

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
19 janvier 2006 (19.01.2006)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2006/005880 A1**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> :  
**G01N 21/01**

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR2005/050515

(22) Date de dépôt international : 29 juin 2005 (29.06.2005)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
0451402 1 juillet 2004 (01.07.2004) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : **COM-  
MISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE** [FR/FR];  
31-33 rue de la Fédération, F-75752 PARIS 15ème (FR).

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) : **BOUTET,  
Jérôme** [FR/FR]; 3 rue Charenton, F-38000 GRENOBLE  
(FR).

(74) Mandataire : **LEHU, Jean**; BREVATOME, 3, rue du  
Docteur Lancereaux, F-75008 PARIS (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de  
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT,

AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,  
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,  
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,  
KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,  
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,  
PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM,  
SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN,  
YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre  
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,  
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO,  
SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,  
GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

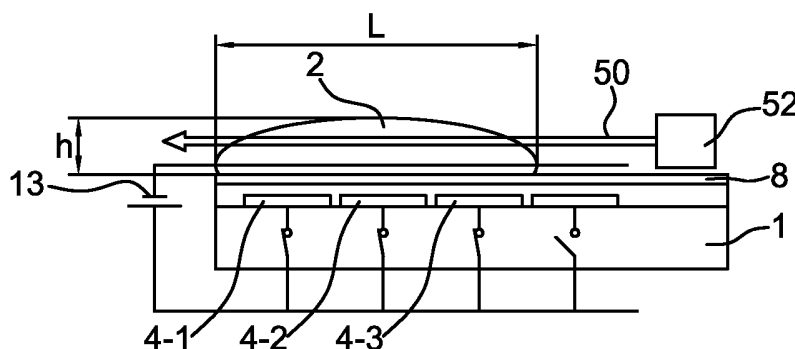
**Publiée :**

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des  
revendications, sera republiée si des modifications sont re-  
çues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(54) Title: SYSTEM FOR SYNCHRONOUS DETECTION OF FLUORESCENCE IN A DROP

(54) Titre : SYSTEME DE DETECTION SYNCHRONE DE FLUORESCENCE EN GOUTTE



(57) Abstract: The invention relates to a method of forming a modulated optical signal from a drop (2) of a liquid medium. The inventive method comprises the following steps consisting in: positioning a drop of liquid on a hydrophobic surface (8) on the path of an optical beam (50); and modulating the shape of the drop on said surface by means of electrowetting, in order to modulate the signal obtained after the optical beam has passed through the drop.

(57) Abrégé : L'invention concerne un procédé de formation d'un signal optique modulé à partir d'une goutte (2) d'un milieu liquide comportant : le positionnement d'une goutte de liquide sur une surface hydrophobe (8), sur le trajet d'un faisceau optique (50) ; la modulation de la forme de la goutte sur cette surface, par électromouillage, afin de moduler le signal obtenu après traversée de la goutte par le faisceau optique.

WO 2006/005880 A1

**SYSTEME DE DETECTION SYNCHRONE DE FLUORESCENCE  
EN GOUTTE**

**DESCRIPTION**

**DOMAINE TECHNIQUE ET ART ANTÉRIEUR**

L'invention concerne les techniques de  
5 mesure de fluorescence sur de petites quantités de  
liquide, et notamment sur des gouttes de liquide.

La mesure en fluorescence consiste à  
exciter des marqueurs fluorescents dans un liquide, à  
l'aide d'une source de lumière d'une longueur d'onde  
10 prédéterminée.

Le signal réémis par les marqueurs est  
mesuré à une autre longueur d'onde (supérieure à la  
longueur d'onde d'excitation) à l'aide d'un détecteur.

Une difficulté se pose lorsqu'on cherche à  
15 mesurer de très faibles concentrations de marqueurs.  
Ces marqueurs fluorescents peuvent être soit des  
molécules fluorescentes, soit des boîtes quantiques.

Dans ce cas, on est amené à devoir détecter  
une faible quantité de fluorophores dans un bruit de  
20 fond souvent important provenant par exemple de la  
fluorescence du support de l'échantillon mesuré, ou de  
poussières ou de moyens optiques environnants, tels que  
les optiques d'un microscope par exemple.

Comme illustré sur la figure 1A, une chaîne  
25 de mesure de fluorescence associe généralement un  
capteur 2, qui récupère un faisceau lumineux de  
fluorescence 4, un amplificateur 6 et un système 8 de  
filtrage qui atténue le bruit.

La tension en sortie de l'amplificateur 8 est du type :

$$V_{out} = G \times S + b(t),$$

Avec :

- 5           G = gain de l'amplificateur  
          S = grandeur physique mesurée  
          b(t) = bruit

Ainsi le filtre 8 va permettre de récupérer le signal utile et de minimiser la présence du bruit  
10   b(t).

Le phénomène étudié ayant généralement des variations lentes, il s'agit donc, la plupart du temps, d'un filtrage passe-bas.

Le filtrage peut être obtenu  
15 électroniquement ou en intégrant le signal sur une certaine période (cas des capteurs CCD) ou encore en le moyennant sur plusieurs images.

La figure 1B représente un signal S après amplification sélective par l'amplificateur 60, et la  
20 forme spectrale F du filtre passe - bas 80.

La limitation de ce type de dispositif est qu'il ne permet pas d'éliminer les bruits basse fréquence comme, par exemple, la fluorescence du substrat, des optiques d'un éventuel microscope, de  
25 filtres optiques ou bien encore les lentes fluctuations thermiques de l'expérience.

On peut se contenter de ce type de mesure si le rapport signal sur bruit correspond au cahier des charges.

Si ce n'est pas le cas, il faut trouver un moyen de minimiser l'influence des bruits basse fréquence.

Il est parfois possible d'atténuer l'effet  
5 de ces bruits en faisant des mesures différentielles par rapport à un témoin négatif, mais un tel dispositif présente un certain nombre d'inconvénients.

Il impose tout d'abord des contraintes d'encombrement car il est nécessaire d'ajouter un  
10 témoin négatif et un capteur supplémentaire.

Il impose aussi des contraintes de coût, car l'appareil est plus volumineux, et il nécessite donc un plus long développement.

Enfin la précision n'est pas toujours  
15 assurée car il n'est pas certain que le témoin négatif se trouve exactement dans les mêmes conditions thermiques ou chimiques que le témoin positif.

La détection synchrone permet de mesurer un signal dans un bruit important sans utiliser de témoin  
20 négatif ni de capteur supplémentaire.

Comme illustré sur la figure 2A, un dispositif de mesure avec détection synchrone comporte, outre un capteur 20, qui récupère un faisceau lumineux de fluorescence 40, un amplificateur 6, éléments déjà  
25 décrits ci-dessus en liaison avec la figure 1, un multiplicateur 110 et un intégrateur passe - bas 120.

Réaliser une mesure en détection synchrone consiste à faire varier périodiquement le phénomène physique étudié, de manière à moduler la grandeur  
30 physique mesurée.

Avec la modulation, le signal en sortie de l'amplificateur 6 devient :

$$V_{out} = G \times S \times \cos (W_m t) + b(t)$$

5 Avec :

G = gain de l'amplificateur,

S = grandeur physique mesurée,

$W_m$  = pulsation de modulation ( $w_m = 2\pi f_m$ ),

b(t) = bruit.

10 Le choix de la fréquence  $W_m$  de modulation est lié à la zone de fréquence où la densité spectrale du bruit est minimum.

Le rôle du filtre sélectif 12 va consister à ne conserver en sortie de chaîne que la fréquence de modulation  $f_m$ .

Après amplification, par l'amplificateur 6, le signal est à nouveau multiplié par le multiplicateur 10 par la porteuse  $\cos (w_m t)$  :

$$V_{mult} = (G \times S \times \cos (w_m t) + b(t)) \times \cos (w_m t)$$

20  $V_{mult} = G \times S/2 + (G \times S/2) \times \cos (2w_m t) + b(t) \times \cos (w_m t)$ .

La première composante (GS/2) est continue, la deuxième est en  $2w_m$  est la troisième correspond au bruit et est centrée en  $w_m$ .

Après la multiplication, le signal est ensuite filtré par un intégrateur passe - bas 12 pour ne conserver que la composante proportionnelle au signal du capteur :  $G \times S/2$ .

La figure 2B représente le signal S après amplification par l'amplificateur 60, la forme spectrale A de l'amplificateur sélectif 60, et la forme du bruit b.

La figure 2C représente le signal après démodulation : les 3 composantes de  $V_{mult}$  sont séparées ; celle qui est proportionnelle au signal du capteur ( $G \times S/2$ ) peut être isolée à l'aide du filtre  
5 passe bas 120 (de spectre  $F'$ ).

La détection synchrone « classique » est basée par exemple sur la modulation de l'alimentation du capteur ou sur la source de lumière. Mais elle ne permet pas d'éliminer la fluorescence du support ou des  
10 optiques car cette fluorescence est aussi modulée.

Pratiquement, il se pose donc le problème de trouver un dispositif et un procédé permettant d'effectuer une détection synchrone sur des gouttes ou des microgouttes de liquide.

15 Un autre problème est de supprimer, dans une telle détection synchrone, toute fluorescence parasite, en ne conservant que le signal issu de la goutte.

De préférence, un tel procédé et un tel  
20 dispositifs doivent permettre de réaliser divers types de mesures, tels que des mesures de fluorescence ou de spectrométrie (absorption notamment) ou de colorimétrie.

## EXPOSÉ DE L'INVENTION

25 L'invention concerne un procédé de formation d'un signal optique modulé à partir d'une goutte d'un milieu liquide comportant :

- le positionnement d'une goutte de liquide sur une surface hydrophobe, sur le trajet d'un faisceau  
30 optique,

- la modulation de la forme de la goutte sur cette surface, par électromouillage, afin de moduler le signal obtenu après traversée de la goutte par le faisceau optique.

5                   Selon l'invention, on utilise un procédé d'électromouillage pour moduler la forme de la goutte à une fréquence définie afin de réaliser une détection synchrone du signal lumineux provenant de la goutte et, notamment, d'éliminer le bruit de fond.

10                   Par exemple, dans le cadre d'un laboratoire sur puce, lorsque la goutte, après un déplacement, arrive sur la zone de détection, une ou plusieurs électrodes peuvent être activées pour modifier la forme de la goutte, puis désactivées pour lui faire reprendre  
15 sa forme initiale, puis activée à nouveau et ainsi de suite.

                  La forme de la goutte varie donc périodiquement dans le temps, de même que par conséquent le profil que le signal présente dans le  
20 détecteur.

                  Celui-ci mesure un signal périodique et une chaîne d'instrumentation, ou des moyens de traitement du signal, peuvent analyser le signal provenant de cette détection synchrone sur le signal mesuré.

25                   Le signal du capteur peut donc être modulé pour réaliser une détection synchrone, de la fluorescence ou de l'absorption ou de tout autre phénomène optique.

                  La modulation de la goutte peut être  
30 réalisée à l'aide d'une matrice bidimensionnelle ou d'une rangée d'électrodes de tailles identiques.

Dans ce cas, c'est l'activation et la désactivation des électrodes à proximité de la goutte qui module la forme de la goutte.

Selon une autre possibilité, la modulation  
5 peut être obtenue par une seule électrode activée puis désactivée, par exemple une électrode de forme allongée.

La goutte peut également être déplacée devant, puis hors, de la fenêtre de mesure. Ainsi, la  
10 fenêtre de détection reçoit soit la fluorescence de la goutte lorsque celle-ci est devant la fenêtre, soit la fluorescence du bruit de fond lorsque la goutte est hors de la fenêtre.

Cette méthode de détection synchrone dans  
15 la goutte peut s'appliquer à toute forme de détection optique, et notamment à une mesure en colorimétrie, ou en spectrométrie, ou en fluorescence.

La goutte peut être confinée, au moins lors de sa modulation, entre la surface hydrophobe et un  
20 substrat supérieur.

La goutte peut, avant modulation, n'être pas confinée par le substrat supérieur. On est alors dans le cas d'un système mixte, faisant passer la goutte d'un état non confiné à un état confiné.

25 Elle peut aussi, avant modulation, être confinée par le substrat supérieur.

L'invention concerne également un procédé de détection synchrone d'un signal optique, comportant la mise en œuvre d'un procédé tel que décrit ci-dessus,  
30 puis une étape de démodulation du signal optique.

L'étape de démodulation du signal optique peut comporter une multiplication du signal modulé par un signal de porteuse à la fréquence de modulation et un filtrage passe - bas.

5 L'invention concerne également un dispositif d'analyse optique d'une goutte d'un milieu liquide comportant :

- un premier substrat comportant une surface hydrophobe,
- 10 - des moyens de génération d'un rayonnement pour engendrer un faisceau optique ; celui-ci est parallèle à la surface hydrophobe, dans une configuration confinée, et peut être parallèle à cette surface ou avoir une autre direction dans le cas d'un
- 15 système ouvert
- des moyens pour moduler la forme d'une goutte, sur cette surface, par électromouillage.

Un tel dispositif peut comporter en outre un deuxième substrat, disposé en regard de la surface

20 hydrophobe.

Ce deuxième substrat peut comporter en outre une couche hydrophobe superficielle et/ou une électrode en dessous.

Les moyens pour moduler la forme d'une

25 goutte, sur la surface hydrophobe, par électromouillage, peuvent comporter une pluralité d'électrodes sous la surface hydrophobe.

Ces électrodes peuvent être toutes de tailles identiques, ou bien l'une au moins des

30 électrodes peut être de forme allongée.

Un dispositif de détection synchrone d'un signal optique peut comporter, outre un dispositif tel que décrit ci-dessus, des moyens pour effectuer un traitement de démodulation d'un signal synchrone.

## 5 BRÈVE DESCRIPTION DES DESSINS

- Les figures 1A à 2C représentent des techniques connues et des formes de signaux avant et après traitement par ces techniques connues,
- les figures 3A - 3C représentent une  
10 réalisation d'un dispositif selon l'invention, en système ouvert,
- la figure 4 représente une modulation d'une goutte, sur le trajet d'un faisceau optique, en système ouvert,
- 15 - les figures 5A et 5B représentent des vues de dessus d'un dispositif et d'une goutte, avant et pendant une mesure selon l'invention,
- la figure 6 représente un dispositif mis en œuvre dans le cadre de l'invention, en système  
20 fermé,
- les figures 7A et 7B représentent une mise en œuvre de l'invention, en système mixte ouvert et fermé,
- la figure 8 représente un dispositif mis  
25 en œuvre dans le cadre de l'invention en système fermé avec capot conducteur.
- les figures 9A et 9B représentent un dispositif mis en œuvre dans le cadre de l'invention en système mixte avec capot conducteur.

**EXPOSÉ DÉTAILLÉ DE MODES DE RÉALISATION PARTICULIERS**

Un premier mode de réalisation de l'invention, en système ouvert, est illustré sur les figures 3A - 3C.

5 Ce mode de réalisation met en œuvre un dispositif de déplacement ou de manipulation de gouttes de liquide reposant sur le principe de l'électromouillage sur un diélectrique.

Des exemples de tels dispositifs sont  
10 décrits dans l'article de M.G. Pollack, A.D. Shendorov, R.B. Fair, intitulé « Electro-wetting-based actuation of droplets for integrated microfluidics », Lab Chip 2 (1) (2002) 96-101.

Les forces utilisées pour le déplacement de  
15 gouttes de liquide sont alors des forces électrostatiques.

Le document FR 2 841 063 décrit également un dispositif mettant en œuvre, en outre, un caténaire en regard des électrodes activées pour le déplacement  
20 en tant que contre électrode.

Le principe de ce type de déplacement est synthétisé sur les figures 3A - 3C.

Une goutte 2 repose sur un réseau 4 d'électrodes, dont elle est isolée par une couche  
25 diélectrique 6 et une couche hydrophobe 8 (figure 3A).

Le caractère hydrophobe de cette couche signifie que la goutte a un angle de contact, sur cette couche, supérieur à 90°.

Les électrodes sont elles - mêmes formées  
30 en surface d'un substrat 1.

Lorsque l'électrode 4-1 située à proximité de la goutte 2 est activée, à l'aide de moyens 14 de commutation, dont la fermeture établit un contact entre cette électrode et une source de tension 13 via un  
5 conducteur commun 16, la couche diélectrique 6 et la couche hydrophobe 8 entre cette électrode activée et la goutte, polarisée en permanence par une contre électrode 10, agissent comme une capacité. Les effets de charges électrostatiques induisent le déplacement de  
10 la goutte sur l'électrode activée. La contre électrode 10 permet le déplacement par électromouillage, elle maintient un contact électrique avec la goutte pendant son déplacement. Cette contre électrode 10 peut être soit un caténaire comme décrit dans FR - 2 841 063,  
15 soit un fil enterré, soit une électrode planaire sur ou dans le capot des systèmes confinés.

En système ouvert, s'il n'y a pas de déplacement, il est possible d'étaler et de moduler une goutte sur la surface hydrophobe, sans contre-  
20 électrode. C'est par exemple le cas si la goutte peut être amenée sur la surface hydrophobe par un système de dispense classique, les électrodes 4-1, 4-2 servant uniquement à étaler ou à moduler la goutte à l'endroit où elle a été déposée.

25 La goutte peut ainsi être éventuellement déplacée de proche en proche (figure 3C), sur la surface hydrophobe 8, par activation successive des électrodes 4-1, 4-2,... etc. et le long du caténaire 10.

Il est donc possible de déplacer des  
30 liquides, mais aussi de les mélanger (en faisant

s'approcher des gouttes de liquides différents), et de réaliser des protocoles complexes.

Les documents cités ci-dessus donnent des exemples de mises en œuvre de séries d'électrodes adjacentes pour la manipulation d'une goutte dans un plan, les électrodes pouvant en effet être disposées de manière linéaire, mais aussi en deux dimensions, définissant ainsi un plan de déplacement des gouttes.

Comme illustré sur la figure 4, l'activation simultanée de plusieurs électrodes, désignées sur cette figure par les références 4-1, 4-2, 4-3, va permettre d'allonger la goutte 2 suivant la direction voulue, cette direction étant en fait déterminée par les électrodes 4-1, 4-2, 4-3 sélectionnées.

Les figures 5A et 5B représentent une vue de dessus du système, dans laquelle les électrodes 4 sont schématisées par des carrés, la goutte étant toujours désignée par la référence 2.

Avant activation des électrodes, la goutte 2 repose sur l'une d'entre elles ; après activation des électrodes 4-1, 4-2, 4-3, 4-4, la goutte 2 est étirée et positionnée au dessus de ces quatre mêmes électrodes. La figure 4 représente le cas où seules trois électrodes sont sélectionnées, étirant la goutte sur ces 3 électrodes.

La goutte est alors dans un état dans lequel sa longueur  $L$  (voir figure 4), mesurée parallèlement à la surface hydrophobe 8, est supérieure à sa hauteur  $h$ , par exemple dans un rapport  $L/h$  de l'ordre de 2 à 4 ou plus.

Ces mêmes électrodes sont ensuite désactivées, ce qui fait reprendre à la goutte sa forme initiale, puis activées de nouveau, puis désactivées de nouveau et ainsi de suite.

5                   Un faisceau 50, de longueur d'onde adaptée à la mesure souhaitée (en vue d'une mesure d'absorption ou de fluorescence ou de colorimétrie ou de spectrométrie) voit donc son trajet dans la goutte notablement augmenté du fait de l'allongement de celle-  
10                   ci, puis de nouveau réduit lorsque la goutte reprend sa forme initiale, puis de nouveau augmenté et ainsi de suite.

                  Le signal de mesure se trouve donc modulé par modulation de la forme de la goutte elle - même.  
15                   Ceci est particulièrement avantageux lorsque le volume de liquide examiné est de l'ordre, au maximum, de quelques microlitres, et peut même atteindre de très faibles valeurs, par exemple de l'ordre du nanolitre.

                  De manière pratique, on positionnera des  
20                   moyens 52 émetteurs de lumière, de manière à diriger un faisceau 50 le long du substrat.

                  Un détecteur 54 détectera le signal modulé.

                  L'activation des électrodes 4 permettra, éventuellement d'abord de déplacer ou de positionner,  
25                   puis de moduler la forme de la goutte 2 le long du faisceau 50, comme expliqué ci-dessus, et donc de moduler le signal mesuré correspondant.

                  Il est donc procédé à des suites d'activation - désactivation des électrodes 4 afin de  
30                   moduler le signal comme expliqué ci-dessus.

La modulation peut avoir lieu à une fréquence comprise, par exemple, entre 10 Hz et 100 Hz.

La figure 6 représente un autre mode de réalisation de l'invention, en système fermé.

5 Sur cette figure, des références numériques identiques à celles des figures 3A - 4 y désignent des éléments identiques ou correspondants.

Ce dispositif comporte en outre un substrat supérieur 100, de préférence également recouvert d'une  
10 couche hydrophobe 108. Cet ensemble peut être éventuellement transparent, permettant une observation par le haut.

Là encore, un faisceau lumineux peut être dirigé entre les deux substrats.

15 De manière pratique, on positionnera des moyens émetteurs de lumière, analogues aux moyens 52 de la figure 5, de manière à diriger un faisceau 50 le long du substrat.

L'activation puis la désactivation  
20 d'électrodes 4 du substrat inférieur permet d'abord, éventuellement de déplacer ou de positionner, puis de moduler la forme de la goutte 2 le long du faisceau 50.

Les figures 7A et 7B représentent un système dans lequel une goutte 2 est initialement en  
25 milieu ouvert, l'activation sélective d'électrodes 4 permettant un alignement et une modulation de la goutte, en système fermé, dans une zone où le système est muni d'un capot 100, comme illustré ci-dessus en liaison avec la figure 4.

30 La figure 8 représente une variante du système fermé, avec un capot conducteur 100, comportant

une électrode ou un réseau d'électrodes 112, ainsi qu'une couche isolante 106 éventuelle et une couche hydrophobe 108.

Le caténaire 10 des figures précédentes est  
5 remplacé, dans ce mode de réalisation, par l'électrode 112. L'activation de cette électrode et l'activation puis la désactivation répétées des électrodes 4 permettent de déplacer la goutte 2 dans la position voulue puis de moduler sa forme comme déjà expliqué ci-  
10 dessus.

Les figures 9A et 9B, sur lesquelles des références numériques identiques à celles de la figure 8 y désignent des éléments identiques ou similaires, représentent un système mixte, dans lequel une goutte 2  
15 est initialement en milieu ouvert (figure 8A), l'activation sélective d'électrodes 4 permettant une modulation de la forme de la goutte (figure 9B), en système fermé, dans une zone où le système est muni d'un capot 100, comme illustré ci-dessus en liaison  
20 avec la figure 8.

Dans les modes de réalisation décrits ci-dessus, plusieurs électrodes 4 sont activées pour déformer et moduler la goutte. Il est également possible de prévoir une électrode de forme allongée  
25 dont l'activation permettrait d'aplatir la goutte, encore par effet d'électromouillage. La désactivation de cette électrode ramènerait la goutte à sa forme initiale. La goutte pourrait ensuite être de nouveau déformée et ainsi de suite, réalisant ainsi, là encore,  
30 une modulation de la forme de la goutte sur la trajet du faisceau lumineux 50, et donc une modulation du

signal mesuré, quelle que soit la nature de la mesure (absorption, fluorescence, transmission etc.).

Les électrodes 4 reçoivent une tension électrique issue d'un générateur, tension éventuellement amplifiée. L'activation ou la désactivation peut se faire via un relais ou via un multiplexeur analogique, ou numérique, ou une porte logique. L'activation des électrodes peut être pilotée par des moyens numériques de type ordinateur ou PC commandant des relais tel que les relais 14 de la figure 3A.

Typiquement, la distance entre l'éventuel conducteur 10 (figures 3A - 7B) d'une part et la surface hydrophobe 8 d'autre part est par exemple comprise entre 1  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  ou 500  $\mu\text{m}$ .

Le conducteur 10 se présente par exemple sous la forme d'un fil de diamètre compris entre 10  $\mu\text{m}$  et quelques centaines de  $\mu\text{m}$ , par exemple 200  $\mu\text{m}$ . Ce fil peuvent être un fil d'or ou d'aluminium ou de tungstène ou d'autres matériaux conducteurs.

Lorsque deux substrats 1, 100 sont utilisés (figures 8 - 9B), ils sont distants d'une distance comprise entre, par exemple, 10  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  ou 500  $\mu\text{m}$ .

Quel que soit le mode de réalisation considéré, une goutte de liquide 2 aura un volume compris entre, par exemple, 1 nanolitre et quelques microlitres, par exemple entre 1 nl et 5  $\mu\text{l}$  ou 10  $\mu\text{l}$ .

En outre chacune des électrodes 4 aura par exemple une surface de l'ordre de quelques dizaines de  $\mu\text{m}^2$  (par exemple 10  $\mu\text{m}^2$ ) jusqu'à 1  $\text{mm}^2$ , selon la taille des gouttes à transporter, l'espacement entre

électrodes voisines étant par exemple compris entre 1  $\mu\text{m}$  et 10  $\mu\text{m}$ .

La structuration des électrodes 4 peut être obtenue par des méthodes classiques des micro-technologies, par exemple par photolithographie. Les électrodes sont par exemple réalisées par dépôt d'une couche métallique (Au, ou Al, ou ITO, ou Pt, ou Cr, ou Cu,...) par photolithographie. Le substrat est ensuite recouvert d'une couche diélectrique en  $\text{SiN}_4$ , ou  $\text{SiO}_2$ ,...  
Enfin, un dépôt d'une couche hydrophobe est effectué comme, par exemple, un dépôt de téflon réalisé à la tournette.

Des procédés de réalisation de puces incorporant un dispositif selon l'invention peuvent être directement dérivés des procédés décrits dans le document FR - 2 841 063.

Des conducteurs, et notamment des conducteurs enterrés 112 peuvent être réalisés par dépôt d'une couche conductrice et gravure de cette couche suivant le motif approprié de conducteurs, avant dépôt de la couche hydrophobe 108.

Les substrats 1, 100 sont par exemple en silicium, ou en verre, ou en plastique.

Une fois obtenu un signal modulé conformément à l'invention, ce signal peut être amplifié, multiplié par la fonction de modulation à la fréquence fm, fonction qui est connue, puis intégré comme déjà expliqué en liaison avec les figures 2A - 2C.

Un dispositif selon l'invention peut donc comporter, en outre, des moyens de détection

synchrone : des moyens amplificateurs 60, un multiplicateur 110, un intégrateur passe - bas 120 comme illustré sur la figure 2A.

Le traitement appliqué sera celui expliqué  
5 ci-dessus en liaison avec les figures 2B - 2C : une démodulation du signal optique, comportant une multiplication du signal modulé par un signal de porteuse à la fréquence de modulation et un filtrage passe - bas.

10 L'invention concerne donc un procédé de détection synchrone d'un signal optique, comportant la mise en œuvre d'un procédé tel que décrit ci - dessus, afin d'acquérir un signal optique modulé, puis une étape de démodulation du signal optique.

15 L'invention présente notamment les avantages suivants :

- elle améliore le rapport signal sur bruit par rapport à une mesure classique. Elle est particulièrement adaptée à la mesure de signaux  
20 comportant du bruit basse fréquence (thermique...),

- comparée à une mesure différentielle, l'invention ne nécessite pas de témoin négatif ni de capteur supplémentaire,

- la modulation est réalisée par le  
25 dispositif d'électromouillage lui-même et ne nécessite pas de composant supplémentaire. La détection synchrone « classique » (modulation de la source de lumière par exemple), ne permet pas d'éliminer la fluorescence du support et des optiques car cette fluorescence là aussi  
30 est modulée. Le système proposé par l'invention ne module que la goutte, et donc permet de supprimer toute

fluorescence parasite et ne conserve que ce qui vient de la goutte.

**REVENDICATIONS**

1. Procédé d'analyse optique d'une goutte  
(2) d'un milieu liquide, comportant la formation d'un  
5 signal optique modulé à partir d'une goutte (2) d'un  
milieu liquide par :

- le positionnement d'une goutte de liquide  
sur une surface hydrophobe (8), sur le trajet d'un  
faisceau optique (50),
- 10 - la modulation de la forme de la goutte  
sur cette surface, par électromouillage, afin de  
moduler le signal obtenu après traversée de la goutte  
par le faisceau optique,
- puis la démodulation du signal obtenu en  
15 sortie de goutte.

2. Procédé selon la revendication 1, la  
goutte étant confinée, au moins lors de sa modulation,  
entre ladite surface hydrophobe (8) et un substrat  
20 supérieur (100).

3. Procédé selon la revendication 2, la  
goutte n'étant, avant modulation, pas confinée par le  
substrat supérieur.

25

4. Procédé selon la revendication 2, la  
goutte étant, avant modulation, confinée par le  
substrat supérieur.

5. Procédé selon l'une des revendications 1 à 4, comportant en outre un déplacement de la goutte sur la surface hydrophobe.

5                   6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, la modulation étant obtenue par activation d'une pluralité d'électrodes (4), situées sous la couche hydrophobe (8).

10                   7. Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, la modulation étant obtenue par activation d'une seule électrode, située sous la couche hydrophobe (8).

15                   8. Procédé selon l'une des revendications 1 à 7, l'analyse optique étant une analyse par colorimétrie, ou par spectrométrie ou par fluorescence.

20                   9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 8, comportant la mise en œuvre d'un dispositif d'électromouillage, comportant un premier substrat recouvert de ladite couche hydrophobe (8), et une pluralité d'électrodes (4) disposées sous cette couche hydrophobe.

25                   10. Procédé selon l'une des revendications 1 à 9, l'étape de démodulation du signal optique comportant une multiplication du signal modulé par un signal de porteuse à la fréquence de modulation et un filtrage passe - bas.

11. Dispositif d'analyse optique d'une goutte (2) d'un milieu liquide comportant :

- un premier substrat comportant une surface hydrophobe (8),
- 5       - des moyens (52) de génération d'un rayonnement pour engendrer un faisceau optique parallèlement à la surface hydrophobe,
- des moyens (4) pour moduler la forme d'une goutte, sur cette surface, par électromouillage,
- 10       - des moyens (60, 110, 120) pour effectuer un traitement de démodulation d'un signal synchrone.

12. Dispositif selon la revendication 11, comportant en outre un deuxième substrat (100), disposé  
15 en regard de la surface hydrophobe.

13. Dispositif selon la revendication 12, le deuxième substrat comportant en outre une couche hydrophobe superficielle (108).

20

14. Dispositif selon la revendication 12 ou 13, le deuxième substrat comportant en outre une électrode (110).

25       15. Dispositif selon l'une des revendications 11 à 14, les moyens pour moduler la forme d'une goutte, sur la surface hydrophobe, par électromouillage, comportant une pluralité d'électrodes (4) sous la surface hydrophobe.

30

16. Dispositif selon la revendication 15  
les électrodes étant toutes de tailles identiques.

17. Dispositif selon la revendication 15  
5 l'une au moins des électrodes étant de forme allongée.

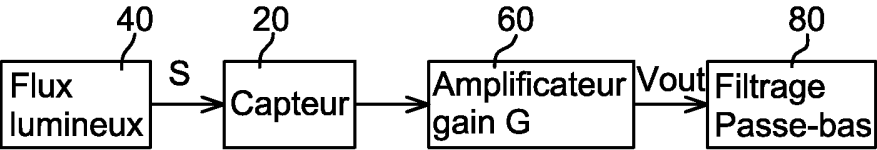


FIG. 1A

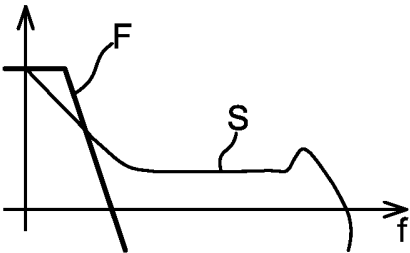


FIG. 1B

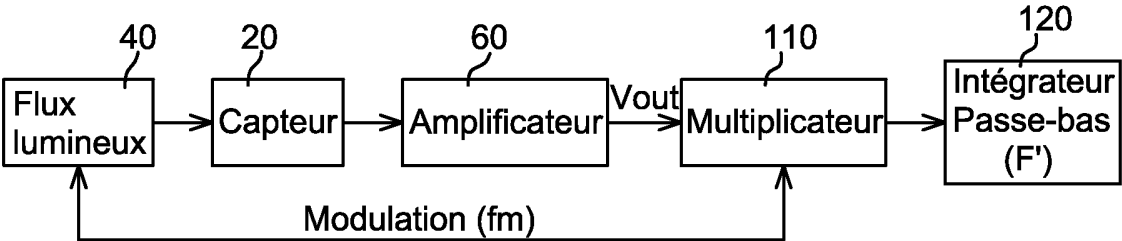


FIG. 2A

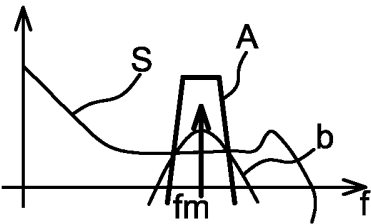


FIG. 2B

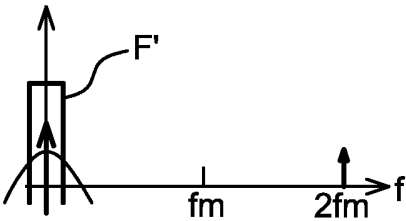
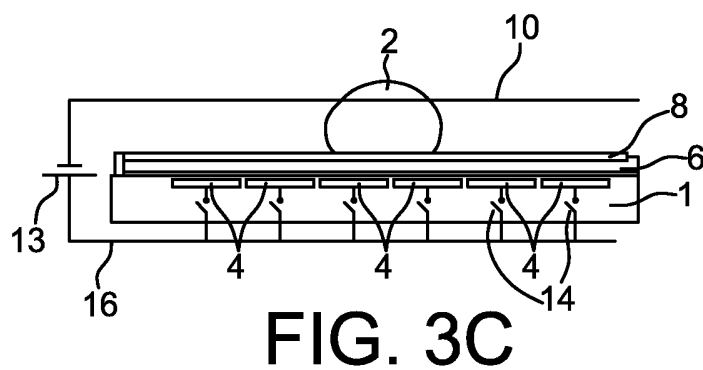
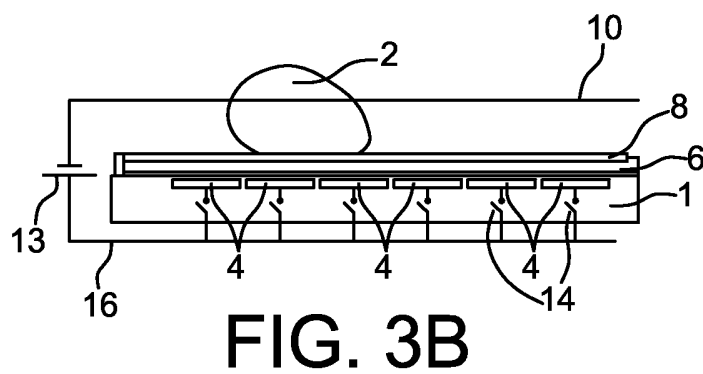
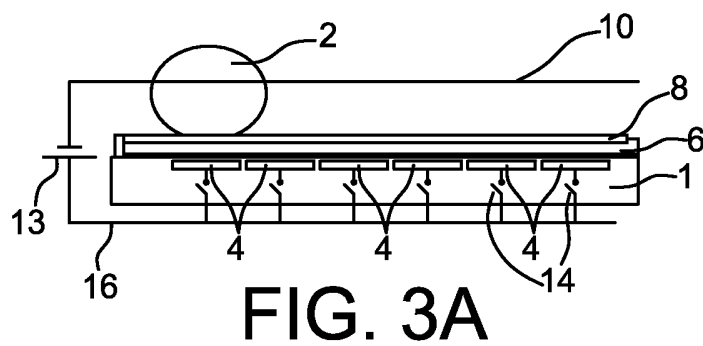


FIG. 2C

2 / 5



3 / 5

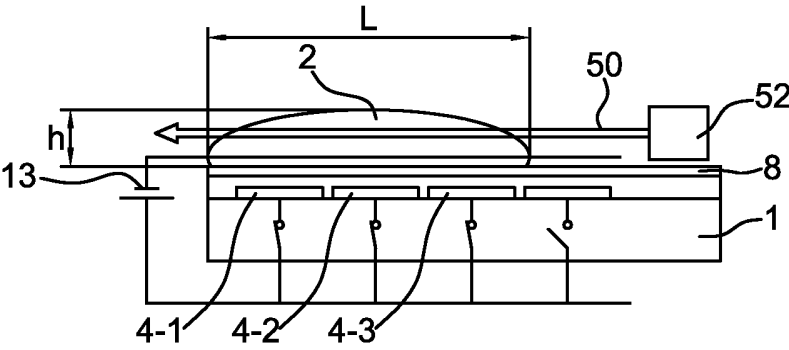


FIG. 4

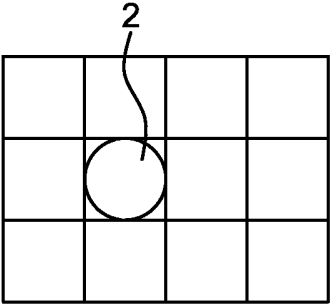


FIG. 5A

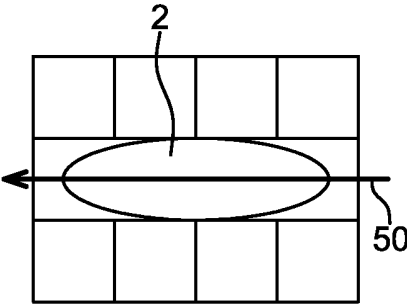


FIG. 5B

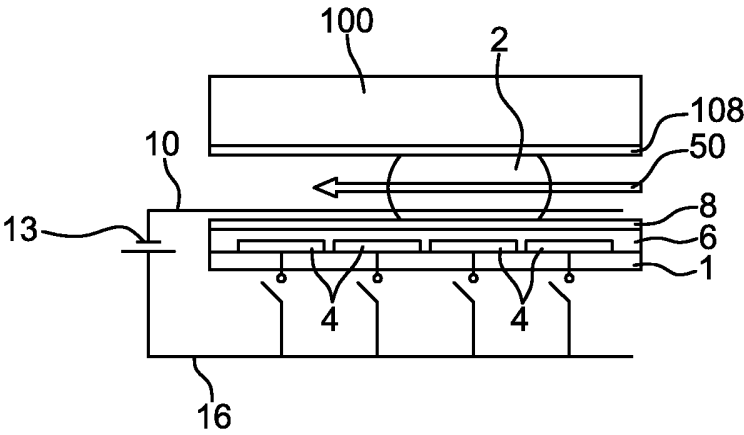


FIG. 6

4 / 5

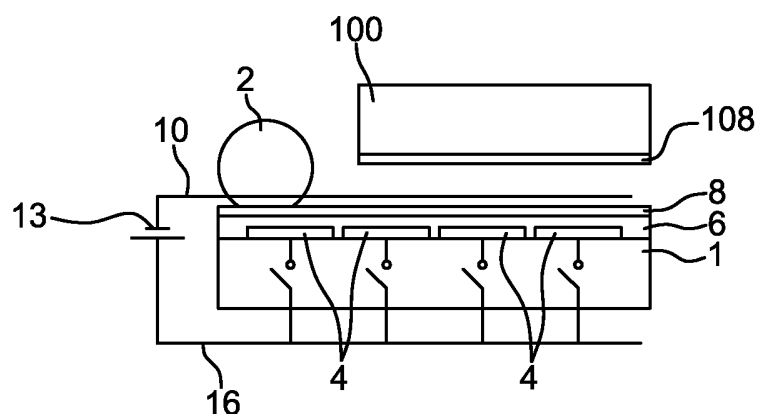


FIG. 7A

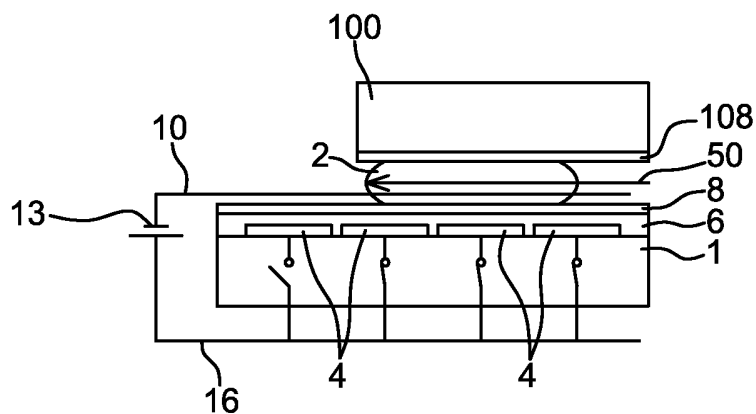


FIG. 7B

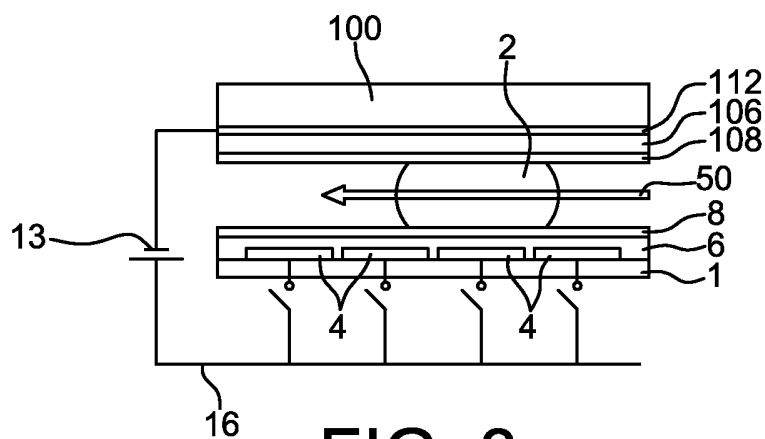


FIG. 8

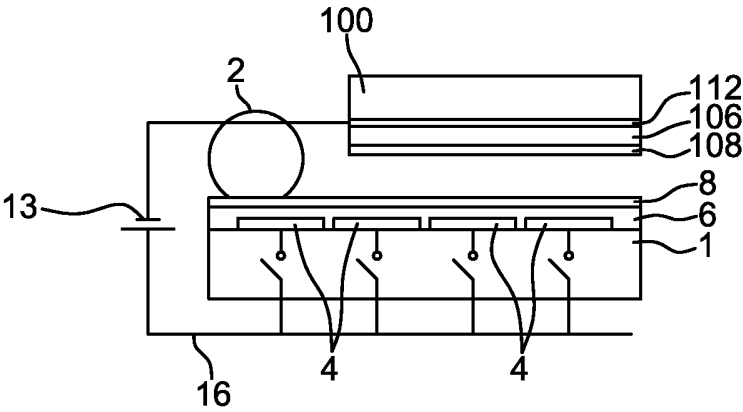


FIG. 9A

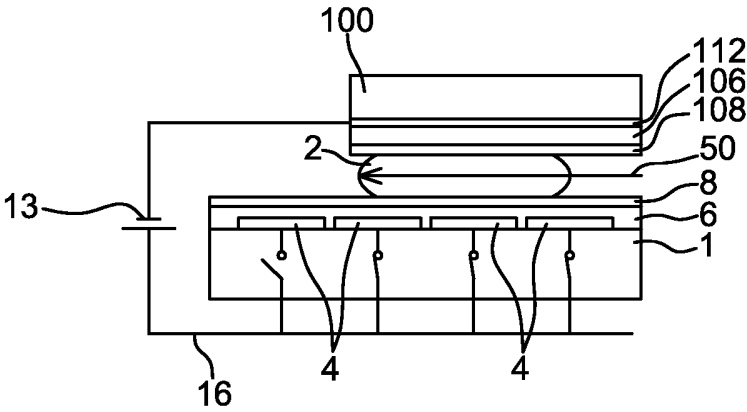


FIG. 9B

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR2005/050515

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N21/01

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                | Relevant to claim No. |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A          | US 2004/007377 A1 (FOUILLET YVES ET AL)<br>15 January 2004 (2004-01-15)<br>cited in the application<br>paragraph '0061! - paragraph '0067!; claim<br>12; figure 1 | 1,5-7,<br>10,11       |
| A          | US 6 338 820 B1 (HUBBARD ALLYN ET AL)<br>15 January 2002 (2002-01-15)<br>column 23, line 66 - column 24, line 39;<br>figures 12,15<br><br>-----<br>-/--           | 1,11                  |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 November 2005

Date of mailing of the international search report

25/11/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stuebner, B

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR2005/050515

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Relevant to claim No. |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A          | POLLACK M G ET AL: "ELECTROWETTING-BASED ACTUATION OF DROPLETS FOR INTEGRATED MICROFLUIDICS"<br>LAB ON A CHIP, ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY, CAMBRIDGE, GB,<br>vol. 2, no. 2, 11 March 2002 (2002-03-11),<br>pages 96-101, XP008038786<br>ISSN: 1473-0197<br>cited in the application<br>page 97, column 1, paragraph 3 - page 98,<br>column 1, paragraph 3; figures 1-3<br>----- | 1-5,9,<br>11-14       |
| A          | US 6 043 878 A (GRATZL ET AL)<br>28 March 2000 (2000-03-28)<br>column 6, line 48 - column 8, line 40;<br>figures 1-6<br>-----                                                                                                                                                                                                                                                   | 1,8,11                |
| A          | US 2002/143437 A1 (HANDIQUE KALYAN ET AL)<br>3 October 2002 (2002-10-03)<br>-----                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 1,8,11                |
| A          | paragraph '0064! - paragraph '0066!<br>paragraph '0162! - paragraph '0171!<br>-----                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                       |
| A          | US 2004/055891 A1 (PAMULA VAMSEE K ET AL)<br>25 March 2004 (2004-03-25)<br>paragraph '0082! - paragraph '0090!;<br>figures 1-4<br>-----                                                                                                                                                                                                                                         | 1,5,11                |
| A          | US 4 211 487 A (KARAYIANIS, NICK ET AL)<br>8 July 1980 (1980-07-08)<br>column 2, line 16 - line 55; figures 1,2<br>-----                                                                                                                                                                                                                                                        | 1,11                  |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR2005/050515

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s)                                                             | Publication<br>date                                                |
|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| US 2004007377 A1                          | 15-01-2004          | AU 2003204633 A1<br>CA 2432607 A1<br>EP 1376846 A1<br>FR 2841063 A1<br>JP 2004022165 A | 15-01-2004<br>18-12-2003<br>02-01-2004<br>19-12-2003<br>22-01-2004 |
| US 6338820 B1                             | 15-01-2002          | NONE                                                                                   |                                                                    |
| US 6043878 A                              | 28-03-2000          | NONE                                                                                   |                                                                    |
| US 2002143437 A1                          | 03-10-2002          | EP 1390145 A1<br>JP 2004536689 T<br>WO 02078845 A1                                     | 25-02-2004<br>09-12-2004<br>10-10-2002                             |
| US 2004055891 A1                          | 25-03-2004          | AU 2003269816 A1<br>EP 1554568 A2<br>WO 2004030820 A2                                  | 23-04-2004<br>20-07-2005<br>15-04-2004                             |
| US 4211487 A                              | 08-07-1980          | NONE                                                                                   |                                                                    |

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR2005/050515

## A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

GO1N21/01

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

GO1N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie * | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents                                                                  | no. des revendications visées |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| A           | US 2004/007377 A1 (FOUILLET YVES ET AL)<br>15 janvier 2004 (2004-01-15)<br>cité dans la demande<br>alinéa '0061! - alinéa '0067!;<br>revendication 12; figure 1 | 1,5-7,<br>10,11               |
| A           | US 6 338 820 B1 (HUBBARD ALLYN ET AL)<br>15 janvier 2002 (2002-01-15)<br>colonne 23, ligne 66 - colonne 24, ligne<br>39; figures 12,15<br><br>-----<br>-/--     | 1,11                          |

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

17 novembre 2005

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

25/11/2005

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Stuebner, B

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No  
PCT/FR2005/050515

| C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                               |
|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Catégorie                                       | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | no. des revendications visées |
| A                                               | <p>POLLACK M G ET AL: "ELECTROWETTING-BASED ACTUATION OF DROPLETS FOR INTEGRATED MICROFLUIDICS"</p> <p>LAB ON A CHIP, ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY, CAMBRIDGE, GB,</p> <p>vol. 2, no. 2, 11 mars 2002 (2002-03-11), pages 96-101, XP008038786</p> <p>ISSN: 1473-0197</p> <p>cité dans la demande</p> <p>page 97, colonne 1, alinéa 3 - page 98, colonne 1, alinéa 3; figures 1-3</p> <p style="text-align: center;">-----</p> | 1-5, 9,<br>11-14              |
| A                                               | <p>US 6 043 878 A (GRATZL ET AL)</p> <p>28 mars 2000 (2000-03-28)</p> <p>colonne 6, ligne 48 - colonne 8, ligne 40; figures 1-6</p> <p style="text-align: center;">-----</p>                                                                                                                                                                                                                                                | 1,8,11                        |
| A                                               | <p>US 2002/143437 A1 (HANDIQUE KALYAN ET AL)</p> <p>3 octobre 2002 (2002-10-03)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 1,8,11                        |
| A                                               | <p>alinéa '0064! - alinéa '0066!</p> <p>alinéa '0162! - alinéa '0171!</p> <p style="text-align: center;">-----</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                               |
| A                                               | <p>US 2004/055891 A1 (PAMULA VAMSEE K ET AL)</p> <p>25 mars 2004 (2004-03-25)</p> <p>alinéa '0082! - alinéa '0090!; figures 1-4</p> <p style="text-align: center;">-----</p>                                                                                                                                                                                                                                                | 1,5,11                        |
| A                                               | <p>US 4 211 487 A (KARAYIANIS, NICK ET AL)</p> <p>8 juillet 1980 (1980-07-08)</p> <p>colonne 2, ligne 16 - ligne 55; figures 1,2</p> <p style="text-align: center;">-----</p>                                                                                                                                                                                                                                               | 1,11                          |

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/FR2005/050515

| Document brevet cité<br>au rapport de recherche | Date de<br>publication | Membre(s) de la<br>famille de brevet(s)                                                | Date de<br>publication                                             |
|-------------------------------------------------|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| US 2004007377 A1                                | 15-01-2004             | AU 2003204633 A1<br>CA 2432607 A1<br>EP 1376846 A1<br>FR 2841063 A1<br>JP 2004022165 A | 15-01-2004<br>18-12-2003<br>02-01-2004<br>19-12-2003<br>22-01-2004 |
| US 6338820 B1                                   | 15-01-2002             | AUCUN                                                                                  |                                                                    |
| US 6043878 A                                    | 28-03-2000             | AUCUN                                                                                  |                                                                    |
| US 2002143437 A1                                | 03-10-2002             | EP 1390145 A1<br>JP 2004536689 T<br>WO 02078845 A1                                     | 25-02-2004<br>09-12-2004<br>10-10-2002                             |
| US 2004055891 A1                                | 25-03-2004             | AU 2003269816 A1<br>EP 1554568 A2<br>WO 2004030820 A2                                  | 23-04-2004<br>20-07-2005<br>15-04-2004                             |
| US 4211487 A                                    | 08-07-1980             | AUCUN                                                                                  |                                                                    |