des ions et dépend du champ électrique appliqué et la conductivité du milieu exposé.

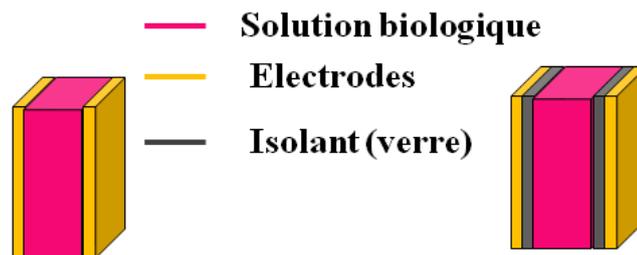


Figure IV.13: Electrodes en contact avec la solution et électrodes isolées

Dans le cas de la cuvette avec des électrodes isolées du milieu biologique, le courant majoritaire est le courant de déplacement. Il est dû au déplacement des dipôles dans le milieu

et dépend du terme $\frac{d\vec{E}}{dt}$.

Le module du coefficient de réflexion du système cellule TEM-cuvette à électrodes isolées a été mesuré et comparé à celui de la cuvette en contact avec la solution (figure IV.14)

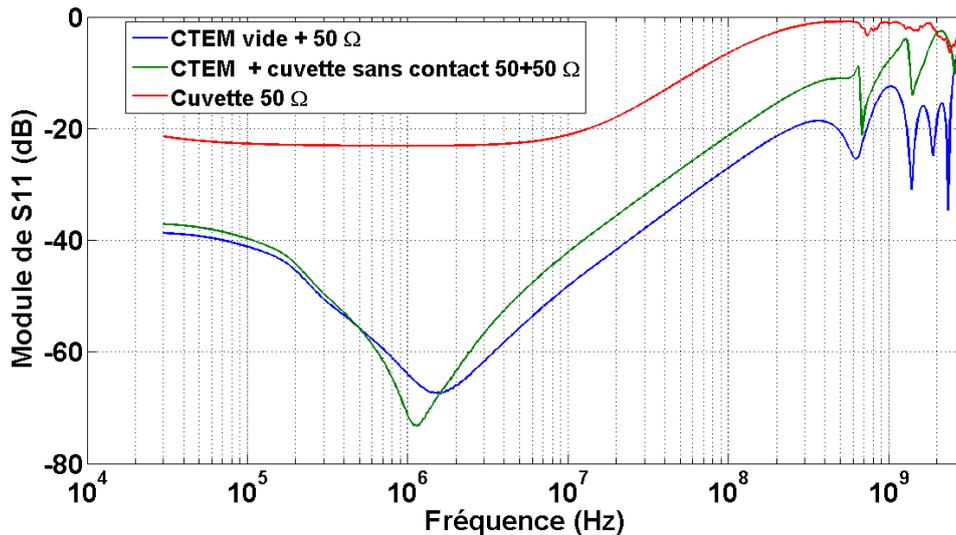


Figure IV.14 : Module du coefficient de réflexion pour a) la cellule TEM à vide chargée 50 Ω, b) la cellule TEM avec la cuvette 50 Ω à électrodes isolées, c) la cuvette 50 Ω à électrodes

Le coefficient de réflexion pour la cellule TEM avec la cuvette à électrodes isolées est légèrement différent que celui de la cellule TEM à vide. Il reste inférieur à -20 dB jusqu'à la fréquence 115 MHz et inférieur à -10 dB jusqu'à la fréquence 615 MHz. La bande passante à -10 dB de la cuvette 50 Ω ($\sigma = 0.31$ S/m) à électrodes en contact est de 70 MHz. Il en ressort que la bande passante du système constitué de la cellule TEM avec une cuvette à électrodes isolées est beaucoup plus large que celui avec la cuvette à électrodes en contact.

Un bilan de puissance est ensuite effectué sur cette configuration afin de quantifier l'énergie absorbée dans le milieu. Le module du coefficient de réflexion traduit le pourcentage de puissance réfléchié par rapport à la puissance incidente. Le pourcentage de puissance transmise par rapport à la puissance incidente dans la cellule TEM est obtenu avec le coefficient de transmission S_{21} . L'onde incidente se propage dans la cellule TEM vers la cuvette et réagit avec le milieu qui absorbe une partie de la puissance transmise. La puissance absorbée, normalisée pour 1 W incident, par le milieu biologique sera évaluée avec l'équation IV.2 :

$$P_{\text{absorbée normalisée}} = 1 - |S_{11}|^2 - |S_{21}|^2 \quad \text{Équation IV-2}$$

Des mesures de paramètres S_{11} et S_{21} ont été effectuées pour la cellule TEM avec une cuvette à électrodes isolées remplie de deux solutions différentes ($\sigma = 0.31$ S/m et $\sigma = 1.5$ S/m). Ces mesures sont comparées à la cuvette à électrodes isolées seule reliée à travers un câble de transmission. Les résultats montrent que le coefficient de réflexion (figure IV.15) est identique en BF pour les deux solutions considérées ($\sigma = 0.31$ S/m et $\sigma = 1.5$ S/m). La

variation de la conductivité ne modifie pas l'adaptation du système ($S_{11} < -10$ dB jusqu'à 300 MHz). Pour la cuvette à électrodes isolées reliée avec un câble de transmission, le coefficient de réflexion est autour de 0 dB (réflexion totale).

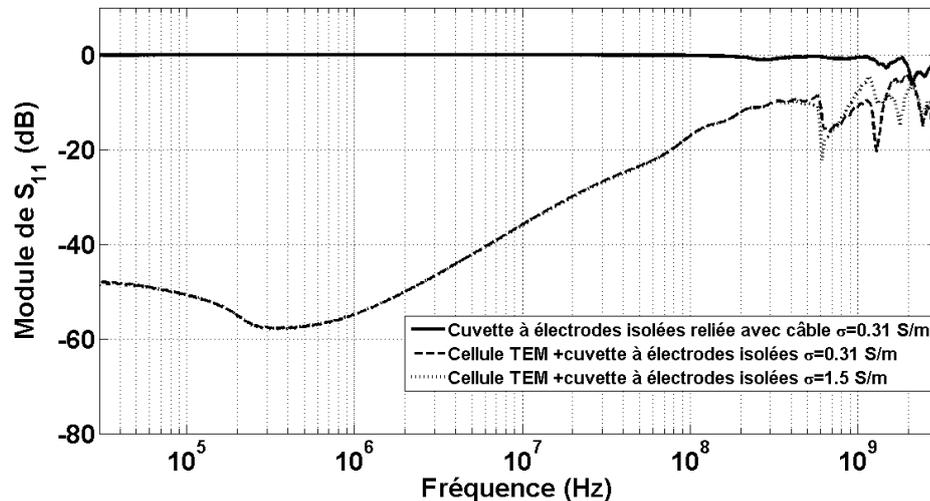


Figure IV.15 : Module du coefficient de réflexion de la cuvette à électrodes isolées pour $\sigma = 0.31$ S/m, la cellule TEM avec la cuvette 50Ω à électrodes isolées pour $\sigma = 0.31$ S/m, la cellule TEM avec la cuvette 50Ω à électrodes isolées pour $\sigma = 1.5$ S/m.

La figure IV.16 montre le coefficient de transmission pour les deux cas précédents (cellule TEM et cuvette à électrodes isolées remplie de deux solutions différentes). Le module du coefficient de transmission est supérieur à -1 dB jusqu'à la fréquence 500 MHz. Ce qui veut dire qu'au moins 80% de la puissance incidente est transmise vers l'intérieur de la cellule TEM dans cette bande. De même pour le coefficient de réflexion, le coefficient de transmission n'a pas changé lorsque la conductivité électrique du milieu change.

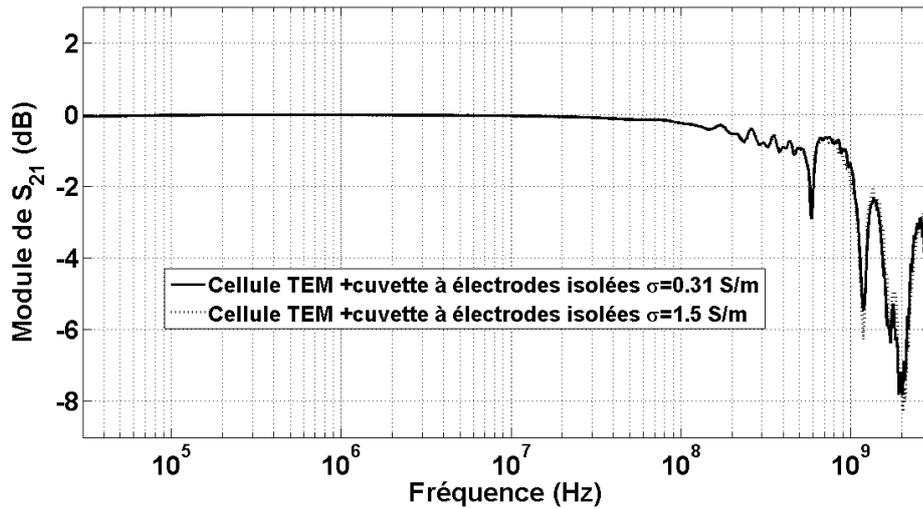


Figure IV.16: Puissance transmise la cellule TEM avec la cuvette 50 Ω à électrodes isolées

La figure IV.17 montre la puissance absorbée par le milieu biologique en fonction de la fréquence pour les deux cas. Nous remarquons que la puissance absorbée est la même pour les deux solutions différentes ; elle est faible aux basses fréquences et augmente avec la fréquence. Ceci est dû au fait que le courant de déplacement est majoritaire et le courant de conduction est faible. En effet, en BF le comportement du milieu biologique est plutôt conducteur et le courant de conduction qui dépend de la conductivité étant faible, la puissance absorbée correspondante est faible (< -10 dB jusqu'à 100 MHz). Lorsque la fréquence augmente, le comportement du milieu devient diélectrique et la puissance absorbée augmente (> -5 dB pour $f > 300$ MHz).

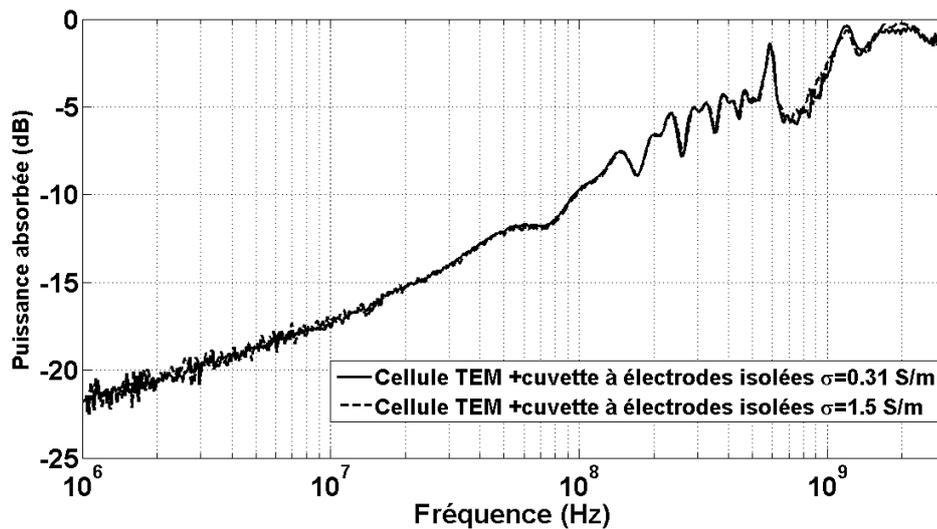


Figure IV.17: Puissance absorbée normalisée la cellule TEM avec la cuvette 50 Ω à électrodes isolées

Après l'étude fréquentielle de différentes solutions envisagées pour l'élargissement de la bande passante de l'appicateur, des mesures temporelles sont effectuées avec un générateur d'impulsions basse tension.

III.2. Mesure temporelle

Dans cette partie, nous avons effectué des mesures avec le générateur « Pulse lab » délivrant des impulsions de durée 10 ns et d'amplitude 946 mV.

La figure IV.18 montre les signaux mesurés à la sortie du tap off pour la cellule TEM vide, la cellule TEM avec la cuvette d'impédance 50 Ω et enfin la cellule TEM avec la cuvette d'impédance 50 Ω chargée avec un circuit ouvert. Pour les deux premiers cas, une charge 50 Ω ferme l'accès de sortie de la cellule TEM. L'impulsion au niveau de la cuvette n'a pas été mesurée à cause de la difficulté d'accès de la sonde aux électrodes de la cuvette placée dans la cellule TEM.

A partir de ces mesures, les signaux réfléchis des trois cas sont comparés. Les résultats montrent que pour le cas de la cellule TEM vide, le signal réfléchi est presque nul avec des réflexions de niveaux faibles correspondant aux fronts de montée de l'impulsion. Dans le cas de la cellule TEM avec la cuvette d'impédance 50 Ω , il y a des réflexions au niveau de la partie continue et des fronts de montée de l'impulsion. Ceci est dû au fait que l'impédance équivalente du système est presque égale à 25 Ω . Donc, l'impédance n'est pas adaptée avec celle du générateur sur tout le spectre. Enfin, lorsque la cellule TEM et la cuvette sont chargées par un circuit ouvert, l'impédance équivalente est presque 50 Ω . Nous avons toujours les réflexions au niveau des fronts de montée et de la réflexion dans la partie continue mais elle est moins importante que dans le cas précédent.

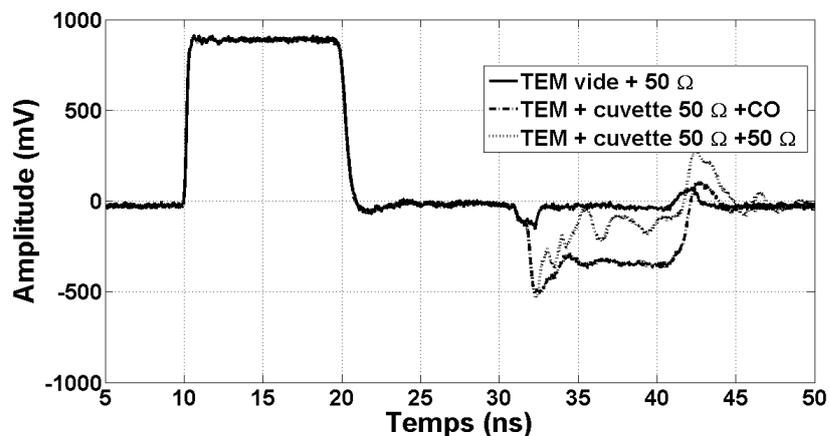


Figure IV.18: Impulsion mesurée au niveau du tap off pour la cellule TEM avec cuvette 50 Ω à électrodes en contact avec la solution

III.2.1. Conclusion

Pour résumer cette partie, le système constitué de la cellule triplaque TEM avec la cuvette biologique présente l'avantage d'éviter des connexions par fils métalliques et réduisent l'encombrement. Par contre, l'utilisation d'une cuvette avec des électrodes en contact avec la solution biologique dans la cellule TEM n'a pas présenté des avantages au niveau de la bande passante. Cette dernière est toujours limitée par la fréquence de transition entre le comportement résistif (σ) et le comportement diélectrique (ϵ).

Par contre, l'utilisation d'une cuvette avec des électrodes isolées de la solution biologique a montré que le système possède une bande passante beaucoup plus large que celle de la cuvette à électrodes en se servant de la cellule TEM qui est adaptée jusqu'à la fréquence 2.5 GHz. Dans ce cas, le courant de conduction dû à la conductivité est nul puisque les électrodes sont isolées. L'impédance équivalente du système ne dépend plus de la conductivité et le courant de déplacement qui est majoritaire. Enfin, le module du coefficient de transmission est supérieur à -1 dB jusqu'à la fréquence 500 MHz et celui du coefficient de réflexion est inférieur à -10 dB jusqu'à la fréquence 615 MHz.

IV. MICRODISPOSITIF : BIOPUCE

Les deux applicateurs étudiés dans les parties précédentes sont basés sur les cuvettes biologiques. Ce type de dispositif est utilisé pour exposer une population de cellules mises dans leur milieu de culture. Afin de procéder à la micromanipulation des cellules circulantes pour des applications microfluidiques, un système microdispositif basé sur la géométrie des lignes coplanaires a été proposé dans le cadre du projet « Nanopulsebiochip » soutenu par l'ANR.

Ce type d'applicateur a été initialement développé dans le cadre de la thèse de Julien Villemejeane à l'ENS cachan.

Cette géométrie présente l'avantage de la facilité de connexion au générateur d'impulsions électriques et la possibilité d'implémenter un système fluidique pour faire circuler d'une façon séquentielle les cellules exposées aux nanopulses entre les deux électrodes et les amener dans le champ de vision d'un microscope.

Le système d'exposition complet est constitué des parties suivantes (figure IV.19) :

- Générateur d'impulsions

- Le microdispositif « biopuce »

- Connectique entre générateur et biopuce

- Microscope

- Platine piézoélectrique et support

L'étude de ce système d'exposition est caractérisée par un aspect électromagnétique (génération, applicateur, adaptation d'impédance, champs électriques ...) et un aspect mécanique concernant le positionnement du microscope et des platines piézoélectriques. L'objectif de la partie suivante de notre étude est de faire la caractérisation électromagnétique de l'applicateur « microdispositif » en illustrant le comportement transitoire (réponse temporelle aux différents types d'impulsions appliquées) et le comportement fréquentiel concernant l'adaptation d'impédance, la distribution du champ électrique... Cette tâche est réalisée en s'appuyant sur la modélisation et la simulation numérique avec la méthode FDTD.

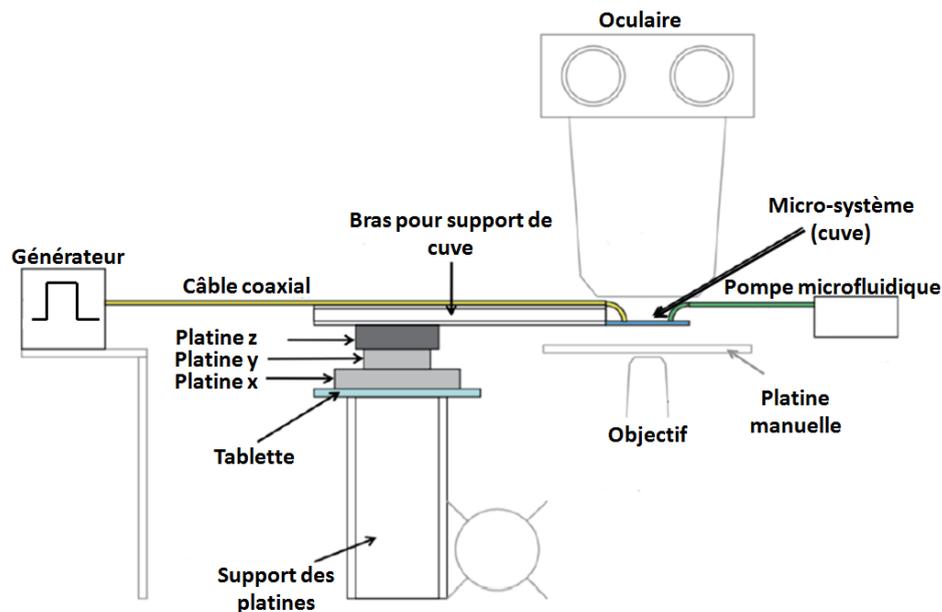


Figure IV.19: Système d'exposition « biopuce »

IV.1. Description du microdispositif

La forme générale de l'applicateur est basée sur la géométrie des lignes coplanaires (figure IV.20). Elle est formée de trois électrodes : une première située au centre (électrode 2) pour l'application de la tension et deux autres électrodes (électrodes 1 et 3) reliées à la masse. Deux canaux de largeur d espacés d'une distance e sont ainsi constitués. Les électrodes sont déposées sur un support en verre. Le milieu biologique est placé dans les canaux entre les électrodes.

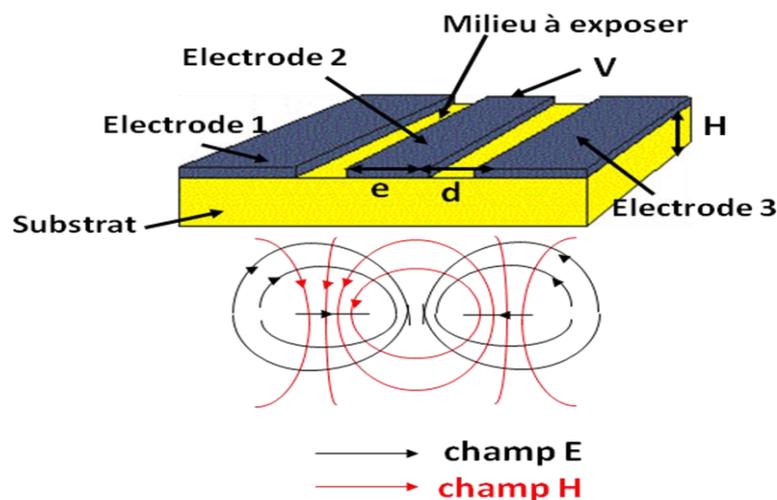


Figure IV.20: Ligne coplanaire

L'exposition des cellules biologiques aux impulsions électriques exige d'utiliser une transition de connectique entre le générateur et le microdispositif et nécessite que la structure

soit fermée à sa terminaison. Nous présentons dans cette partie un microdispositif modélisé (figure IV.21) avec la transition de connectique et les électrodes connectées pour avoir un canal continu et fermé.

La structure est composée de deux parties :

- Une première qui sert à connecter les électrodes à la connectique qui vient du générateur. Elle est constituée d'une transition N et des plaques métalliques appelées « Pad ».
- Une deuxième contenant les trois électrodes formant le canal où le milieu biologique sera placé. Le canal est fermé par des électrodes en forme de demi-cercle ajoutées au bout des électrodes planes rectangulaires.

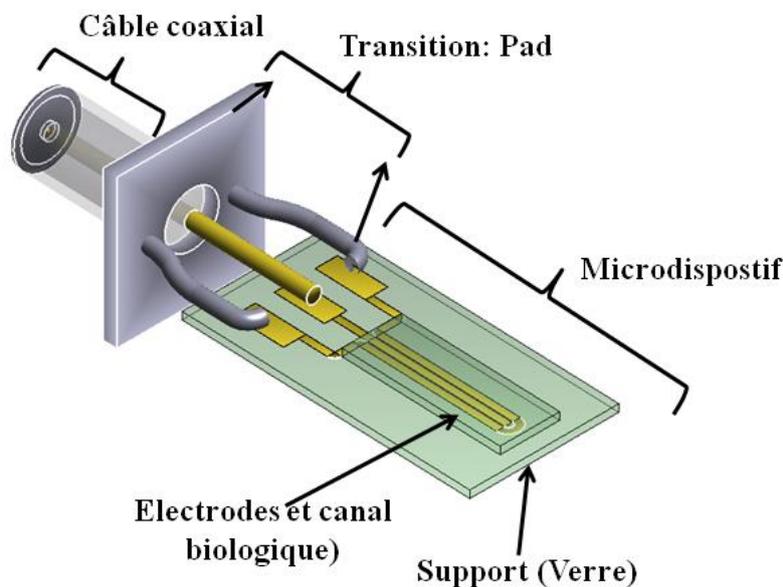


Figure IV.21: Structure modélisée de l'applicateur biopuce

Les faibles dimensions de ce système posent des contraintes technologiques (épaisseur des électrodes), des contraintes géométriques (longueur électrodes, largeur et forme, maillage...) et des contraintes électromagnétiques (impédance, adaptation, et réponse temporelle aux impulsions). Nous abordons dans la suite la caractérisation électromagnétique du microdispositif en suivant les étapes ci-dessous :

1. Adaptation du système en fonction de la fréquence en étudiant le coefficient de réflexion et l'impédance équivalente.

2. Réponse temporelle de l'applicateur aux impulsions de types monopolaire et bipolaire de différentes durées.
3. Distribution du SAR dans le milieu biologique en fonction de la fréquence.
4. Influence de la hauteur du canal biologique par rapport à celle des électrodes sur l'adaptation et la distribution du champ électrique

IV.2. Adaptation et Impédance

L'impédance d'un tel système dépend des permittivités du substrat sur lequel les électrodes sont réalisées et de celle du milieu entre les électrodes, ainsi que des largeurs de l'électrode et des écartements entre l'électrode centrale et les deux autres extérieures (figure IV.22). L'impédance équivalente aux basses fréquences est calculée à partir de l'équation IV.3 :

$$Z = \frac{1}{\sigma} \frac{e}{L \times h} \quad \text{Équation IV-3}$$

Avec :

- σ la conductivité du milieu biologique
- e la largeur du canal
- L la longueur des électrodes
- h la hauteur du canal

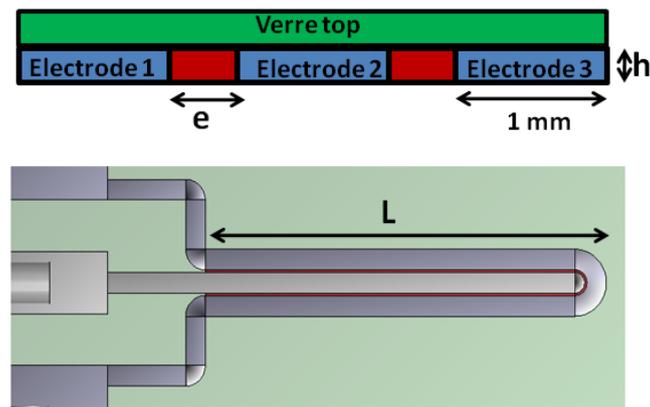


Figure IV.22: Schéma illustrant le microdispositif « biopuce » avec les paramètres géométriques

Les dimensions de la structure modélisée avec la méthode FDTD ont été choisies pour avoir une impédance 50Ω aux basses fréquences. La largeur des électrodes l_e est de 1 mm, l'épaisseur ou la hauteur h_e est de $60 \mu\text{m}$. La largeur du canal biologique (milieu biologique) e est de $120 \mu\text{m}$, sa hauteur h_c est de $60 \mu\text{m}$. Le microsystème est déposé sur une lame de verre (1 mm d'épaisseur) et refermé par une lamelle de verre ($170 \mu\text{m}$ d'épaisseur). Ces dimensions permettent d'insérer facilement le système dans l'espace restreint entre les différentes parties du microscope. La forme géométrique particulière et les dimensions utilisées nécessitaient un maillage variable de la structure modélisée. Un maillage fin ($50 \mu\text{m}$) sur les trois plans x, y et z sur les zones des électrodes et du milieu biologique est utilisé. En dehors des électrodes, les dimensions des mailles augmentent progressivement d'un facteur 1.15 jusqu'on obtient la valeur $200 \mu\text{m}$.

Le Tableau IV.1 reprend les caractéristiques diélectriques du système d'exposition modélisé et la gamme de variation de la taille des mailles FDTD dans le canal biologique :

Propriétés Milieux	Permittivité ϵ_r	Conductivité $\sigma(\text{S/m})$	Densité volumique $\rho(\text{Kg/m}^3)$
Verre	2.5	0	1
Téflon (diélectrique du câble)	2.2	0	1
Paroi métallique (électrodes)	0	∞	1

Milieu biologique	80	différent	1000
Maillage variable	$30 \mu\text{m} < \Delta x < 500 \mu\text{m}$	$30 \mu\text{m} < \Delta y < 500 \mu\text{m}$	$30 \mu\text{m} < \Delta z < 500 \mu\text{m}$

Tableau IV.1 : Propriétés diélectriques des éléments du système d'exposition modélisé

La figure IV.23 montre le microdispositif modélisé avec les dimensions pour deux vues, de dessus et en avant :

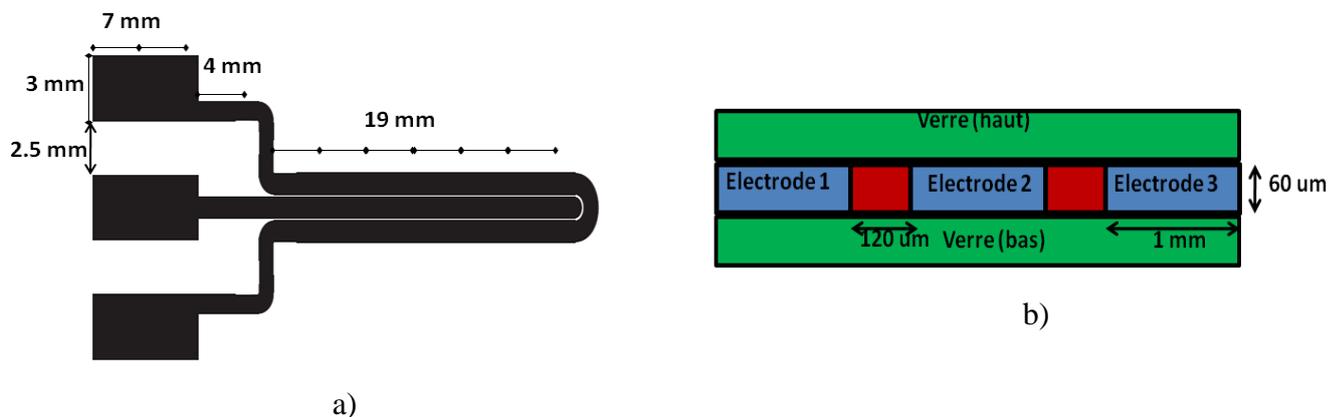


Figure IV.23 : Schéma du microdispositif modélisé avec les dimensions géométriques

La figure IV.24 montre le module du coefficient de réflexion de l'applicateur en fonction de la fréquence :

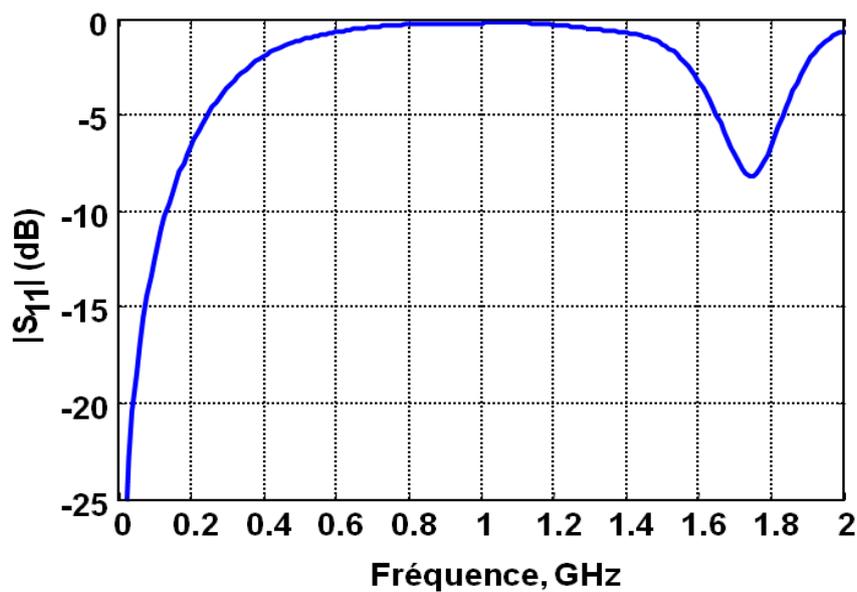


Figure IV.24: Module de S_{11} à l'entrée du microdispositif en fonction de la fréquence

Les résultats montrent une très bonne adaptation aux basses fréquences où le module de S_{11} reste inférieur à -10 dB jusqu'à la fréquence 150 MHz. Au dessus de cette fréquence, une forte remontée du coefficient de réflexion a lieu et il devient presque nul à 600 MHz. Ensuite le système n'est plus adapté à cause des propriétés électromagnétiques du milieu biologique qui varient en fonction de la fréquence. La conductivité électrique du milieu est égale à 1 S/m pour que le microdispositif présente 50 Ohms en BF. Les parties réelle et imaginaire de l'impédance équivalente par simulation en fonction de la fréquence sont illustrées dans la figure IV.25:

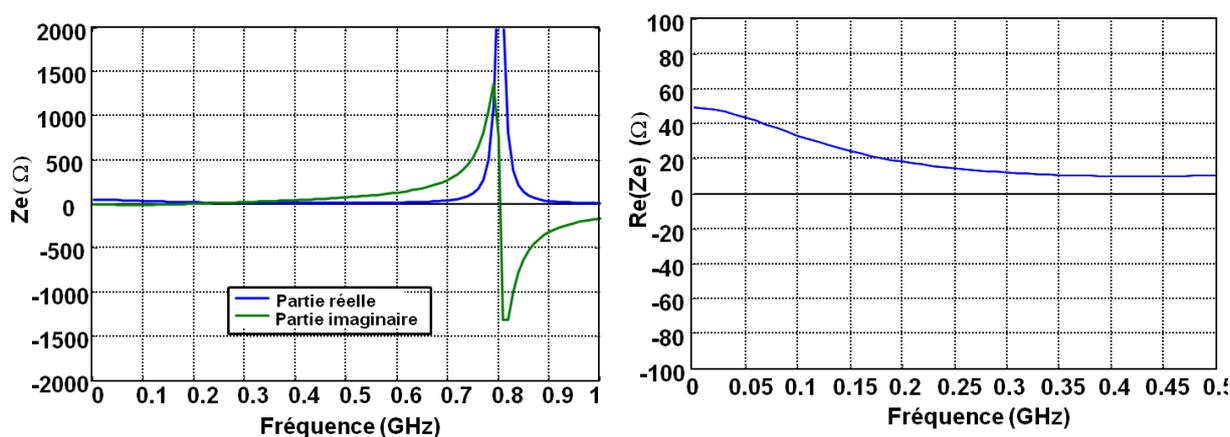


Figure IV.25: Impédance d'entrée du microdispositif en fonction de la fréquence

La partie réelle présente un comportement résistif aux basses fréquences en partant de la valeur 50 Ω . La valeur de la partie réelle devient égale à 24 Ω à 150 MHz et 12 Ω à 300 MHz. Ce qui fait que la variation de la partie réelle est inversement proportionnelle à la fréquence.

IV.3. Réponse temporelle aux impulsions :

Cette partie consiste à voir la réponse temporelle du microdispositif aux impulsions électriques générées. L'objectif est de comparer l'allure temporelle en termes de durée et d'amplitude au niveau des électrodes par rapport aux impulsions générées afin de trouver les limites de l'appicateur et proposer des solutions pour l'adapter avec des impulsions plus courtes. La figure IV.26 montre les types d'impulsions utilisées : impulsion monopolaire (10 ns, 3 ns) et bipolaire (3 ns) :

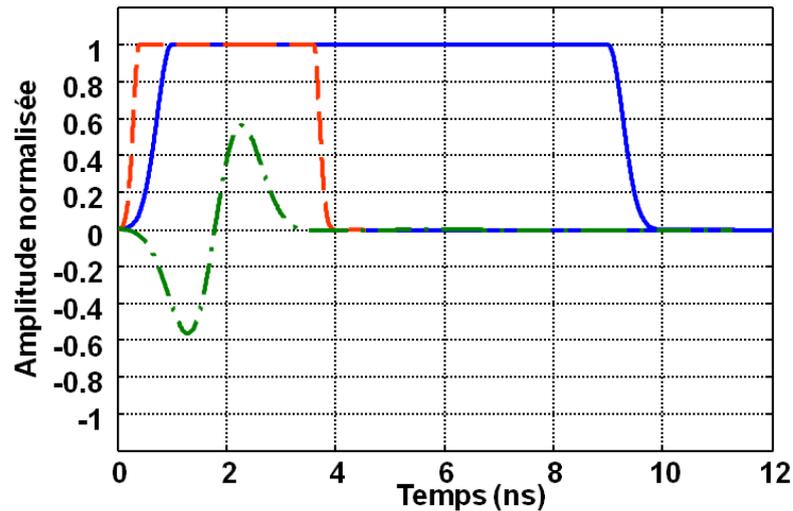


Figure IV.26 : Profil temporel des impulsions appliquées au microdispositif

IV.3.1. Impulsion monopolaire 10 ns

Dans ce cas, l'impulsion générée est de type rectangulaire de durée 10 ns ayant un temps de montée égal à 1 ns. La tension au niveau des électrodes en fonction du temps et tout au long de la structure est illustrée dans la figure IV.27.

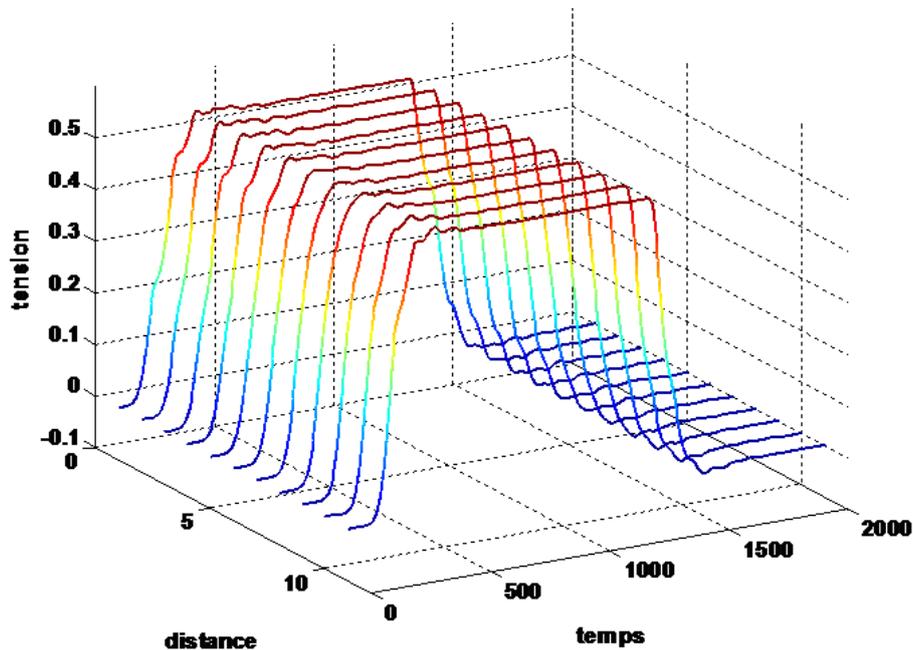


Figure IV.27: Impulsion 10 ns au niveau des électrodes en fonction du temps et tout au long de la structure
(adaptée BF)

Nous remarquons que l'impulsion a gardé le même profil temporel en fonction de la distance. Elle a gardé son amplitude et sa durée. L'amplitude initiale de l'impulsion d'excitation est de 1 V. L'amplitude de la tension appliquée aux électrodes est égale à 0.5 V

(pont diviseur de tension entre l'impédance interne du générateur et celle de l'applicateur). Le temps de montée est légèrement dégradé à cause de la désadaptation de l'impédance aux hautes fréquences (> 150 MHz).

IV.3.2. Impulsion monopolaire 3 ns

L'impulsion appliquée dans cette partie (Figure IV.28) est une impulsion rectangulaire ayant une durée égale à 3 ns et un temps de montée 500 ps. Ainsi, le contenu spectral est plus grand et il y aura une partie non négligeable du spectre située aux hautes fréquences où l'impédance n'est plus égale à 50Ω .

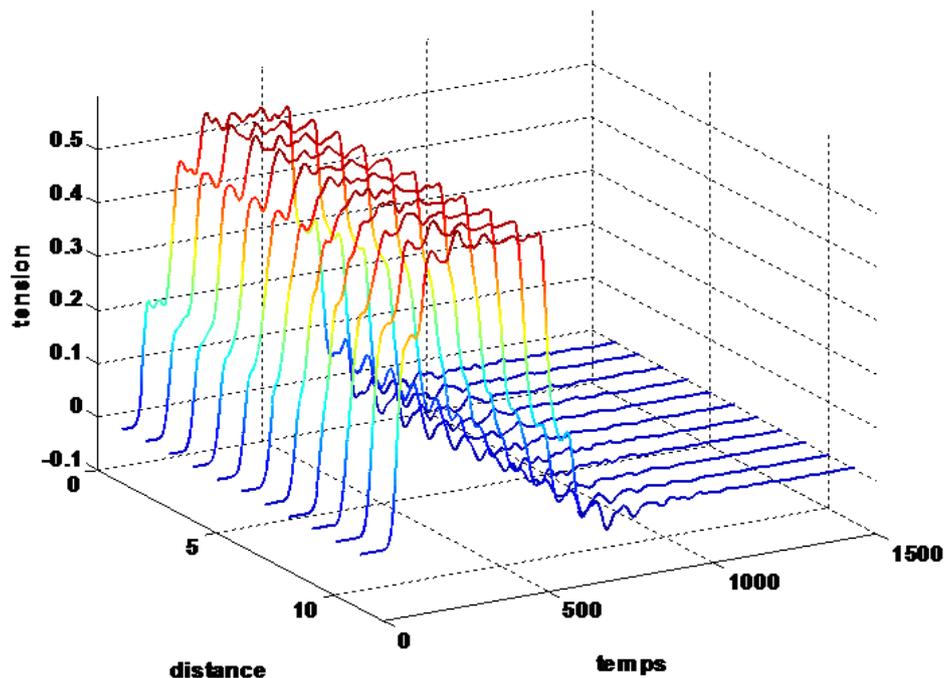


Figure IV.28 Impulsion rectangulaire 3 ns au niveau des électrodes en fonction du temps et tout au long de la structure (adaptée BF)

Le profil temporel des impulsions durant son parcours sur la structure montre une dégradation plus importante du front de montée et des déformations au niveau de la partie continue. Cette dégradation est due à la désadaptation de l'impédance aux hautes fréquences qui représentent les fronts de montée dans le domaine temporel. Cependant, la circulation de la tension sur la structure reste homogène et l'impulsion ne varie pas en fonction de la distance. Il en ressort que lorsqu'il y a une désadaptation, une partie de l'onde incidente est réfléchiée et le reste de l'énergie est transmis d'une façon homogène au niveau de l'applicateur.

IV.3.3. Impulsion bipolaire 3 ns

L'impulsion de type bipolaire est caractérisée par le fait que son spectre est centré à une fréquence f_0 qui dépend de la durée de l'impulsion. Dans le cas suivant (figure IV.29), l'impulsion appliquée est de type bipolaire de durée 3 ns de temps de montée égal à 500 ps.

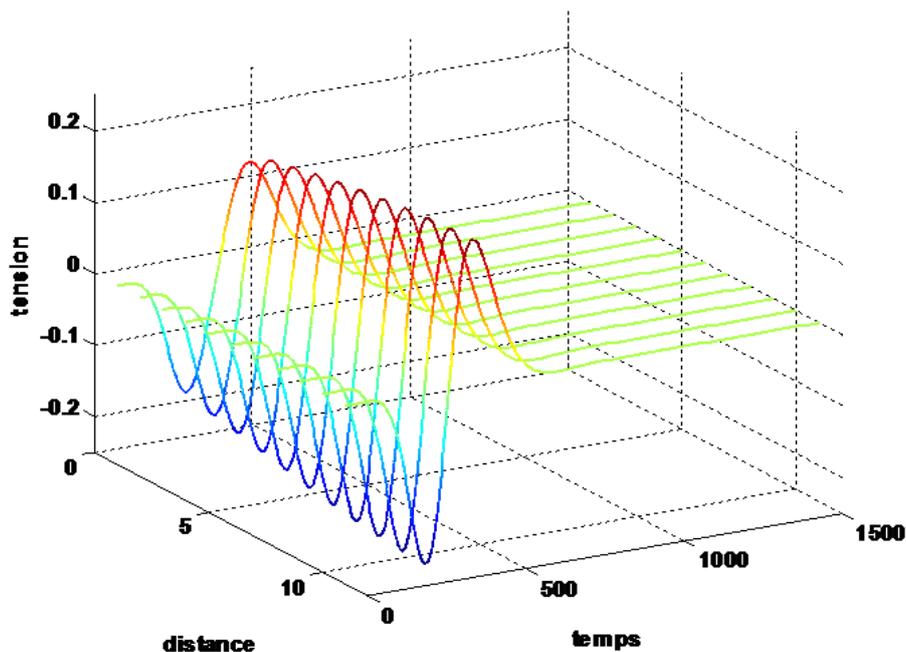


Figure IV.29 : Impulsion bipolaire 3 ns au niveau des électrodes en fonction du temps et tout au long de la structure (adaptée BF)

Les résultats obtenus montrent qu'on a une perte au niveau de l'amplitude et les deux polarités de l'impulsion n'ont plus les mêmes valeurs d'amplitude. La dégradation de l'amplitude et des temps de montée est due à la désadaptation de l'impédance aux hautes fréquences.

IV.4. Adaptation haute fréquence

Nous avons vu dans la partie précédente que le microdispositif est limité aux hautes fréquences à cause de la disparition du comportement résistif au-delà d'une fréquence égale à 20 MHz. En effet, la désadaptation aux fréquences élevées est bien mise en évidence au niveau de la dégradation des fronts de montée des impulsions monopolaires et de ceux de l'impulsion bipolaire ainsi que son amplitude.

Le comportement général de l'impédance en fonction de la fréquence est constitué de trois zones (figure IV.30) : Une première zone aux basses fréquences caractérisée par un

comportement résistif pur, une deuxième qui est la transition entre les comportements BF et HF due à la variation de la conductivité équivalente du milieu biologique en fonction de la fréquence. La troisième zone est formée des résonances. Puisque le spectre des impulsions courtes (< 3 ns) contient une partie haute fréquence et le spectre des impulsions bipolaires est centré à une fréquence f_0 entre 150 MHz et 400 MHz (pour une impulsion de durée 2-3 ns), il sera nécessaire d'adapter l'impédance du microdispositif dans cette plage de fréquence (150-400 MHz).

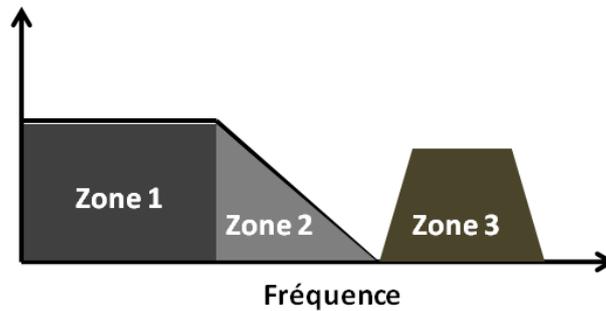


Figure IV.30 : Comportement général de l'impédance en fonction de la fréquence

La solution que nous avons envisagée pour adapter le système aux fréquences plus élevées est de faire un décalage dans la partie réelle de l'impédance pour avoir une valeur 50Ω dans la bande de fréquence souhaitée. Pour avoir une partie réelle égale à 50Ω à la fréquence 150 MHz, il faut qu'aux basses fréquences, l'impédance ait une partie réelle plus grande. Pour cela, comme l'impédance est inversement proportionnelle à la longueur du canal, nous avons divisé cette dernière par deux (figure IV.31).

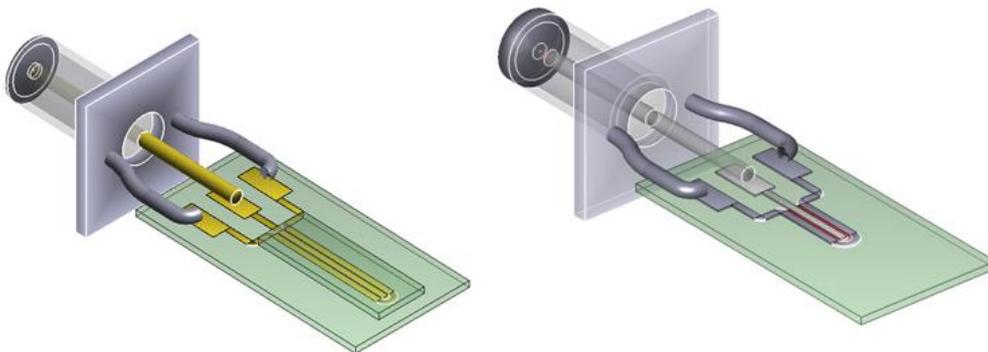


Figure IV.31 : Structure adaptée BF (gauche) et à f_0 (à droite)

La longueur du canal était égale à 40 mm et elle est devenue égale à 20 mm. La figure IV.32 montre les parties réelle et imaginaire de l'impédance en fonction de la fréquence. La partie réelle part de la valeur 115Ω aux basses fréquences. Elle devient égale à 50Ω à la fréquence 150 MHz et 22Ω à la fréquence 300 MHz. Donc, nous avons obtenu une

impédance égale à 50Ω à une fréquence 150 MHz et qui varie de part et d'autre de cette fréquence.

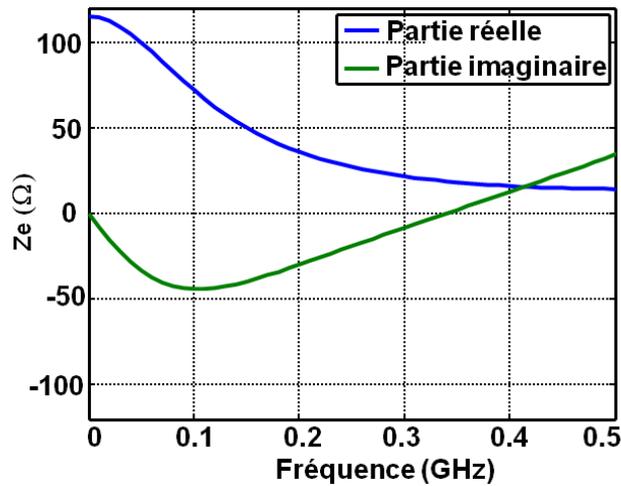


Figure IV.32 : Impédance du microdispositif adaptée à f_0

Afin de savoir l'influence du changement de l'impédance sur la bande passante, nous présentons dans la figure IV.33 le module du coefficient de réflexion en fonction de la fréquence :

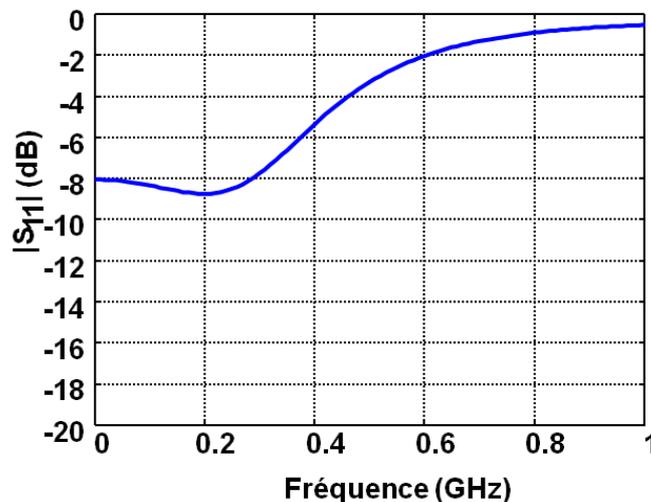


Figure IV.33 : module de S_{11} du microdispositif adaptée à f_0

Le module de S_{11} reste presque constant et inférieur à -8 dB jusqu'à la fréquence 250 MHz. Ce qui permet de dire que la bande passante du système est égale à 250 MHz à -8 dB. L'avantage dans ce cas est que le contenu spectral de l'impulsion reçoit la même atténuation jusqu'à la fréquence 250 MHz. Ainsi, il y a une bonne partie du spectre qui se réfléchit d'une façon homogène puisque le module de S_{11} est constant sur une large bande de fréquence. **Au** contraire, pour le cas précédent (impédance adaptée aux BF), le module de S_{11} présente une forte remontée en fonction de la fréquence (figure IV.23).

Après avoir modifié l'impédance du microdispositif et sa bande passante, nous présentons de nouveau sa réponse temporelle aux impulsions électriques que nous avons utilisées dans la partie précédente.

IV.4.1. Impulsion monopolaire 10 ns

La figure IV.34 montre le profil temporel de l'impulsion rectangulaire de durée 10 ns et de temps de montée 1 ns au niveau des électrodes. La différence par rapport à la réponse du microdispositif adapté aux BF est que les fronts de montée sont moins dégradés et l'amplitude

est égale à $\frac{115}{115+50} \times 1 = 0.7$ V.

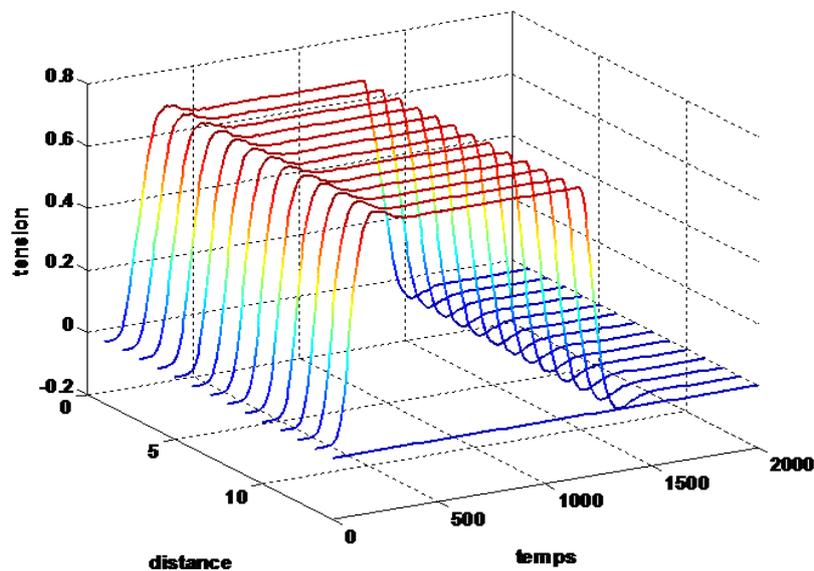


Figure IV.34 : Impulsion rectangulaire 10 ns au niveau des électrodes en fonction du temps et tout au long de la structure (adaptée f_0)

IV.4.2. Impulsion monopolaire 3 ns

Le parcours des impulsions rectangulaires de durée 3 ns et de temps de montée égal à 500 ps au niveau des électrodes est illustré dans la figure IV.35. Les résultats montrent que les fronts de montée sont moins dégradés que dans le cas du microdispositif adapté aux BF.

L'amplitude est égale à $\frac{115}{115+50} \times 1 = 0.7$ V.

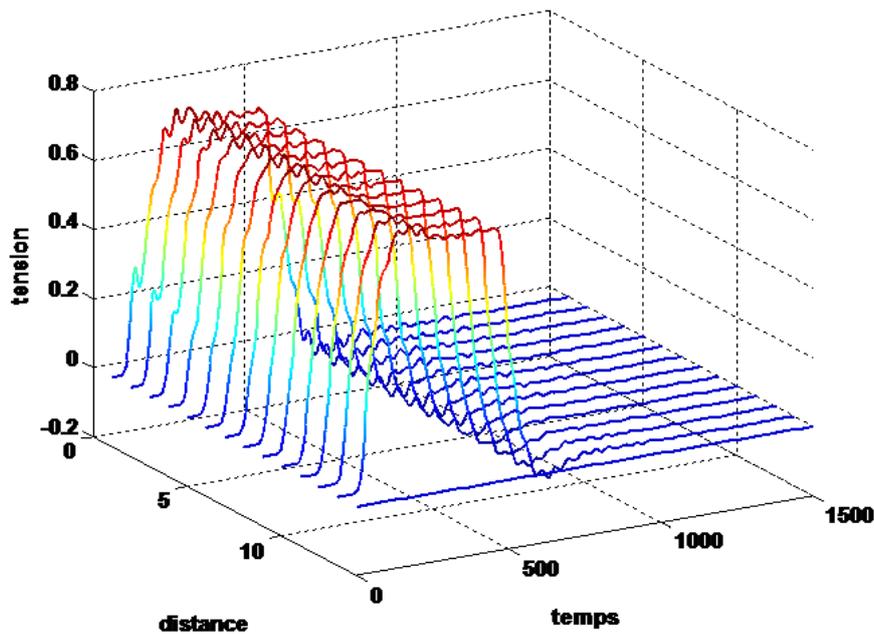


Figure IV.35 Impulsion rectangulaire 3 ns au niveau des électrodes en fonction du temps et tout au long de la structure (adaptée f_0)

IV.4.3. Impulsion bipolaire 3 ns

Enfin, pour l'impulsion bipolaire de durée 3 ns (Figure IV.36) et de temps de montée 500 ps, les réflexions sont moins importantes parce que le spectre de l'impulsion est centré à f_0 où l'impédance est adaptée dans ce cas. L'amplitude crête à crête est égale 0.5 V alors qu'elle est égale à 0.35 V dans le cas de la structure d'impédance 50Ω aux basses fréquences.

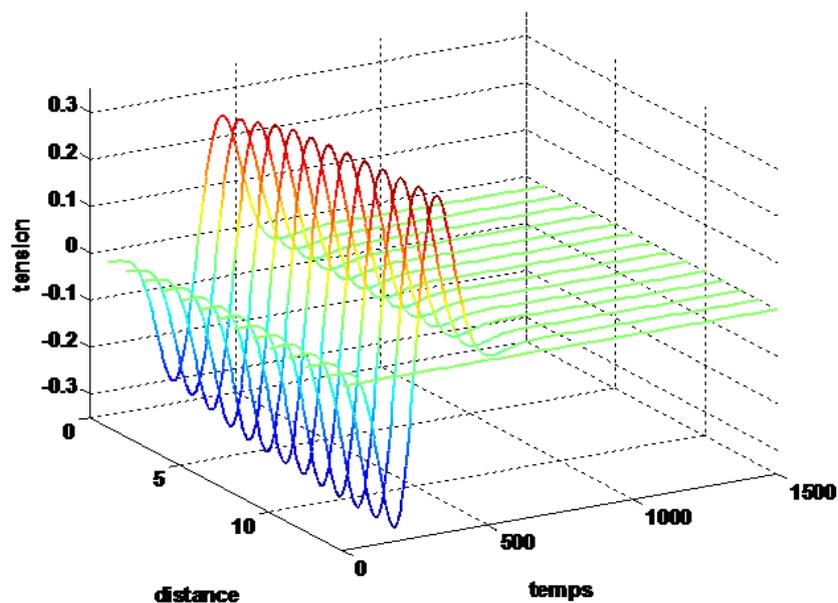


Figure IV.36 Impulsion bipolaire 3 ns au niveau des électrodes en fonction du temps et tout au long de la structure (adaptée f_0)

IV.5. Débit d'absorption spécifique

Le débit d'absorption spécifique, comme nous l'avons expliqué dans le chapitre 2, représente la quantité d'énergie absorbée par le milieu biologique exposé.

La valeur moyenne de DAS a été évaluée dans la solution en fonction de la fréquence pour une puissance incidente égale à 0.1 mW. Les résultats (figure IV.37) montrent une variation significative de cette valeur moyenne à partir de la fréquence 800 MHz. Cependant, cela ne signifie pas que le DAS est homogène dans l'ensemble du canal contenant la solution biologique.

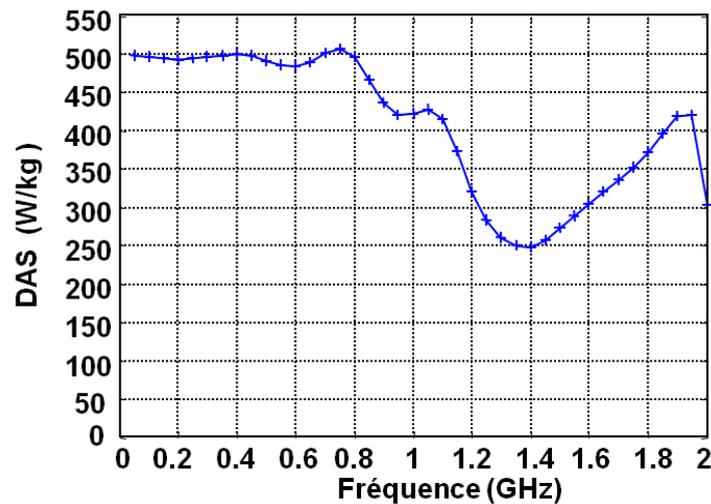
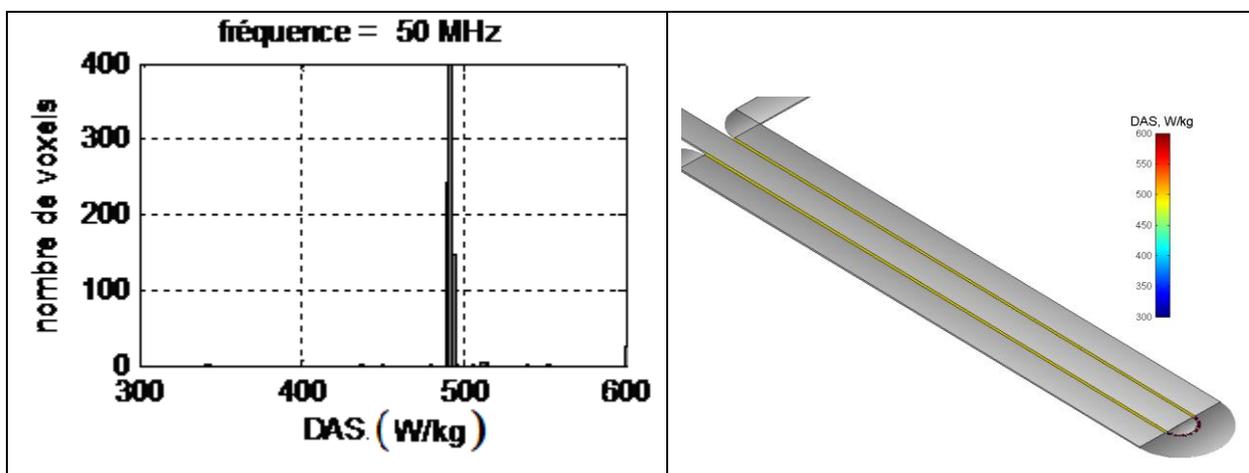
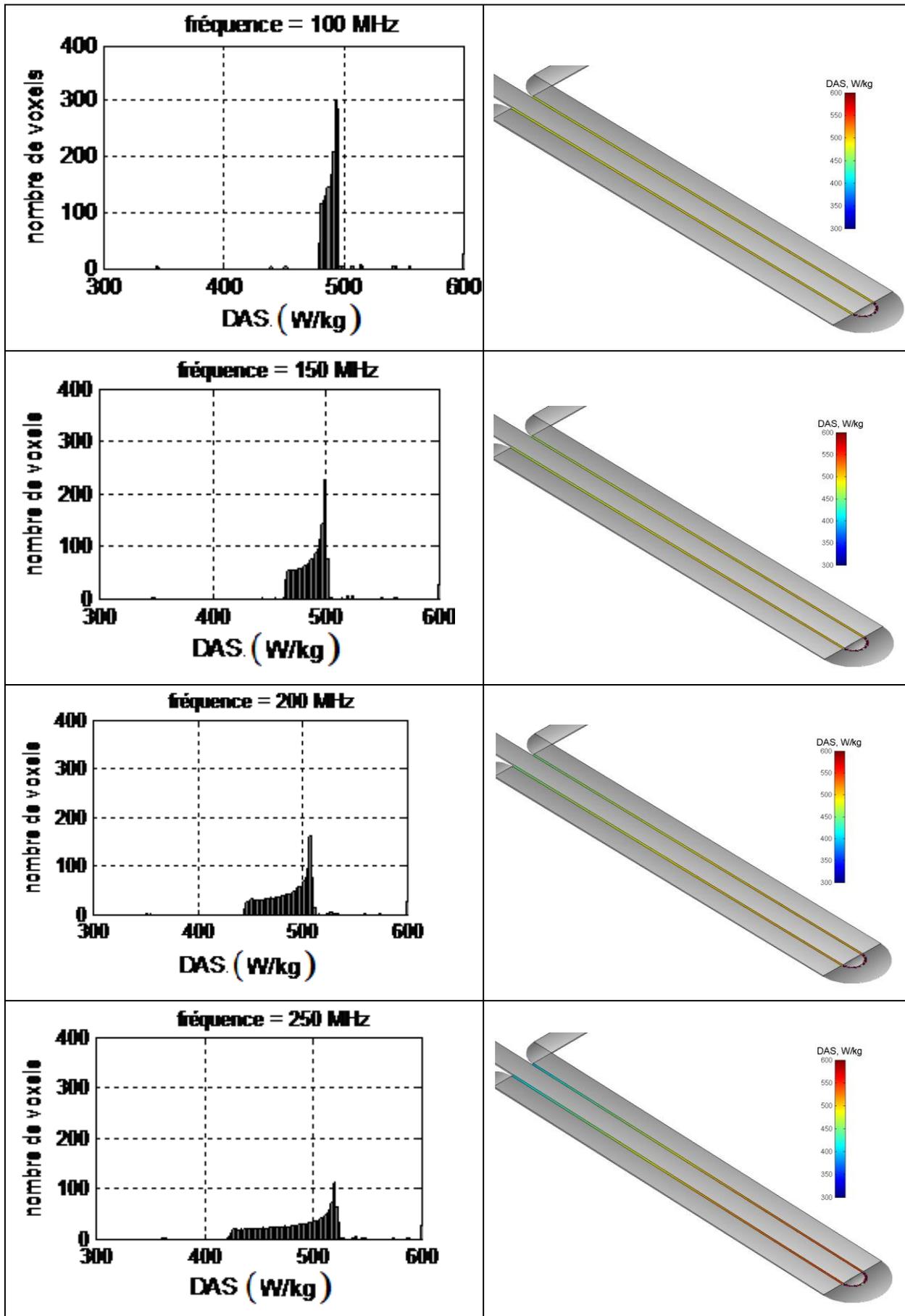


Figure IV.37 : valeurs moyennes du SAR en fonction de la fréquence

IV.5.1. Distribution spatiale et histogramme de DAS en fonction de la fréquence

Pour mettre en évidence les hétérogénéités de DAS dans le canal contenant la solution biologique, des distributions spatiales de DAS sont représentés ainsi que les histogrammes correspondants dans le tableau IV.2. Les histogrammes traduisent les niveaux d'exposition vus par la solution et illustrent le nombre de voxels pour chaque valeur de DAS.





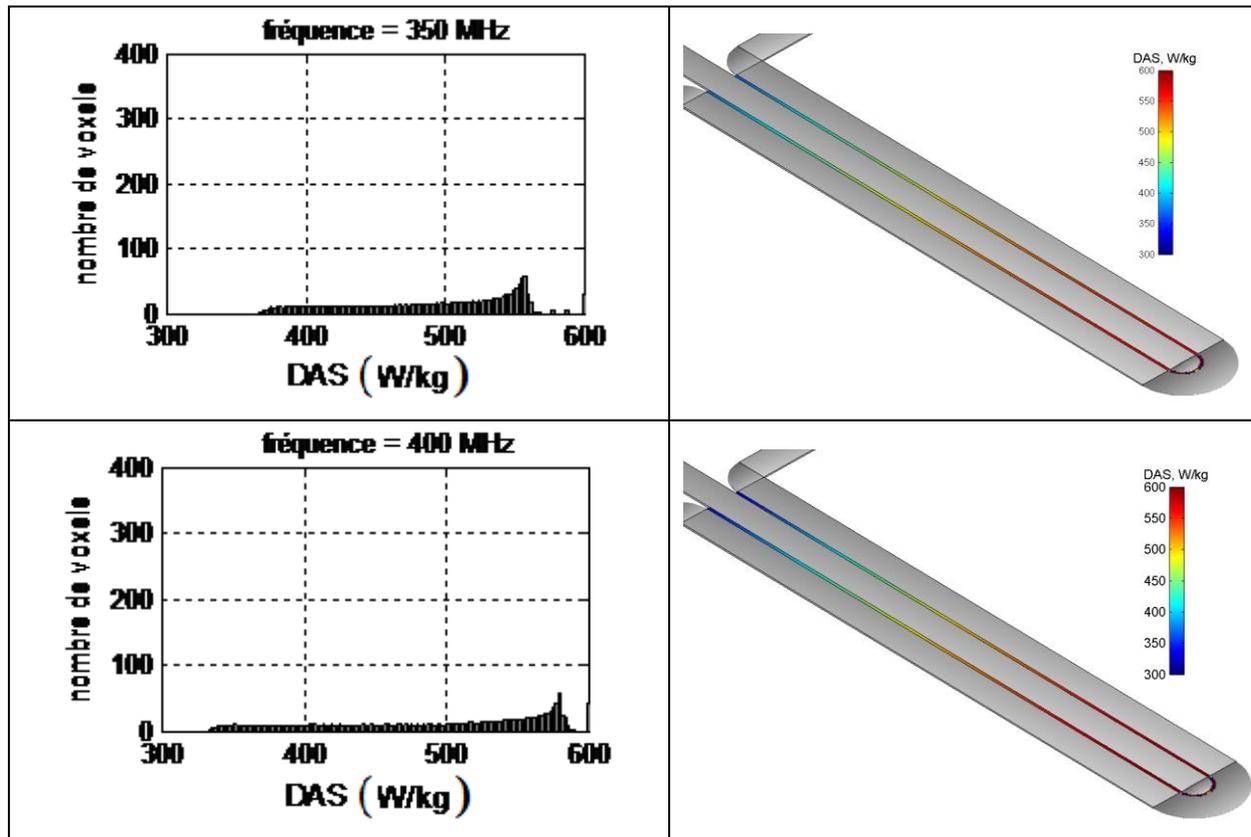


Tableau IV.2 Histogramme (gauche du tableau) et distribution spatiale (droite du tableau) du DAS dans le canal biologique

Nous pouvons en déduire qu'aux basses fréquences (50 MHz, 100 MHz), la majorité des voxels correspondent à une valeur de DAS autour de 500 W/Kg. Lorsque la fréquence augmente, les voxels commencent à s'écarter de part et d'autre de la valeur précédente. La dispersion augmente avec la fréquence, comme l'illustre les histogrammes, mais reste tout à fait acceptable jusqu'à une fréquence autour de 350 MHz. Cela signifie que suivant la forme et le contenu spectral des impulsions, il est possible que le milieu biologique ne voit pas la partie haute du spectre de la même façon suivant où les cellules se trouveront placées dans le canal. Une étude approfondie sera alors nécessaire pour connaître de façon précise à quel champ électrique sont exposées les cellules en fonction de l'impulsion choisie. Dans la première phase des expérimentations, les impulsions devraient être relativement longues, c'est-à-dire supérieure à 2-3 ns, et dans cette configuration, les spectres seront inférieurs à 500 MHz.

IV.6. Influence de l'écoulement de la solution sur les électrodes

Nous avons expliqué dans l'introduction du microdispositif étudié que sa géométrie pose des contraintes technologiques surtout au niveau de l'épaisseur du canal et des électrodes. Une première réalisation de l'applicateur a montré que les surfaces d'électrodes obtenues ne sont pas planes sur toutes les dimensions (Figure IV.38).

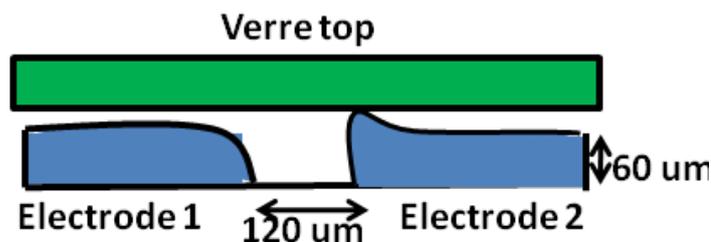


Figure IV.38 : Schéma des électrodes illustrant la déformation

Il en résulte que lorsque le milieu biologique sera mis entre les électrodes, il y aura la possibilité de l'écoulement de part et d'autre des électrodes. Si rien ne comble l'espace entre le haut du canal et l'électrode le milieu se retrouve au dessus de l'électrode. Puisque l'impédance BF du microdispositif dépend de la hauteur et la largeur du canal, l'écoulement de la solution biologique peut influencer l'adaptation (S_{11} et Z_e) et la distribution du champ électrique dans la structure.

Afin d'étudier cet aspect, la simulation de quatre cas différents est effectuée (figure IV.39). Dans le premier cas, la hauteur du canal est la même que celle des électrodes ($60\ \mu\text{m}$). Dans le deuxième cas, la hauteur du canal est le triple de celle des électrodes ($3 \times 60\ \mu\text{m}$) sans que le milieu biologique s'écoule sur les électrodes. Le troisième cas prend en compte une hauteur de canal double ($2 \times 60\ \mu\text{m}$) et un écoulement de la solution sur les électrodes de $120\ \mu\text{m}$ de chaque côté. Pour le dernier cas, la hauteur du canal est doublée et la surface d'écoulement de la solution sur les électrodes est augmentée.

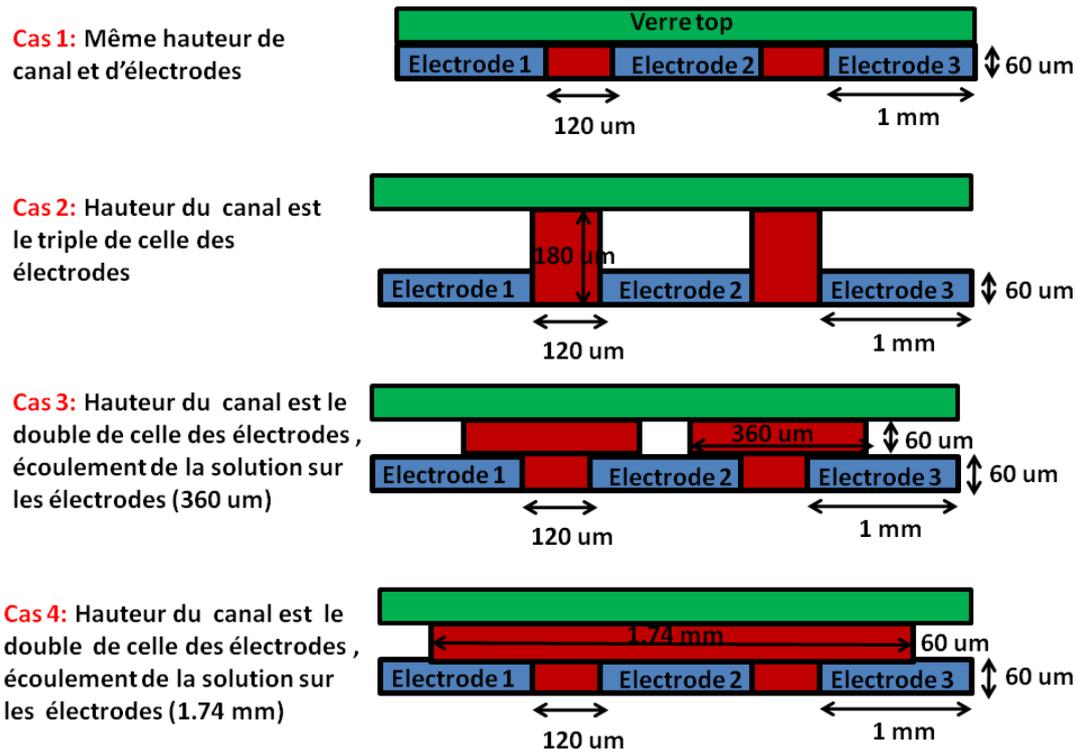


Figure IV.39 : Différents cas de simulation pour différentes hauteurs de canal

IV.6.1. Influence sur l'adaptation

La figure IV.40 montre le module du coefficient de réflexion pour les quatre cas en fonction de la fréquence. Nous constatons que pour les cas nr (2, 3, 4) où la hauteur du canal est supérieure à celle des électrodes, le module de S_{11} aux basses fréquences est égal à -10 dB alors qu'il est égal à -20 dB lorsque les hauteurs du canal et des électrodes sont les mêmes. En plus, nous avons obtenu les mêmes valeurs de S_{11} lorsque la hauteur du canal est le double ou le triple que celle des électrodes. Ce qui veut dire que l'adaptation du système est perturbée lorsque la hauteur du canal augmente mais cette désadaptation est limitée dans la zone contenant les lignes de champs.

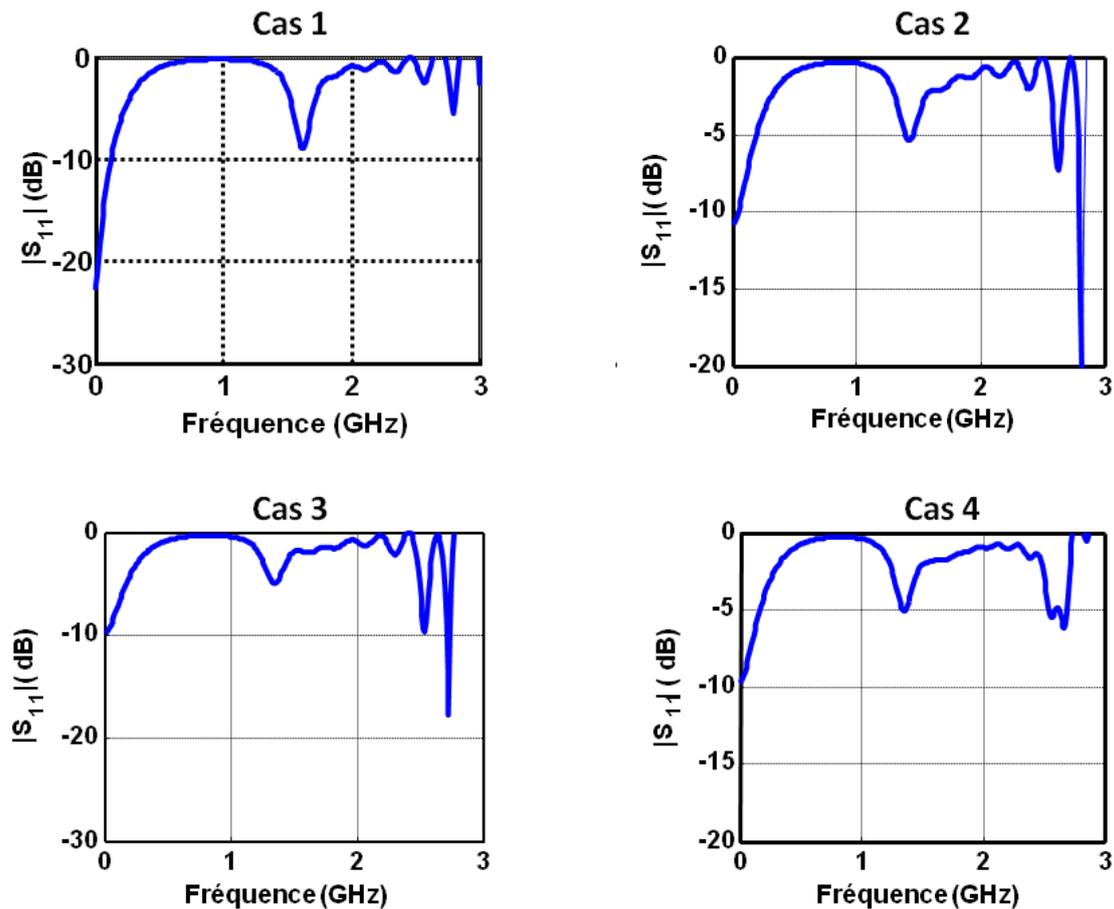


Figure IV.40: Coefficient de réflexion pour les différentes hauteurs du canal

IV.6.2. Influence sur la distribution du champ électrique

Après avoir étudié l'influence de l'écoulement de la solution biologique sur l'adaptation du système, il est important de voir la distribution du champ électrique dans la structure modélisée. La figure IV.41 donne les cartographies du champ électrique pour le cas 1 à différentes fréquences (50, 150, 250 et 450 MHz). La figure IV.42 donne les cartographies du champ électrique pour le cas 2 à différentes fréquences (50, 150, 250 et 450 MHz).

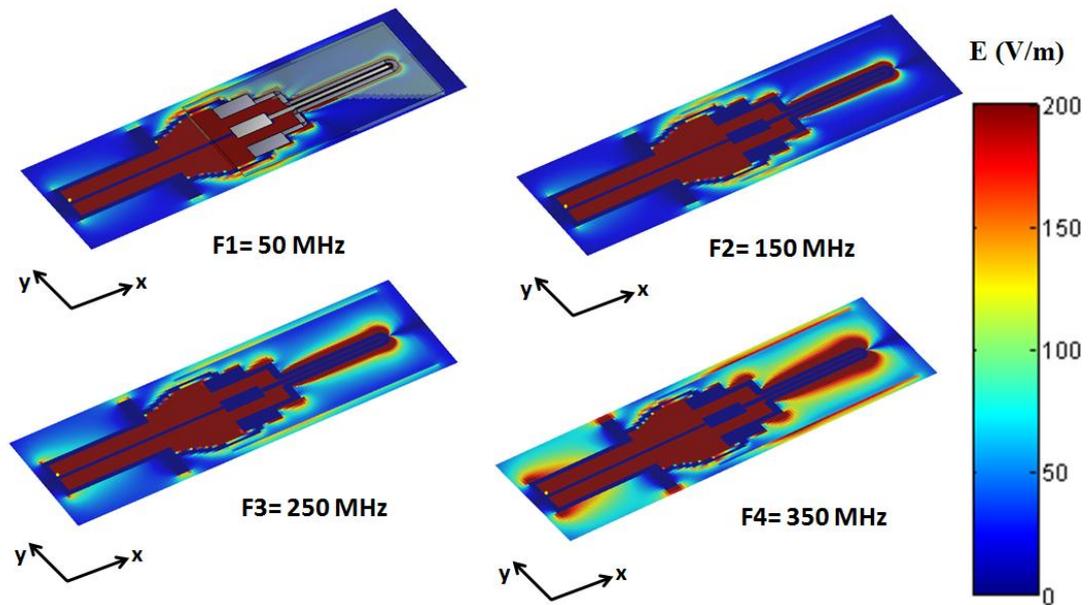


Figure IV.41 : Cartographie fréquentielle du champ électrique pour la même hauteur du canal et des électrodes

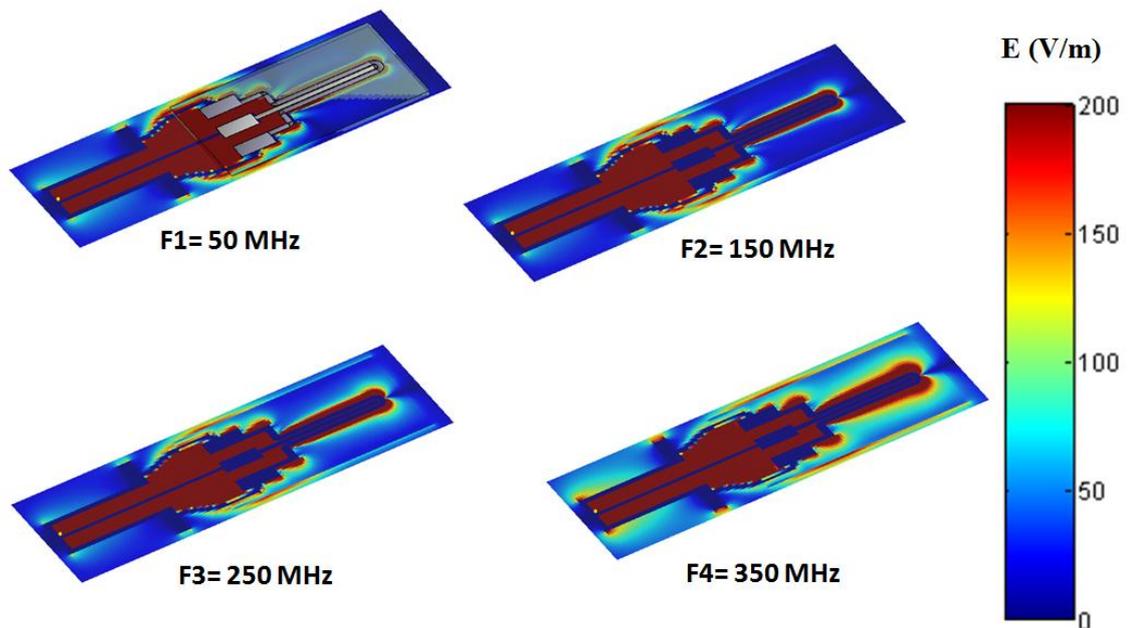


Figure IV.42 : Cartographie fréquentielle du champ électrique pour une hauteur du canal triple de celle des électrodes

Les résultats montrent que le rayonnement en champ proche augmente en fonction de la fréquence pour les deux cas. En plus, la distribution du champ dans la structure est la même dans les cas où les hauteurs du canal et des électrodes sont identiques ou différentes. Il en ressort que les niveaux des champs électriques ne sont pas perturbés par l'écoulement du milieu biologiques sur les électrodes.

IV.7. Conclusion

Dans ce chapitre, les solutions pour élargir la bande passante de la cuvette biologique ainsi qu'un applicateur appelé microdispositif ont été analysés.

L'utilisation d'un système d'exposition avec une cuvette biologique basse impédance (10Ω) a été proposée. Dans ce cas, la conductivité de la solution est plus grande que pour le cas d'une impédance 50Ω et le comportement résistif continue pour des fréquences plus élevées. La cuvette 10Ω est reliée à un générateur d'impédance interne égale à 10Ω . Les résultats obtenus par simulation et expérimentation ont montré des comportements similaires au cas de la cuvette d'une impédance 50Ω notamment pour les impulsions de plus courtes durées (2-3 ns). Cependant, l'utilisation d'une cuvette basse impédance est préférable d'un point de vue biologique. Les résultats obtenus ont montré la nécessité d'optimiser le premier prototype utilisé pour le générateur limiter les désadaptations en haute fréquence.

Ensuite, un applicateur composé de la cuvette biologique placée dans une cellule triplaque TEM a été étudié. Deux voies ont été explorées. La première consiste à utiliser une cuvette à électrodes dans la cellule TEM. Dans ce cas, le courant de conduction est majoritaire. La même bande passante que pour la cuvette toute seule a été obtenue. La limitation est toujours due à la conductivité électrique du milieu biologique qui contrôle le comportement résistif. La deuxième voie est basée sur l'utilisation d'une cuvette dont les électrodes sont isolées du milieu biologique. Dans ce cas, le courant de conduction est négligeable par rapport au courant de déplacement. Ainsi, l'impédance équivalente ne dépend plus de la conductivité et la caractérisation fréquentielle nous a montré que le module du coefficient de transmission est supérieur à -1 dB jusqu'à la fréquence 500 MHz et celui du coefficient de réflexion est inférieur à -10 dB jusqu'à la fréquence 615 MHz. De plus, la puissance absorbée par l'applicateur « cellule TEM - cuvette à électrodes isolées » pour deux milieux de conductivités de valeurs différentes était la même. Elle reste inférieure à -10 dB jusqu'à la fréquence 100 MHz et devient supérieure à -5 dB au-delà de 800 MHz.

Enfin, un applicateur microdispositif appelé « biopuce » a été étudié. Il a été conçu pour des applications microfluidiques afin de faire la nanomanipulation des cellules biologiques. L'étude du système a montré qu'il est limité pour des impulsions relativement courtes (3 ns). L'adaptation à des fréquences élevées (150 MHz) a été proposée afin de l'utiliser avec des impulsions bipolaires dont le spectre est centré à ces fréquences. D'autre part, nous avons présenté les résultats de DAS en fonction de la fréquence. Les valeurs de DAS commencent à illustrer la dispersion à partir de la fréquence 350 MHz. Enfin, nous avons étudié l'influence

de l'écoulement du milieu biologique sur les électrodes. Il en résulte que l'adaptation est dégradée si la hauteur du canal biologique est plus grande que celle des électrodes tandis que la distribution du champ n'a pas changé à cause de la grande différence de potentiel aux bornes des électrodes.

Conclusion générale

Ces travaux de recherche ont porté sur l'étude des applicateurs pour l'exposition des cellules biologiques à des impulsions électromagnétiques ultracourtes. Plus précisément, les travaux menés consistaient à développer et caractériser ce type de dispositifs avec des moyens expérimentaux et en s'appuyant sur la modélisation numérique.

Dans un premier chapitre, le contexte de l'étude a été présenté. Cette partie commence par un bref historique concernant les études des effets des champs électriques impulsionnels sur le milieu biologique. Ces signaux sont capables de réagir avec la cellule biologique et peuvent produire des modifications au niveau de sa structure. Ces dernières sont illustrées par la création de pores au niveau de la membrane cellulaire, mettant en jeu le phénomène d'électroporation. L'interaction des cellules biologiques avec les impulsions dépend des paramètres de l'impulsion (durée, amplitude, forme temporelle...) et des propriétés physiques du milieu exposé. L'utilisation des impulsions de haute amplitude et de courte durée exige la mise en place de systèmes d'exposition capables de générer ce type de signaux et d'exposer le milieu biologique en répondant aux contraintes physiques et biologiques afin d'assurer la reproductibilité des expériences bioélectromagnétiques. Une description non exhaustive des différents systèmes d'exposition existants a été ensuite réalisée en mettant l'accent sur la partie applicateur type cuvette biologique à électrodes planaires pour exposition d'une population de cellules en suspension.

Dans le deuxième chapitre, les outils numériques et expérimentaux ont été présentés. La théorie des milieux diélectriques a été décrite en expliquant les équations des propriétés électromagnétiques, à savoir la permittivité et la conductivité électrique. Ces deux paramètres varient en fonction de la fréquence et influent sur la réponse de l'applicateur aux impulsions appliquées. L'outil numérique FDTD choisi pour réaliser la modélisation des dispositifs étudiés a été également présenté brièvement. Cette méthode a permis de faire le calcul électromagnétique pour la caractérisation et la quantification des niveaux de champs au niveau du milieu exposé. Les différents dispositifs utilisés pour effectuer la caractérisation expérimentale des systèmes d'exposition aux impulsions ultracourtes et de haute tension ont été ensuite présentés.

Au cours du troisième chapitre, deux applicateurs basés sur la cuvette biologique ont été étudiés. Le premier est un système d'exposition aux microondes à 2.45 GHz qui permet la mesure de température et de fluorescence en temps réel. L'applicateur de ce système est une antenne coaxiale plongée dans une cuvette spectrofluométrique contenant le milieu biologique. La distribution du SAR dans le milieu exposé a été étudiée et une distribution non

homogène avec des valeurs de SAR plus fortes au voisinage de l'élément rayonnant de l'antenne a été obtenue.

Le deuxième applicateur analysé est la cuvette biologique à électrodes. La caractérisation fréquentielle théorique et expérimentale a montré que l'impédance de la cuvette dépend des dimensions géométriques et des propriétés diélectriques électromagnétiques du milieu biologique. La bande passante de la cuvette, configurée pour une impédance basses fréquences de 50Ω , pour un coefficient de réflexion inférieur à -10 dB a été évaluée à 70 MHz. Ensuite, la caractérisation temporelle de la cuvette a été réalisée en étudiant sa réponse à des impulsions de durées différentes. Il a été montré que la cuvette est adaptée pour une utilisation avec des impulsions de durée égale à 10 ns et de fronts montée d'environ 1.5 ns et elle est limitée pour des impulsions de durée plus courte de l'ordre de 3 ns. Enfin, l'étude dosimétrique effectuée a montré que le champ électrique temporel est homogène dans tous les plans transversaux aux électrodes de la cuvette.

Dans la première partie du quatrième chapitre, les solutions servant à repousser les limites fréquentielles de la cuvette biologique ont été analysées. L'utilisation d'une solution biologique dont la conductivité est plus grande que celle de la configuration 50Ω précédente a été étudiée). Pour cela, une solution de conductivité égale à 1.5 S/m pour une impédance égale à 10Ω aux basses fréquences a été choisie. Cette cuvette a été reliée avec un générateur d'impédance équivalente égale à 10Ω . Cette configuration permet l'utilisation de milieux biologiques plus courants.

Une cuvette dont les électrodes sont isolées du milieu biologique introduite dans une cellule triplaque TEM a été ensuite considérée. Dans ce cas, le courant majoritaire est le courant de déplacement et le courant de conduction dû à la conductivité électrique est minoritaire. La bande passante de ce système a été élargie par rapport au cas de la cuvette seule.

Dans la deuxième partie, un applicateur microdispositif appelé « biopuce » a été étudié pour exposer des cellules biologiques circulantes entre deux microélectrodes. Le comportement de l'impédance équivalente a été analysé en effectuant une caractérisation fréquentielle. L'étude temporelle de ce système a montré qu'il est limité pour des impulsions relativement courtes (3 ns). Nous avons proposé de l'adapter à des fréquences élevées (150 MHz) pour que l'on puisse l'utiliser avec des impulsions bipolaires dont le spectre est centré à ces fréquences.

Ce travail nous permet d'émettre des perspectives concernant les différentes parties.

Concernant la cuvette à électrodes, une autre voie qui sera intéressante à explorer, est l'utilisation d'un système (micro-chambre, cuvette) de haute impédance branché en parallèle avec une charge 50Ω . Dans ce cas, la majorité du courant est dissipée dans la charge alors qu'il y aura une tension importante au niveau de la cuvette.

Pour la cellule TEM et la cuvette biologique à électrodes isolées, la prochaine étape consistera à faire des mesures temporelles avec des impulsions haute tension plus courtes. Pour ce système, une sonde de champ électrique sera nécessaire afin de pouvoir réaliser la mesure du champ électrique dans la cuvette placée dans la cellule TEM.

Pour les impulsions plus courtes (< 1 ns), une autre possibilité est de concevoir un applicateur type microchambre cylindrique à l'extrémité d'un câble coaxial. La distance entre les électrodes sera variable pour atteindre des niveaux de champ importants (MV/m).

L'analyse de la bibliographie sur l'interaction des nanopulses avec les membranes cellulaires montre une limite autour de 3-4 ns pour l'apparition de pores. Cependant, le peu de travaux actuellement publiés sur des impulsions sub-nanosecondes ou de quelques nanosecondes laisse un vaste domaine à explorer.

Listes des communications et des publications

Publications et Communications

Revue:

2 articles en révisions mineures:

1. Mohamad Kenaan, Mihaela G. Moisescu, Tudor Savopol, Diana Martin, Delia Arnaud-Cormos, Philippe Leveque, “*Dosimetry of an in vitro exposure system for fluorescence measurements during 2.45 GHz*”, International Journal of Microwave and Wireless Technologies.
2. Mohamad Kenaan, Saad El Amari, Aude Silve, Caterina Merla, Lluís Mir, Vincent Couderc, Delia Arnaud-Cormos, Philippe Leveque, “*Exposure Set-up Characterization for High Voltage and Ultrashort Pulsed Electric Field Bioexperiments*”, IEEE transaction on Biomedical Engineering
3. Saad-el Amari, Mohamad Kenaan, Caterina Merla, *Member IEEE*, Bertrand Vergne, Delia Arnaud-Cormos, *Member IEEE*, Philippe Leveque, *Member IEEE*, Vincent Couderc, “*Nanosecond and Picosecond Microwave Kilovolt Pulse Shaping by using Optoelectronic Switching*”, IEEE Photonics Technology Letters, sou presse.
4. Caterina Merla, Saad El Amari, Mohamad Kenaan, Federico Danei, Micaela Liberti, Francesca Apollonio, Delia Arnaud-Cormos, Vincent Couderc, Philippe Leveque, “*A 10 Ω microstrip-based nanosecond pulse*”, Transactions on Microwave Theory and Techniques, soumis.

Communications Internationales:

1. M. Kenaan, S. El Amari, C. Merla, F. Danei, F. Apollonio, V. Couderc, D. Arnaud-Cormos, M. Liberti, and P. Leveque, "A set-up for nanosecond pulsed electric field investigations on biological cells.," in *IPMHVC2010, International Power Modulator and High Voltage Conference*, Atlanta, USA, 2010, p. 3P39.
2. S. El Amari, M. Kenaan, C. Merla, D. Arnaud-Cormos, P. Leveque, and V. Couderc, "Microwave subnanosecond pulse generation and shaping by using infrared optoelectronic switching.," in *IPMHVC2010, International Power Modulator and High Voltage Conference*, Atlanta, USA, 2010, p. 1P52.
3. M. Kenaan, S. El Amari, C. Merla, F. Danei, F. Apollonio, V. Couderc, D. Arnaud-Cormos, M. Liberti, and P. Leveque, "An in vitro set-up for nanosecond pulsed electric field investigations on biological cells," in *BEMS'2010, 32nd Annual Meeting of the BioElectroMagnetics Society*, Seoul, Korea, 2010.
4. M. Kenaan, S. El Amari, D. Arnaud-Cormos, V. Couderc, P. Leveque, "Étude d'un système d'exposition pour interaction nanopulses et cellules biologiques", in *Proc. of Premier Colloque Francophone sur les Matériaux, les Procédés et l'Environnement, CFMPE 2009* Busteni, Roumanie, 2009.
5. D. Arnaud-Cormos, M. G. Moisescu, T. Savopol, M. Kenaan, P. Leveque, "2.45 GHz EMF Exposure System Study for In Vitro Experiments with a Spectrofluorimetric Cuvette", in *Proc. of XXth International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics - BES 2009*, Sibiu, Romania, 2009.
6. D. Arnaud-Cormos, T. Savopol, M. G. Moisescu, M. Kenaan, P. Leveque, "Dosimetry of an in vitro exposure system for fluorescence measurements at 2.45 GHz", in *Proc. of BioEM 2009, BEMS/EBEA 2009 Joint Meeting*, Davos, Switzerland, 2009.

7. S. El Amari, M. Kenaan, D. Arnaud-Cormos, P. Leveque, V. Couderc, “Conception d’un système pour la génération d’impulsions nanosecondes à profil contrôlable”, in *Proc. of Premier Colloque Francophone sur les Matériaux, les Procédés et l’Environnement, CFMPE 2009* Busteni, Roumanie, 2009.

Communications nationales

1. M. Kenaan, S. El Amari, D. Arnaud-Cormos, V. Couderc, P. Leveque, “Caractérisation d’un système d’exposition pour nanopulse”, in *Proc. of XVIèmes Journées Nationales Microondes (JNM)*, GRENOBLE - FRANCE, 2009
2. M. Kenaan, S. El Amari, D. Arnaud-Cormos, V. Couderc, and P. Leveque, "Caractérisation des champs rayonnés par un système d’exposition aux nanopulses.," in *CEM2010, 15ième Colloque international et Exposition sur la Compatibilité Electromagnétique*, Limoges, France, 2010, pp. E1-3
3. S. El Amari, S. El Amari, B. Vergne, D. Arnaud-Cormos, P. Leveque, V. Couderc, “Génération d’impulsions nanosecondes à profil contrôlable”, in *Proc. of XVIèmes Journées Nationales Microondes (JNM)*, GRENOBLE - FRANCE, 2009

Titre : « Développement d'applicateur pour étudier le comportement des cellules biologiques soumises à des impulsions électromagnétiques ultracourtes ».

Résumé :

Les travaux présentés dans ce mémoire ont porté sur la caractérisation des applicateurs pour étudier le comportement des cellules biologiques soumises à des impulsions électromagnétiques ultracourtes de durée de l'ordre de quelques nanosecondes et d'amplitudes de l'ordre du MV/m.

Un aspect du problème réside dans la maîtrise des paramètres physiques pour développer des systèmes d'exposition aux champs électriques. Dans ce cadre, le travail est basé sur la modélisation numérique en utilisant la méthode des différences finies et sur les mesures expérimentales qui nécessitent des dispositifs sophistiqués. Plusieurs applicateurs basés sur la cuvette biologique ainsi qu'un microdispositif ont été caractérisés numériquement et expérimentalement. Nous avons étudié la réponse temporelle des applicateurs aux impulsions appliquées ainsi que la caractérisation fréquentielle. Cette approche nous a permis de mieux déterminer les influences des différents paramètres permettant de contrôler le fonctionnement des systèmes étudiés.

Mots-clés: Bioélectromagnétisme, système d'exposition, nanopulse, dosimétrie, DAS (Débit d'absorption spécifique), FDTD, adaptation, bande passante.

Title: « Development of applicator for studying the behavior of biological cells exposed to ultrashort electromagnetic fields »

Abstract:

The work presented in this thesis focused on the characterization of applicators to study the behavior of biological cells exposed to ultrashort electromagnetic pulses.

An aspect of this issue relies in the control of physical parameters to develop exposure systems to electric fields. In this context, this work is based on numerical modeling using finite difference method and the experimental measurements that require sophisticated devices. Several applicators based on a biological cuvette and a microdevice were numerically and experimentally characterized. We studied the temporal response of the applicators used to pulse and the frequency characterization. This approach has helped to identify the influences of various parameters that control the functioning of the studied systems.

Keywords: Bioelectromagnetism, exposure set-up, Nanopulse, dosimetry, SAR (specific Absorption Rate), FDTD, matching, bandwidth