

Développement d'un biocapteur radiofréquence pour la détection de prolifération bactérienne

Sadou Boubacar, Olivier Zemb, David Dubuc, Katia Grenier, Frédéric Moutier

► **To cite this version:**

Sadou Boubacar, Olivier Zemb, David Dubuc, Katia Grenier, Frédéric Moutier. Développement d'un biocapteur radiofréquence pour la détection de prolifération bactérienne. Journées Nationales Micro-ondes 2017, May 2017, Saint-Malo, France. 4p. hal-01529811

HAL Id: hal-01529811

<https://hal.laas.fr/hal-01529811>

Submitted on 31 May 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Développement d'un biocapteur radiofréquence pour la détection de prolifération bactérienne

S. Boubacar^{1,4}, F. Moutier^{1,2}, O. Zemb³, D. Dubuc¹, K. Grenier¹

¹LAAS –CNRS, Université de Toulouse, Toulouse, France

²Université de Toulouse, UPS-OMP, Institut de Recherche en Astrophysique et Planétologie, UMR5277, Toulouse, France

³INRA, UMR1388, Génétique, Physiologie et Systèmes d'Élevage, Castanet Tolosan, France

⁴NEXIO Ingénierie, Sevres, France

Résumé – Cet article présente les premiers résultats d'un biocapteur radiofréquence développé pour la détection de la prolifération bactérienne dans le cadre d'une analyse d'antibiorésistance. Le capteur développé comporte une coupure capacitive dans une ligne micro-ruban, dans laquelle est placé un capillaire contenant les bactéries ou leur milieu seul. Les résultats obtenus valident la capacité de mesure RF à détecter la présence de bactéries dans leur milieu.

1. Introduction

L'antibiorésistance des bactéries est aujourd'hui un sujet majeur de la médecine humaine et vétérinaire, comme l'indique l'organisation mondiale de la santé OMS [1] et autres publications sur le sujet [2]. Afin de mieux comprendre cette résistance aux antibiotiques, il est important de pouvoir évaluer très rapidement la prolifération (ou son absence) de bactéries mises en contact avec différents antibiotiques. Traditionnellement, la technique d'analyse employée est essentiellement optique avec l'utilisation d'antibiogrammes, c'est-à-dire le dépôt de bactéries sur un gel qui contient un antibiotique défini, avec vérification de la prolifération des bactéries à l'œil nu après plusieurs heures voire jour. C'est donc une méthode certes efficace mais longue et limitée à quelques antibiotiques à analyser. Il existe donc une forte demande pour le développement de nouveaux instruments de diagnostic d'antibiorésistance à haut débit.

Une voie possible réside dans l'utilisation de train de gouttes contenant chacune une bactérie mise en contact avec un antibiotique. Il est alors possible par technique microfluidique de multiplier le nombre d'antibiotiques à tester et de multiplexer le type de bactéries analysé. Cette solution comporte généralement une analyse de prolifération par technique optique qui nécessite des marqueurs coûteux. Une solution alternative consiste à exploiter la technique de spectroscopie diélectrique

radiofréquence (RF). Cette technique a déjà été mise en œuvre pour l'analyse non invasive et sans marquage de cellules eucaryotes dans leur milieu de culture et leur quantification [3]-[4].

Cet article porte donc sur les premiers développements d'un capteur RF qui puisse analyser la prolifération de bactéries contenues dans des gouttes au sein d'un capillaire, comme l'indique le schéma de la Fig. 1.



Figure 1. Illustration du dispositif développé

L'objet de cet article est de présenter les différentes étapes du développement des biocapteurs, leurs mises en œuvre et les premiers résultats de mesures sur des bactéries.

2. Développement du biocapteur

Différents capteurs ont été réalisés en technologie micro ruban, à l'aide d'une ligne de transmission sur un substrat en FR4. Un capillaire contenant le milieu liquide à analyser est placé et fixé en son milieu perpendiculairement. Différentes configurations de capteur ont été étudiée : en ligne de transmission (Fig. 2 en haut à gauche), avec une coupure capacitive (Fig. 2 en haut à droite : coupure de la largeur du capillaire, soit 2mm ; en bas à gauche : coupure de la moitié du diamètre du capillaire, soit 1mm) et enfin avec gravure du FR4 dans la coupure capacitive et enterrement du capillaire dans cette fente (Fig. 2 en bas à droite). La fente présente une largeur similaire au diamètre du capillaire. Le substrat ainsi creusé permet d'augmenter l'interaction champ électromagnétique - milieu à

l'intérieur du capillaire du fait de la configuration des lignes de champs dans une ligne microruban. Cette trançhée permet aussi un maintien mécanique précis du capillaire.

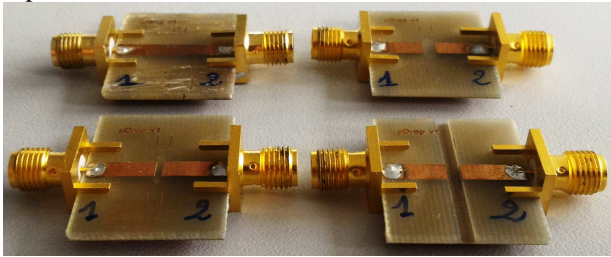


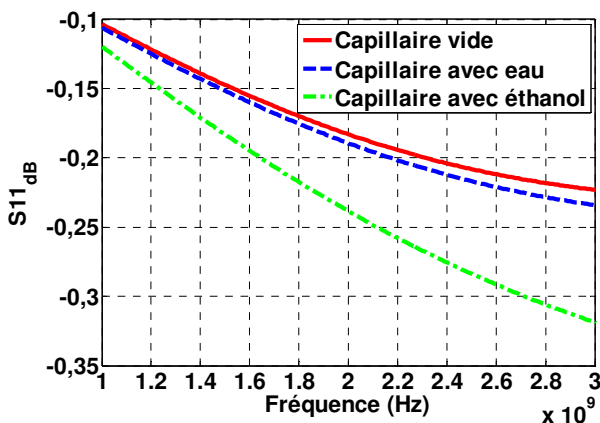
Figure 2. Biocapteurs RF testés

Ensuite un analyseur de réseau vectoriel (ARV) a été utilisé pour mesurer les variations des ondes transmises et réfléchies sur la ligne. En effet, la présence du capillaire avec ou sans contenu (microgoutte avec bactéries ou milieu homogène) sur cette ligne de transmission perturbe les lignes de champs électromagnétiques qui circulent en volume au-dessus. Si cette perturbation est assez importante, elle modifiera de manière notable, les mesures en réflexion et en transmission.

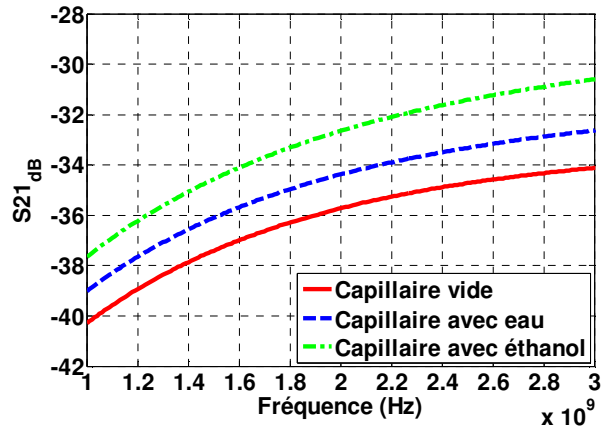
Dans le but de prédire les résultats et aussi d'optimiser le design du capteur, nous avons réalisé des simulations sur le logiciel de simulation électromagnétique à éléments finis 3D HFSS d'Ansoft. Ses simulations ont été effectuées en utilisant trois milieux homogènes dans le capillaire, ayant des propriétés diélectriques différentes à savoir le vide, l'eau et l'éthanol dans la bande 1-3GHz.

Pour le capteur « ligne de transmission », les simulations montraient qu'il serait possible d'obtenir des variations de quelques décibels en réflexion mais pas de variations notables en transmission.

Pour les trois capteurs avec coupure capacitive, les résultats de simulations suivent les mêmes allures de variations : le coefficient de réflexion légèrement inférieur à 0dB décroît avec la montée en fréquence alors que le coefficient de transmission augmente avec de plusieurs décibels sur la bande de fréquence étudiée. La figure 3 montre les résultats de simulations obtenus pour le capteur avec trançhée.



a)



b)

Figure 3. Résultats de simulations a) en réflexion (S11 en dB) et b) en transmission (S21 en dB) pour le biocapteur RF avec trançhée.

Les résultats de simulations pour les capteurs avec coupure capacitive montrent que les variations sont plus importantes et donc plus facilement détectables sur les coefficients de transmissions. Le tableau ci-dessous résume les résultats obtenus pour ces 3 capteurs. On remarque que le capteur avec trançhée présente la plus forte sensibilité de mesure.

@ 2 GHz	Eau		Ethanol	
coupure capacitive	Réflex. Sim.	Trans. Sim.	Réflex. Sim.	Trans. Sim.
gap=2mm	-0.002	-1.11	-0.02	0.66
gap=1mm	-0.003	-0.79	-0.042	0.65
trançhée	-0.007	2.19	-0.06	3.21

Tableau 1. Comparaison des simulations à 2GHz des variations en réflexion et en transmission pour un capillaire rempli d'eau ou d'éthanol par rapport à un capillaire vide pour chacune des structures avec coupures capacitives.

Au vu des résultats de simulations, nous consacrerons la caractérisation du bio capteur et la détection de bactérie sur la structure qui semble apporter les meilleurs résultats, soit la structure avec trançhée.

3. Caractérisations du bio capteur

3.a. Validation des dispositifs

Afin de valider les simulations électromagnétiques, et donc notre pré-étude, des mesures avec un capillaire vide, rempli d'eau dé-ionisée ou rempli d'éthanol ont été réalisées et sont présentées sur la Figure 4 pour le capteur avec trançhée.

On remarque une similitude tant en allure qu'en ordre de grandeur entre simulations (Figure 3) et mesures (Figure 4).

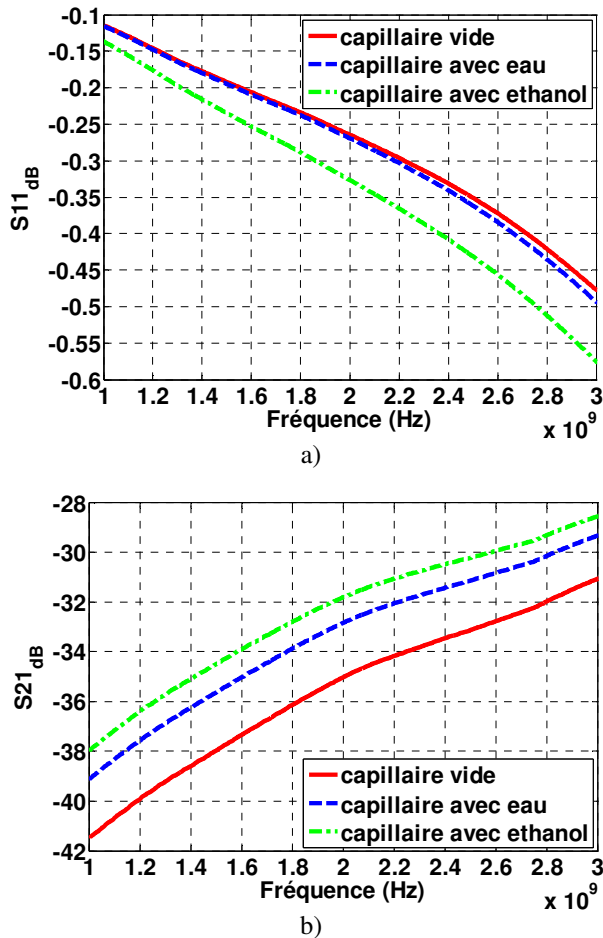


Figure 4. Résultats de mesures a) en réflexion (S11 en dB) et b) en transmission (S21 en dB) pour le biocapteur RF avec tranchée avec un capillaire vide, rempli d'eau dé-ionisée ou d'éthanol.

Les différences peuvent être en partie expliquées par la non-prise en compte en simulation, des connecteurs, défauts de soudures. La comparaison entre simulations et mesures à la fréquence de 2 GHz est résumée dans le Tableau 2.

@ 2 GHz	Réflex. sim	Réflex. mes	Trans. sim	Trans. mes
Eau vs vide	-0.007	-0.005	2.19	1.34
Ethanol vs vide	-0.06	-0.065	3.21	3.07

Tableau 2. Comparaison simulation - mesures à 2 GHz des variations en réflexion et en transmission pour un capillaire rempli d'eau ou d'éthanol par rapport à un capillaire vide pour le capteur RF avec tranchée.

Pour conclure, une assez bonne concordance entre simulations électromagnétiques et mesures a été obtenue.

3.b. Validation de la capacité de mesure de la prolifération bactérienne

Afin de valider la capacité de notre capteur à mesurer la présence ou non de bactéries dans leur milieu de culture, nous avons procédé à plusieurs campagnes de mesures de différents types d'échantillons : du milieu de culture seul, ici du LB (milieu Luria-Bertani) et du milieu de culture LB avec bactéries (de type *E. coli* K12 *NalR RifR*).

Les mesures ont été réalisées en alternant des mesures avec des échantillons sans bactéries servant de valeurs de référence et des mesures avec bactéries.

La présente les variations de module en dB (figure a) et de phase en degré du paramètre S21 (transmission) en fonction de la fréquence (figure b). La première mesure de LB est prise comme référence (=0dB ou =0° suivant la figure).

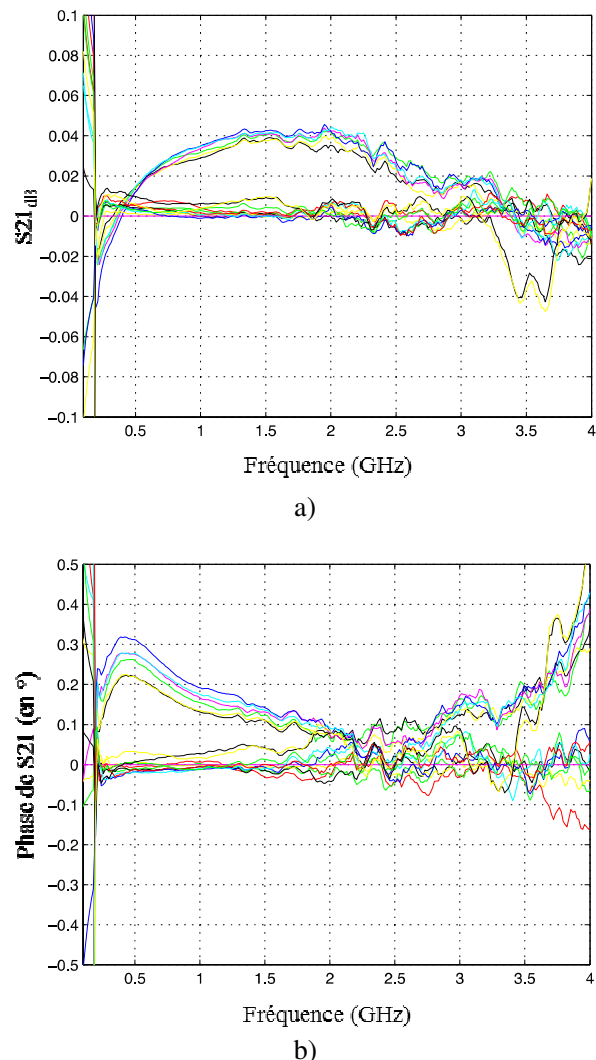


Figure 5. Résultats des mesures en transmission (S21) avec le capteur avec tranchée sur des échantillons de solutions avec et sans bactérie. a) variations en module (dB) et b) variations de phase.

Il y a 11 courbes, correspondant au LB seul, qui sont au voisinage de 0 (dB ou °) et 6 courbes, correspondant

aux bactéries dans du LB, qui se détachent significativement de la référence de 0,5 à 3GHz sur le module de S21 en dB (avec un maximum de variation à 2GHz) et de 0,1 à 1,8 GHz sur la phase de S21 en degré (avec un maximum de variation à 0,44GHz).

Ces 2 courbes démontrent ainsi clairement que l'on obtient une réponse diélectrique significative en présence de biomasse.

Le Tableau 3 présente les moyennes des 11 mesures de LB seul et des 6 mesures de biomasse (LB + bactéries) prises aux fréquences pour lesquelles les variations de spectres sont maximales.

MOYENNES	LB seul	LB + bactéries
Module S21 en dB à 2GHz	0dB (réf.)	0.037dB
Phase de S21 en degrés à 0.44GHz	0° (réf.)	0.26°

Tableau 3. Moyennes des mesures avec et sans bactérie sur le coefficient de transmission (S21) en module (dB) à 2GHz et en phase (en degré) à 0,44GHz.

La significativité des mesures est quantifiée par les écarts types obtenus pour les 2 groupes de mesures et sur les 2 paramètres (module et phase du S21). On met ainsi en valeur que les variations observées sur les paramètres de S21 en présence de biomasse (le milieu de culture seul étant pris comme référence) sont 12 fois (7 fois) supérieures aux écarts types de mesure si l'on considère le module en dB à 2GHz (ou la phase en degré à 0.44GHz respectivement).

Ecarts types sur	LB seul	LB + bactéries
Module S21 en dB à 2GHz	0.003dB	0.0031dB
Phase de S21 en degrés à 0.44GHz	0.016°	0.036°

Tableau 4. Ecarts types des mesures avec et sans bactérie sur le coefficient de transmission (S21) en module (dB) à 2GHz et en phase (en degré) à 0,44GHz.

La Figure 6 représente le plan complexe de la variation du paramètre S21 à 2 GHz pour le module et de à 0,44 GHz pour la phase, pour les différents échantillons mesurés. On remarque que l'on distingue bien deux groupes de points qui coïncident avec les différents types d'échantillons (en haut à droite ceux avec « LB+bactéries » et en bas à gauche ceux avec LB seul). Les mesures en transmission (S21) obtenues montrent donc une excellente discrimination de milieu en présence de biomasse et sans bactérie.

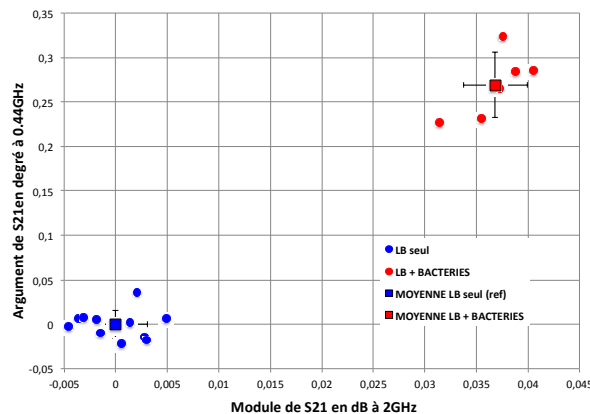


Figure 6 : résultats de mesures de milieu de culture (LB) avec et sans bactéries : module et en phase de S21 prise aux fréquences de 2GHz et 0.44GHz (resp.)

Ce résultat permet de valider l'approche de spectroscopie hyperfréquence envisagée ainsi que la mise en œuvre effectuée.

4. Conclusion

Un capteur RF intégrant un capillaire en vue d'analyser la prolifération de bactérie dans le cadre d'études d'antibiorésistance a été développé. Après validation du capteur à l'aide de simulations électromagnétiques et de mesures de liquides de référence, ce capteur a permis la détection de la présence ou non de bactéries dans leur milieu LB.

Références

- [1] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>
- [2] Ventola CL. The Antibiotic Resistance Crisis: Part 1: Causes and Threats. *Pharmacy and Therapeutics*. 2015;40(4):277-283.
- [3] K. Grenier, D. Dubuc, P-E. Poleni, M. Kumemura, H. Toshiyoshi, T. Fujii, H. Fujita, 'Integrated Broadband Microwave and Microfluidic Sensor dedicated to Bioengineering', *IEEE Trans. on Microwave Theory and Techniques*, Vol. 57, n°12, Dec. 2009, pp. 3246-3253.
- [4] F. Artis, D. Dubuc, J-J. Fournié, M. Poupot, K. Grenier, "Microwave dielectric spectroscopy for biological cells suspensions analysis and proliferation evaluation," *IEEE EuMC 2014*, Rome, Italy, Oct. 2014.