

Zeitschrift: Tracés : bulletin technique de la Suisse romande
Band: 129 (2003)
Heft: 23: Protéomique

Artikel: La micro-fluidique
Autor: Girault, Hubert / Lion, Niels
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-99256>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 17.11.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

La micro-fluidique

PROTÉOMIQUE

Le domaine du diagnostic est à la recherche de tests toujours plus rapides, plus sensibles, et permettant un débit toujours plus important. Ce besoin relève naturellement d'enjeux cliniques - la vie d'un patient pouvant dépendre du temps nécessaire à l'établissement d'un diagnostic - mais il répond aussi à des contraintes économiques, dans la mesure où la quantité de tests pouvant être effectués en parallèle permet d'abaisser le coût global de l'analyse. La chimie-physique joue un rôle important dans la recherche de nouvelles solutions.

Le standard de l'industrie diagnostique est l'«Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay» (ELISA), un test qui permet de capter, puis de révéler un élément recherché. Pour ce faire, on commence par immobiliser, à la surface d'une plaque à puits, un anticorps (dit anticorps primaire) spécifique à la cible diagnostique qu'on cherche à détecter. L'échantillon biologique à analyser est ensuite appliqué dans les puits, où ce premier anticorps capture la cible recherchée. On lave alors le puits, avant d'ajouter un second anticorps (dit anticorps secondaire) qui viendra à son tour se fixer sur la cible diagnostique capturée. Classiquement marqué par une enzyme, le second anticorps sert à augmenter l'intensité d'un signal qui demeurerait trop faible si l'anticorps primaire avait été

marqué, soit à convertir le substrat inactif en un produit aisément détectable, le plus souvent par fluorescence. (La démarche pourrait être comparée à ce qui se passe en photographie classique, où l'image prise doit encore être développée.) Si les tests ELISA en plaques à puits restent le standard du diagnostic, ils nécessitent plusieurs heures d'incubation pour couvrir les étapes de capture et marquage. Ce délai est dû à l'addition du temps nécessaire aux cibles diagnostiques pour diffuser jusqu'à la surface du puits et de celui requis par les anticorps secondaires pour venir ensuite s'y fixer. Intrinsèquement, ces deux temps de diffusion dépendent de la géométrie des plaques à puits, qui sont le standard des tests robotisés en analyse biologique.

Doper les rendements

La seule solution pour diminuer le temps d'analyse consiste donc à changer le format des tests ELISA et, dans ce domaine, la micro-fluidique présente des avantages certains [1]¹. Le **tableau A** montre l'effet de la réduction du volume réactionnel sur le temps typique de diffusion pour une bio-molécule. Ainsi, en passant d'un format en plaque à puits (typiquement 500 μ L) à un format micro-fluidique (typiquement 100 nL), on peut diminuer les temps d'incubation d'un facteur dix mille.

L'approche choisie par notre laboratoire pour réaliser des systèmes micro-fluidiques est basée sur des substrats polymères, qui associent une technologie flexible à un bas coût de fabrication. Les micro-canaux sont produits soit par photoblaction laser au laboratoire (avec le soutien du Centre des Micro- et Nanotechnologies de l'EPFL), soit par ablation plasma à une échelle industrielle par *DiagnoSwiss SA*, une spin-off du laboratoire (fig. 1). On peut alors utiliser ces micro-canaux exactement comme les puits d'une plaque à puits pour réaliser un test ELISA : les anticorps primaires sont adsorbés à la surface des micro-canaux, qui sont ensuite lavés, puis l'échantillon biologique est appliqué, lavé, après quoi l'anticorps secondaire vient marquer la cible capturée

Volume	1 mL	1 μ L	1 nL	1 pL	1 fL (10^{-15} L)	1 aL (10^{-18} L)
Longueur de l'arête d'un cube	10 mm	1 mm	100 μ m	10 μ m	1 μ m	100 nm
Temps de diffusion	50000 s	500 s	5 s	50 ms	0,5 ms	50 μ s

¹ Les chiffres entre crochets renvoient à la bibliographie en fin d'article.

Fig. 1 : Barrette de huit micro-canaux pour immunisants avec détection électrochimique

Fig. 2 : Schéma de principe du test ELISA en micro-canaux avec détection électrochimique

(Tous les documents illustrant cet article ont été fournis par les auteurs)

(fig. 2). Ici, la détection se fait par électrochimie, technique qui donne un signal proportionnel à la concentration du substrat converti par l'anticorps secondaire (alors qu'une détection en fluorescence donne un signal proportionnel à la quantité de substrat converti par l'enzyme, ce qui est défavorable quand on diminue le volume réactionnel).

La première étape du développement des immuno-dosages micro-fluidiques au laboratoire a consisté à maîtriser la micro-fabrication des micro-canaux et la micro-fluidique associée [2]. Il a ensuite fallu valider le fait que la diminution de volume permettait effectivement de réaliser la capture de la cible diagnostique par l'anticorps immobilisé en quelques minutes [3]. Enfin, le principe de la détection électrochimique a été mis en œuvre et validé sur des modèles de systèmes anticorps/cible diagnostique proches des applications cliniques [4, 5].

Tout le travail exploratoire et de validation des principes d'immobilisation des anticorps dans les micro-canaux, de capture et de détection des antigènes a été réalisé au sein du laboratoire et en collaboration avec d'autres partenaires académiques; par la suite, tout le développement de la plateforme de diagnostic a été mené par *DiagnoSwiss*, une spin-off du laboratoire, en collaboration avec des industriels du diagnostic. Cette étape de développement, qui a duré au

moins aussi longtemps que l'étape exploratoire conduite au laboratoire, a nécessité la mise en œuvre de compétences en instrumentation, en design, en micro-technologie, afin d'obtenir en routine et sur des échantillons biologiques comme le plasma humain, une sensibilité et surtout une reproductibilité qui satisfassent aux critères du diagnostic clinique.

Hubert Girault, professeur
et Niels Lion
Laboratoire d'Electrochimie Physique et Analytique
EPFL, CH - 1015 Lausanne

- [1] M. J. MADOU ET R. SCALING CUBICCIOTTI : « Issues in chemical and biological sensors », *Proceedings of the IEEE*, N° 91, pp. 830-838, 2003
- [2] J. S. ROSSIER ET AL. : « Plasma etched polymer microelectrochemical systems », *Lab on a chip*, N° 2, pp. 145-150, 2002
- [3] J. S. ROSSIER, G. GOKULRANGAN, H. H. GIRAULT, S. SVOJANOVSKY ET G. S. WILSON : « Characterization of protein adsorption and immunosorption kinetics in photoablated polymer microchannels », *Langmuir*, N° 16, pp. 8489-8494, 2000
- [4] J. S. ROSSIER, M. A. ROBERTS, R. FERRIGNO ET H. H. GIRAULT : « Electrochemical detection in polymer microchannels », *Analytical Chemistry*, N° 71, pp. 4294-4299, 1999
- [5] J. S. ROSSIER ET H. H. GIRAULT : « Enzyme linked immunosorbent assay on a microchip with electrochemical detection », *Lab on a chip*, N° 1, pp. 153-157, 2001

