

(19)



(11)

EP 3 085 444 A1

(12)

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

(43) Date de publication:
26.10.2016 Bulletin 2016/43

(51) Int Cl.:
B01L 3/00 (2006.01)

(21) Numéro de dépôt: **16166022.0**

(22) Date de dépôt: **19.04.2016**

(84) Etats contractants désignés:
**AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB
GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO
PL PT RO RS SE SI SK SM TR**
Etats d'extension désignés:
BA ME
Etats de validation désignés:
MA MD

(72) Inventeurs:
• **DEN DULK, Remco**
38120 Saint Egreve (FR)
• **FOUILLET, Yves**
38340 Voreppe (FR)

(74) Mandataire: **Brevalet**
56, Boulevard de l'Embouchure
B.P. 27519
31075 Toulouse Cedex 2 (FR)

(30) Priorité: **20.04.2015 FR 1553487**

(71) Demandeur: **Commissariat à l'Énergie Atomique
et aux Énergies Alternatives**
75015 Paris (FR)

(54) **DISPOSITIF MICROFLUIDIQUE DE CONTRÔLE D'ÉCOULEMENT D'UN FLUIDE**

(57) L'invention porte sur un dispositif microfluidique de contrôle d'écoulement d'au moins un fluide d'intérêt, comportant un réseau microfluidique (3) comprenant au moins une suite de chambres microfluidiques (5) reliées entre elles de manière séquentielle, chaque chambre mi-

crofluidique étant commutable entre un premier état fermé bloquant l'écoulement du fluide d'intérêt et un second état ouvert allouant un volume prédéterminé à ladite chambre tout en pompant le fluide d'intérêt dans ladite chambre.

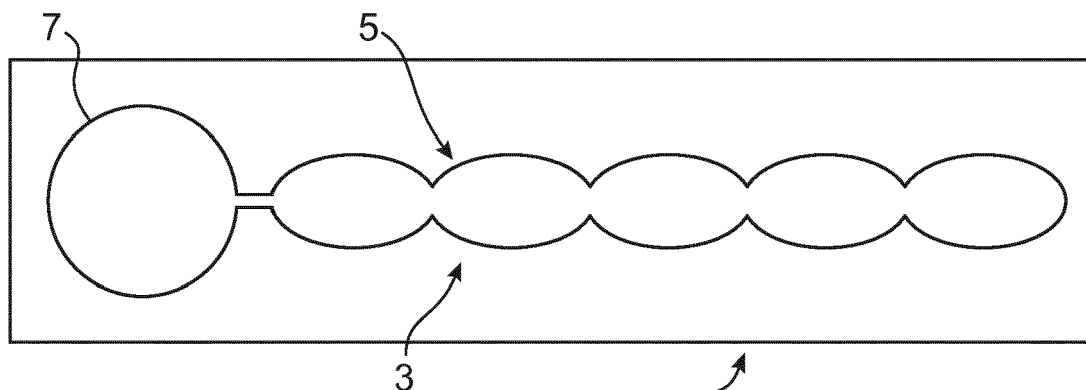


FIG.1

EP 3 085 444 A1

Description**DOMAINE TECHNIQUE**

[0001] La présente invention concerne les dispositifs microfluidiques du type biopuces, et plus particulièrement, un dispositif microfluidique de contrôle et d'enchaînement de plusieurs étapes d'écoulement d'un fluide et un procédé d'analyse mis en oeuvre par un tel dispositif.

[0002] L'invention trouve des applications dans de nombreux domaines, comme entres autres les domaines de la recherche médicale, de la biologie et de la pharmaceutique.

ETAT DE LA TECHNIQUE ANTERIEURE

[0003] Un dispositif microfluidique pouvant enchaîner plusieurs étapes d'écoulement d'un fluide est connu dans le domaine des microsystèmes d'analyse médicale ou chimique.

[0004] En effet, la demande de brevet FR 2897282 décrit un procédé de contrôle de l'avancée d'un liquide dans un composant microfluidique comprenant une pluralité de zones de réaction ainsi qu'une pluralité de vannes passives exploitant des forces de capillarité permettant de bloquer le fluide entre les zones de réaction. Le contrôle de l'avancée du liquide s'effectue par le contrôle de la pression en amont et en aval du composant. Une impulsion en pression permet de débloquer une vanne et de permettre l'avancée du liquide.

[0005] Toutefois, en exploitant des forces de capillarité afin de faire avancer le liquide, la réussite du blocage/déblocage est dépendante des propriétés de mouillage des parois avec le liquide utilisé. Plus précisément, les paramètres tels que les géométries des vannes et des zones de réaction, les états de surfaces ou les propriétés de mouillage doivent être finement déterminés ce qui complique la réalisation du dispositif. En particulier, l'ajout ou la suppression d'agent mouillant nécessaire à un protocole biologique donné peut être incompatible avec le principe de base des vannes de blocage.

[0006] L'objet de la présente invention est, par conséquent, de remédier aux inconvénients précités en proposant un dispositif microfluidique de contrôle d'écoulement d'un fluide parfaitement adapté à un protocole chimique ou biologique et très simple à réaliser.

EXPOSÉ DE L'INVENTION

[0007] L'invention a pour objet un dispositif microfluidique de contrôle d'écoulement d'au moins un fluide d'intérêt, comportant

- un premier substrat (11) ayant une première surface microfluidique (111),
- un deuxième substrat (13) ayant une deuxième surface microfluidique (131),
- une membrane déformable (15) disposée entre lesdites première et deuxième surfaces microfluidiques,
- au moins une suite de cavités (51) formée sur l'une ou l'autre des première et deuxième surfaces microfluidiques et délimitant avec ladite membrane (15) une suite de chambres microfluidiques, ladite membrane déformable étant apte à être déformée au niveau de chaque chambre microfluidique pour être plaquée contre une partie de la première surface microfluidique (111) ou contre une partie de la deuxième surface microfluidique (131) permettant ainsi de commuter l'état de chaque chambre microfluidique (5) entre un premier état fermé bloquant l'écoulement du fluide d'intérêt et un second état ouvert allouant un volume prédéterminé à ladite chambre, la membrane étant adaptée pour ouvrir ou bloquer le passage du fluide ainsi que pour pomper le fluide depuis une chambre vers au moins une autre chambre, les volumes des différentes chambres à l'état ouvert étant identiques, et
- au moins une suite de canaux microfluidiques de communication (25) formée sur l'une ou l'autre des première et deuxième surfaces microfluidiques, ladite suite de canaux microfluidiques reliant de manière séquentielle ladite suite de chambres microfluidiques, ladite au moins une suite de canaux microfluidiques de communication (25) présentant un volume plus petit que celui de ladite au moins une suite de cavités (51).

[0008] Ainsi, les chambres microfluidiques permettent elles-mêmes de faire déplacer un fluide selon une séquence d'opérations bien maîtrisée sans recourir ni à des vannes subsidiaires ni à des pompes et sans dépendre de l'état des surfaces ou propriétés de mouillage des parois desdites chambres. De plus, ce dispositif permet d'avoir un grand nombre de chambres réactionnelles avec des volumes identiques bien calibrés ne nécessitant aucun moyen de mesure tout en minimisant les volumes morts. Ceci permet de transporter de manière facile et précise de(s) volume(s) calibrés de fluide(s) dans le but d'intégrer un protocole fluide. Ce dispositif est très simple à construire et à utiliser tout en étant très précis. En particulier, la membrane déformable a une double fonction, à savoir une fonction de vanne et de pompe. En effet, elle sert à la fois à bloquer le fluide dans les chambres microfluidiques et à pomper (ou aspirer) le fluide d'une chambre à une autre. Elle permet un actionnement simple et contrôlé de l'état de chaque chambre et permet alors le

déplacement d'un liquide de chambre en chambre par un actionnement successif des chambres entre état fermé et état ouvert.

[0009] Avantageusement, au moins une des chambres microfluidiques contient un réactif embarqué (de préférence séché ou lyophilisé) adapté pour réagir avec le fluide d'intérêt.

[0010] Ainsi, de chambre en chambre, le fluide d'intérêt se mélange au(x) réactif(s) qui est (sont) déjà présent(s) dans le dispositif permettant de réaliser de manière simple un protocole d'analyse chimique ou biologique à plusieurs étapes.

[0011] Avantageusement, le volume d'un canal microfluidique de communication est d'environ dix fois plus petit que le volume d'une cavité. Ceci permet de minimiser l'apparition de bulles d'air et d'éviter la dilution du mélange (fluide et réactifs embarqués) lors du transport de chambre en chambre.

[0012] Avantageusement, le réseau microfluidique comporte un orifice (ou réservoir) d'entrée formé dans le premier substrat et relié à une entrée de ladite au moins une suite de canaux microfluidiques de communication, ledit orifice étant adapté pour recevoir le fluide d'intérêt. Ainsi, un échantillon du fluide d'intérêt peut être facilement injecté dans le dispositif.

[0013] Avantageusement, le réseau microfluidique comporte un orifice (ou réservoir) de sortie formé dans le premier substrat ou le deuxième substrat et relié à une sortie de ladite au moins une suite de canaux microfluidiques de communication. Ainsi, le mélange peut être facilement récupéré ou évacué.

[0014] Avantageusement, le premier substrat, la membrane et le deuxième substrat sont assemblés de manière à assurer un contact étanche entre la membrane et les première et deuxième surfaces des premier et deuxième substrats tout en aménageant un espace d'écoulement au niveau des cavités et des canaux microfluidiques de communication.

[0015] Ainsi, un bon contact et une bonne étanchéité sont maintenus entre la membrane et les deux substrats.

[0016] Avantageusement, l'assemblage est réalisé par collage, par plasma, ou par un plaquage mécanique.

[0017] Ainsi, l'assemblage peut être réalisé par différents procédés avec ou sans colle ou par un simple plaquage mécanique pouvant être assuré par un système de bride.

[0018] Avantageusement, le dispositif comporte un mécanisme d'actionnement adapté pour agir sur la membrane au niveau de chaque chambre microfluidique afin de commuter l'état de la chambre microfluidique sélectionnée.

[0019] Ceci permet de réaliser un protocole d'analyse précis et automatique avec un mode opératoire simple.

[0020] Avantageusement, le mécanisme d'actionnement est sélectionné parmi les mécanismes suivants : pneumatique, mécanique, électrostatique, piézoélectrique, et magnétique.

[0021] Ainsi, il existe un grand choix de mécanismes pour actionner le changement d'état des différentes chambres microfluidiques.

[0022] Avantageusement, le mécanisme d'actionnement est un mécanisme pneumatique adapté pour déformer la membrane en exerçant une pression via des trous d'actionnement formés dans le deuxième substrat et débouchant aux niveaux des chambres microfluidiques, le changement d'état d'une chambre microfluidique quelconque étant réalisée par une modification de la valeur de pression exercée sur la membrane via le trou d'actionnement correspondant à ladite chambre microfluidique.

[0023] Ceci permet de piloter l'actionnement des différentes chambres microfluidiques de manière simple, précise, robuste, peu encombrante et sans recourir à des pièces mécaniques traversant le substrat.

[0024] Selon un premier mode de réalisation préféré de la présente invention, ladite au moins une suite de cavités et ladite au moins une suite de canaux microfluidiques de communication sont formées sur la première surface microfluidique, une chambre microfluidique étant dans un état ouvert lorsque la membrane déformable est plaquée sur la deuxième surface microfluidique de sorte que la membrane et la cavité correspondante délimitent un réservoir de volume prédéterminé égal à celui de la cavité autorisant ainsi l'écoulement du fluide d'intérêt dans ledit réservoir, et une chambre microfluidique étant dans un état fermé lorsque la membrane est plaquée sur la première surface microfluidique tout en épousant la forme de la cavité correspondante de sorte que le volume entre la membrane et la cavité est quasiment nul bloquant ainsi l'écoulement du fluide d'intérêt au travers de ladite chambre.

[0025] Selon ce premier mode de réalisation, les cavités et les canaux de communication sont avantageusement usinés sur le même substrat et la déformation de la membrane permet de créer des chambres microfluidiques tout en pompant le fluide d'intérêt de chambre en chambre.

[0026] Selon un deuxième mode de réalisation préféré de la présente invention, ladite au moins une suite de cavités est formée sur la deuxième surface microfluidique et ladite au moins une suite de canaux microfluidiques de communication est formée sur la première surface microfluidique, une chambre microfluidique étant dans un état ouvert lorsque la membrane est plaquée sur la deuxième surface microfluidique tout en épousant la forme de la cavité correspondante de sorte que la membrane et la première surface microfluidique délimitent un réservoir de volume prédéterminé égal à celui de la cavité autorisant ainsi l'écoulement du fluide d'intérêt dans ledit réservoir, et une chambre microfluidique étant dans un état fermé lorsque la membrane est plaquée sur la première surface microfluidique de sorte que le volume entre la membrane et la première surface est quasiment nul empêchant ainsi l'écoulement du fluide d'intérêt au travers de ladite chambre.

[0027] Selon ce deuxième mode de réalisation, les cavités et les canaux de communication sont usinés sur différents

substrats.

[0028] Avantageusement, le premier substrat et/ou le deuxième substrat sont réalisés dans un matériau transparent.

[0029] Ainsi, on peut utiliser une simple détection optique pour mesurer le résultat d'une analyse chimique ou biologique mise en oeuvre par le dispositif.

5 **[0030]** Avantageusement, les cavités ont une forme de calotte sphérique dont la base a un diamètre entre environ 1 mm et 1 cm et dont la hauteur est entre environ 100 μm et 1 mm.

[0031] Ainsi, lors d'une analyse chimique ou biologique, on peut avantageusement viser des volumes réactionnels de quelques microlitres (100nl à 100 μl).

10 **[0032]** Avantageusement, chaque canal de ladite au moins une suite de canaux microfluidiques de communication a une longueur entre environ 1 mm et 5 mm et une section entre environ 50 μm et 500 μm de côté.

[0033] Ainsi, le volume de chaque canal microfluidique est au plus dix fois plus petit que celui d'une chambre microfluidique.

[0034] Avantageusement, chacun desdits premier et deuxième substrats présente une épaisseur entre environ 200 μm et 4 mm et une surface de l'ordre de plusieurs centimètres carrés.

15 **[0035]** Avantageusement, le matériau du premier substrat et/ou du deuxième substrat est sélectionné parmi les matériaux suivants : polymère polycarbonate, PMMA, COC, silicium, et papier.

[0036] Selon un mode de réalisation préféré de la présente invention, le réseau microfluidique comporte un ensemble de branches microfluidiques connectées à un même orifice d'entrée et comprenant chacune une suite de canaux microfluidiques de communication reliant de manière séquentielle une suite correspondante de chambres microfluidiques.

20 **[0037]** Ceci permet d'effectuer plusieurs analyses en parallèle.

[0038] Avantageusement, les branches sont disposées en peigne ou en étoile à partir dudit orifice d'entrée.

[0039] En plaçant différents réactifs dans les différentes branches, il est ainsi possible de réaliser plusieurs analyses sur un même échantillon placé dans l'orifice d'entrée.

25 **[0040]** L'invention vise également un procédé d'analyse mis en oeuvre au moyen d'un dispositif microfluidique selon l'une quelconque des caractéristiques précédentes, toutes les chambres microfluidiques étant initialement à l'état fermé et au moins une des chambres microfluidiques contenant un réactif embarqué, ledit procédé comportant les étapes suivantes :

- injection d'un liquide correspondant au fluide d'intérêt dans le dispositif microfluidique, et
- 30 - commutation de l'état des chambres microfluidiques (entre état fermé et état ouvert) selon une séquence d'opérations prédéterminée adaptée pour contrôler le passage du liquide entre les différentes chambres.

[0041] Ainsi, de chambre en chambre, le liquide se mélange aux réactifs réalisant par exemple un protocole d'analyse biologique à plusieurs étapes.

35 **[0042]** Avantageusement, le procédé comporte des étapes de brassage en faisant basculer le liquide entre deux chambres microfluidiques un nombre déterminé de fois.

[0043] Ceci permet d'accélérer le mélange entre le liquide réactionnel et le ou les réactif(s).

[0044] Avantageusement, le procédé comporte une étape de mesure optique (de fluorescence ou colorimétrique) du liquide (réactionnel) dans au moins une (dernière) chambre de détection.

40 **[0045]** Ainsi, on peut facilement analyser (ou lire) le résultat du protocole d'analyse.

BRÈVE DESCRIPTION DES DESSINS

45 **[0046]** On décrira à présent, à titre d'exemples non limitatifs, des modes de réalisation de l'invention, en se référant aux dessins annexés, dans lesquels :

La Fig. 1 illustre de manière très schématique un dispositif microfluidique de contrôle d'écoulement d'un fluide d'intérêt, selon l'invention ;

50 La Fig. 2 illustre de manière très schématique un dispositif microfluidique de contrôle d'écoulement d'un fluide d'intérêt, selon un mode de réalisation de l'invention ;

La Fig. 3 illustre de manière très schématique un dispositif microfluidique de contrôle d'écoulement d'un fluide d'intérêt, selon un premier mode de réalisation préféré de l'invention ;

Les Figs. 4A et 4B illustrent de manière schématique un assemblage du dispositif microfluidique par un plaquage mécanique ;

55 Les Figs. 5A et 5B illustrent de manière schématique les états d'une chambre microfluidique selon le mode de réalisation de la Fig. 3 ;

La Fig. 6A illustre de manière schématique un procédé d'analyse mis en oeuvre au moyen d'un dispositif microfluidique selon l'invention ;

La Fig. 6B illustre une première chambre microfluidique dans un état fermé et une deuxième chambre microfluidique dans un état ouvert selon le procédé de la Fig. 6A;

La Fig. 7 illustre de manière très schématique un dispositif microfluidique de contrôle d'écoulement d'un fluide d'intérêt, selon un deuxième mode de réalisation préféré de l'invention ;

Les Figs. 8A et 8B illustrent de manière schématique les états d'une chambre microfluidique selon le mode de réalisation de la Fig. 7 ; et

Les Figs. 9A à 9C illustrent de manière très schématique différentes configurations d'un dispositif microfluidique, selon d'autres modes de réalisation de l'invention.

EXPOSÉ DÉTAILLÉ D'UN MODE DE RÉALISATION PRÉFÉRÉ

[0047] Le concept à la base de l'invention consiste à contrôler l'écoulement d'un fluide à travers une succession de réservoirs sans utiliser des vannes et sans recourir à des forces capillaires.

[0048] La Fig. 1 illustre de manière très schématique un dispositif microfluidique de contrôle d'écoulement d'un fluide d'intérêt, selon l'invention.

[0049] Le dispositif microfluidique 1 comporte un réseau microfluidique 3 comprenant au moins une suite de chambres microfluidiques 5 reliées entre elles de manière séquentielle. Les chambres microfluidiques 5 sont aptes à être déformées de manière rétractée ou déployée. Plus particulièrement, chaque chambre microfluidique 5 est commutable entre un premier état fermé empêchant ou bloquant l'écoulement du fluide d'intérêt à travers la chambre 5 et un second état ouvert allouant à la chambre à l'état ouvert un volume prédéterminé tout en pompant (aspirant) le fluide d'intérêt dans cette chambre. L'état ouvert autorise ainsi l'écoulement du fluide d'intérêt tout en calibrant le volume de la chambre. Plus particulièrement, le volume de chaque chambre 5 est modulable ou gonflable entre un volume quasi nul et un volume calibré ou prédéterminé non nul. Lorsque la chambre 5 est dans un état fermé, son volume est nul et par conséquent, l'avancée du fluide est bloquée. En revanche, lorsque la chambre est dans un état ouvert, son volume est calibré et le fluide peut s'écouler pour remplir la chambre. L'action de commutation de l'état d'une chambre d'un état fermé à un état ouvert permet de pomper le fluide dans cette chambre. Ainsi, l'actionnement successif des chambres microfluidiques 5 entre un état fermé et un état ouvert permet de déplacer un volume réactionnel de chambre en chambre sans utiliser des vannes auxiliaires et sans recourir à des pompes ou forces capillaires. On notera que les volumes des différentes chambres 5 à l'état ouvert sont identiques. Avantagusement, le volume d'une chambre 5 à l'état ouvert est de l'ordre de quelques centaines de nanolitres à quelques centaines de microlitres.

[0050] Le dispositif microfluidique 1 comporte également un réservoir ou orifice d'entrée 7 adapté pour recevoir un échantillon d'un fluide d'intérêt. L'orifice d'entrée 7 est relié à une entrée du réseau microfluidique et plus particulièrement à une première chambre de la suite de chambres microfluidiques 5. Une seule suite de chambre est représentée sur la Fig. 1 mais bien entendu, le dispositif microfluidique peut comporter une pluralité de suites de chambres (voir Figs. 9A et 9B) et éventuellement une pluralité d'orifices d'entrée.

[0051] Le dispositif microfluidique 1 peut être utilisé pour effectuer une analyse chimique ou biologique sur un échantillon d'un fluide d'intérêt consistant par exemple d'un fluide biologique. En effet, des réactifs peuvent être embarqués sous forme séchée dans au moins une des chambres microfluidiques 5. Ainsi, et de chambre en chambre, le fluide d'intérêt placé dans l'orifice d'entrée 7 se mélange aux réactifs dans le but de réaliser un protocole d'analyse à plusieurs étapes.

[0052] La Fig. 2 illustre de manière très schématique un dispositif microfluidique de contrôle d'écoulement d'un fluide d'intérêt, selon un mode de réalisation de l'invention.

[0053] Le dispositif microfluidique 1 comporte deux substrats 11, 13 et une membrane déformable 15 disposée entre les deux substrats.

[0054] Le premier substrat 11 comprend une première surface microfluidique 111 et le deuxième substrat 13 comprend une deuxième surface microfluidique 131. Les première et deuxième surfaces 111, 131 sont parallèles entre elles et séparées l'une de l'autre par la membrane déformable 15. Les première et deuxième surfaces 111, 131 peuvent être de forme rectangulaire ou circulaire ou de toute autre forme.

[0055] Dans toute la description qui va suivre, par convention, on utilise un repère orthonormé direct en coordonnées cartésiennes (X,Y,Z) présenté sur la Fig. 2A. Le plan (X,Y) est parallèle auxdites première et deuxième surfaces 111, 131 et la direction Z est orientée à partir de la deuxième surface 131 vers la première surface 111.

[0056] Chacun des premier 11 et deuxième 13 substrats présente une épaisseur dans la direction Z entre environ 200 μm et 4 mm et une surface (i.e., aire de la première ou de la deuxième surface microfluidique dans un plan (X,Y)) de l'ordre de plusieurs centimètres carrés, typiquement une surface équivalente à une lame de microscope ou une carte de crédit. La membrane déformable présente une épaisseur (dans la direction Z) de l'ordre d'une centaine de microns (10 μm à 1mm) par exemple 300 μm .

[0057] Le matériau du premier substrat 11 et/ou du deuxième substrat 13 est sélectionné parmi les matériaux suivants : polymère polycarbonate, PMMA, COC, silicium, et papier. La membrane 15 est formée d'un matériau très déformable

comme par exemple en élastomère de la famille des silicones (exemple PDMS polydiméthylsiloxane, Ecoflex®).

[0058] Au moins une suite de cavités 51 est formée sur l'une ou l'autre des première et deuxième surfaces microfluidiques 111, 131. A titre d'exemple, la Fig. 3 montre que les cavités 51 sont formées sur la première surface microfluidique 111 du premier substrat 11 et la Fig. 7 montre que les cavités 51 sont formées sur la deuxième surface microfluidique 131 du deuxième substrat 13.

[0059] Avantagusement, les cavités 51 ont une forme de calotte sphérique dont la base a un diamètre dans un plan (X,Y) entre environ 1 mm et 1 cm et dont la hauteur dans la direction Z est entre environ 100 µm et 1 mm.

[0060] La suite de cavités 51 délimite avec la membrane déformable 15 la suite de chambres microfluidiques 5. La membrane déformable 15 est apte à être déformée au niveau de chaque chambre microfluidique 5 pour être plaquée contre une partie de la première surface microfluidique 111 ou contre une partie de la deuxième surface microfluidique 131 permettant ainsi de commuter l'état de chaque chambre microfluidique 5 entre les premier et second états. La membrane est adaptée pour ouvrir ou bloquer le passage du fluide ainsi que pour pomper le fluide depuis un réservoir ou une chambre vers au moins une autre chambre.

[0061] En effet, le dispositif microfluidique 1 comporte un mécanisme d'actionnement 21 adapté pour agir sur la membrane 15 au niveau de chaque chambre microfluidique 5 afin de commuter l'état de la chambre microfluidique sélectionnée. Le mécanisme d'actionnement 21 peut être de type pneumatique ou mécanique.

[0062] En outre, au moins une suite de canaux microfluidiques de communication 25 est formée sur l'une ou l'autre des première et deuxième surfaces microfluidiques 111, 131. Chaque suite de canaux microfluidiques de communication 25 relie de manière séquentielle la suite de chambres microfluidiques 5 (ici, une seule suite de canaux microfluidiques de communication 25 formée sur la première surface 111 et une seule suite de chambres microfluidiques 5 sont illustrées). Plus particulièrement, les différents canaux de la suite de canaux microfluidiques de communication 25 connectent en série les différentes chambres microfluidiques 5, chaque canal de communication 25 présentant une longueur entre environ 1 mm et 5 mm et une section entre environ 50 µm et 500 µm de côté. La suite de canaux microfluidiques de communication 25 présente un volume plus petit que celui de la suite de cavités 51.

[0063] Selon un mode de réalisation préférentiel de l'invention, le volume d'un canal microfluidique de communication 25 est au plus dix fois plus petit que le volume d'une chambre microfluidique 5. Soit V_1 le volume d'une chambre 5 et V_2 le volume d'un canal microfluidique de communication 25. L'actionnement de deux chambres consécutives génère un déplacement de liquide de $V_1 - V_2$, car le volume V_2 reste perdu dans le canal 25. Pour N déplacements on perd un volume fluide de $N \times V_2$. Ainsi, si le système est initialement rempli d'air (plus précisément, les canaux microfluidiques 25 sont remplis d'air et toutes les chambres microfluidiques 5 en position fermée/bloquée), alors, après un déplacement fluide de la première à la deuxième chambre, l'expérience montre l'apparition d'une bulle d'un volume environ équivalent au volume V_2 . Après N déplacements, le volume de la bulle d'air est N fois plus grand. De même, si le système est initialement rempli d'un liquide tampon par exemple de l'eau, (plus précisément les canaux 25 sont sous l'eau et toutes les chambres microfluidiques 5 en position fermée), alors après un déplacement, l'expérience montre que la solution transportée est légèrement diluée. Ainsi, à chaque nouveau déplacement on observera une nouvelle légère dilution.

[0064] Il est donc avantageux de réduire au maximum le ratio V_2/V_1 afin de minimiser l'apparition de bulles d'air (ou du moins en réduire leur volume) ou pour éviter de diluer les réactifs/échantillons transportés de chambre en chambre. Ceci est d'autant plus avantageux que le nombre de chambres nécessaire au protocole d'analyse est grand.

[0065] A titre d'exemple, chaque cavité 51 présente une base de 3mm et une hauteur de 300µm définissant un volume de chambre à l'état ouvert de 1.1 µl, alors que chaque canal microfluidique de communication 25 mesure 3mm*100µm*300µm, ce qui représente un volume de 0.1µl. Ainsi, lors d'une analyse chimique ou biologique, on peut avantagusement viser des volumes réactionnels de quelques microlitres.

[0066] En outre, le dispositif microfluidique 1 comporte un réservoir ou orifice d'entrée 7 formé dans le premier substrat 11 et relié à une entrée 251 de la suite de canaux microfluidiques de communication 25 (i.e. au premier canal de la suite de canaux). Eventuellement, le dispositif microfluidique 1 comporte un orifice ou réservoir de sortie (non représenté) formé dans le premier substrat 11 ou le deuxième substrat 13 et relié à une sortie 253 de la suite de canaux microfluidiques de communication 25 (i.e. au dernier canal de la suite de canaux).

[0067] Par ailleurs, des trous (ou canaux) d'actionnement 27 (voir Figs. 3 et 7) sont avantagusement formés dans le premier 11 ou deuxième 13 substrat selon la direction Z pour déboucher aux niveaux des chambres microfluidiques 5. Ces trous d'actionnement 27 sont utilisés pour actionner la membrane déformable 15 par des mécanismes d'actionnement pneumatique ou mécanique. Par exemple par une action de plaquage par suctions (effet ventouse).

[0068] Le réseau fluide 2, c'est-à-dire les orifices d'entrée 7 et éventuellement de sortie, les cavités 51, les canaux microfluidiques de communication 25 reliant les cavités 51, et les trous 27 ou ouvertures pour l'actionnement pneumatique ou mécanique sont usinés selon des procédés connus par les industries de la plasturgie telles que l'usinage mécanique avec une machine à commande numérique, par impression 3D, ou de préférence par injection. Le premier substrat 11, la membrane 15 et le deuxième substrat 13 sont assemblés de manière à assurer un contact étanche entre la membrane 15 et les première et deuxième surfaces 111, 131 des premier et deuxième substrats tout en aménageant un espace

d'écoulement au niveau des cavités 51 et des canaux microfluidiques de communication 25. L'assemblage peut être réalisé par collage, par plasma, ou par un plaquage mécanique.

[0069] On notera qu'un réactif est avantageusement déposé dans au moins une des chambres microfluidiques 5 soit sur la membrane 15 ou soit sur les parois de la cavité 51 avant l'assemblage du dispositif microfluidique 1. Ainsi, au moins une des chambres microfluidiques 5 contient un réactif embarqué sous forme séché ou lyophilisé et adapté pour réagir avec le fluide d'intérêt.

[0070] La Fig. 3 illustre de manière très schématique un dispositif microfluidique de contrôle d'écoulement d'un fluide d'intérêt, selon un premier mode de réalisation préféré de l'invention. En particulier, cette figure illustre une section du dispositif microfluidique selon un plan (Y,Z).

[0071] Selon ce premier mode de réalisation, la ou les suite(s) de cavités 51 (en forme de calotte sphérique) et la ou les suite(s) de canaux microfluidiques de communication 25 sont formés sur la première surface microfluidique 111 du premier substrat 11. Plus particulièrement, chaque suite de canaux microfluidiques de communication 25 relie de manière séquentielle la suite de cavités 51, chaque canal 25 reliant deux cavités 51 consécutives. Par ailleurs, l'orifice d'entrée 7 est formé dans le premier substrat 11.

[0072] Des trous d'actionnement 27 sont formés dans le deuxième substrat 13 débouchant après assemblage du dispositif 1 en regard des cavités 51. En outre, la membrane déformable 15 est disposée entre le premier substrat 11 (correspondant ici selon l'orientation Z à une plaque supérieure) et le deuxième substrat 13 (correspondant à une plaque inférieure). Ainsi, la suite de chambres microfluidiques 5 est formée par la membrane déformable 15 et la suite de cavités 51. Autrement dit, chaque chambre microfluidique 5 est délimitée par une cavité 51 correspondante et une partie correspondante de la membrane 15 de sorte que l'état (ouvert ou fermé) de la chambre 5 est défini par l'actionnement de cette partie correspondante de la membrane 15.

[0073] A titre d'exemple, les deux substrats 11 et 13 peuvent être assemblés avec la membrane déformable 15 par collage dont l'enduction peut être effectuée par sérigraphie afin de ne pas coller localement la membrane au niveau des cavités 51 ou canaux microfluidiques de communication 25 sur les premier 11 ou deuxième substrats 13.

[0074] Un assemblage sans colle peut aussi être envisagé en exposant les première et deuxième surfaces microfluidiques 111, 131 à un plasma d'oxygène avant assemblage. Dans ce cas, on peut aussi réaliser un traitement localisé pour ne pas coller la membrane déformable 15 au niveau des cavités 51 ou canaux microfluidiques de communication 25.

[0075] Selon encore un autre exemple, on peut tout simplement assembler les trois éléments (i.e. le premier substrat 11, la membrane 15, et le deuxième substrat 13) par un plaquage mécanique assuré par un système de bride (serre joint, vis etc...) ou tout système mécanique connu (clips, rivets etc...) permettant de maintenir un bon contact et une bonne étanchéité entre la membrane 15 et les deux substrats 11 et 13 sauf au niveau des cavités 51 et canaux microfluidiques 25.

[0076] En effet, les Figs. 4A et 4B illustrent de manière schématique un assemblage du dispositif microfluidique par un plaquage mécanique. Plus particulièrement, la Fig. 4A illustre une vue éclatée avant l'assemblage et la Fig. 4B illustre une vue du dispositif microfluidique après l'assemblage.

[0077] Selon cet exemple, le premier substrat 11 (correspondant à une plaque supérieure) comporte les canaux microfluidiques de communication et les empreintes des cavités 51 en forme de calotte sphérique. Des réactifs 31 ont été dispensés et séchés sur les parois des cavités 51.

[0078] Le deuxième substrat 13 (correspondant à une plaque inférieure) comporte des trous d'actionnement 27 et des ergots 135. Le nombre d'ergots dépend de la surface du dispositif microfluidique 1. L'assemblage s'effectue tout simplement en mettant en contact le premier substrat 11 et la membrane déformable 15 sur le deuxième substrat 13 et le maintien est obtenu par les ergots 135. La face inférieure de la membrane déformable 15 est en contact avec la deuxième surface 131 du deuxième substrat 13 (capot inférieur) et la face supérieure de membrane déformable 15 est en contact avec la première surface 111 du premier substrat 111 (capot supérieur). A titre d'exemple, pour un dispositif microfluidique 1 ayant la taille d'une lame de microscope, on placera une dizaine d'ergots répartis autour du dispositif afin de bien répartir la force de plaquage.

[0079] Les Figs. 5A et 5B illustrent de manière schématique les états d'une chambre microfluidique selon le mode de réalisation de la Fig. 3.

[0080] Plus particulièrement, la Fig. 5A illustre une vue d'une section dans un plan (Y,Z) d'une chambre microfluidique 5 dans un état fermé où la partie correspondante de la membrane 15 est mise dans une forme rétractée. En effet, selon cet état, la partie de la membrane 15 correspondante à la chambre 5 est plaquée sur une partie de la première surface microfluidique 111 de la plaque supérieure 11 tout en épousant parfaitement la forme de la cavité 51 correspondante de sorte que le volume entre la membrane 15 et la cavité 51 est quasiment nul bloquant ainsi l'écoulement du fluide d'intérêt au travers de la chambre 5. Ici la cavité 51 présente une forme d'une calotte sphérique et la membrane 15 épouse localement la forme de la calotte 51 sphérique fermant ainsi l'accès à la chambre microfluidique 5.

[0081] La Fig. 5B illustre une vue d'une chambre microfluidique 5 dans un état ouvert où la partie correspondante de la membrane déformable 15 est mise dans une forme déployée. En effet, selon cet état, la partie de la membrane correspondante à la chambre 5 est plaquée sur une partie de la deuxième surface microfluidique 131 de la plaque

inférieure 13 de sorte que la membrane 15 et la cavité 51 correspondante délimitent un réservoir de volume prédéterminé égal à celui de la cavité 51 autorisant ainsi l'écoulement du fluide d'intérêt dans la chambre 5.

[0082] Selon ce premier mode de réalisation, le dispositif microfluidique 1 comporte un mécanisme d'actionnement pneumatique 21 adapté pour agir sur la membrane déformable 15 au niveau de chaque chambre microfluidique 5 afin de commuter l'état de la chambre microfluidique sélectionnée.

[0083] En effet, le mécanisme d'actionnement pneumatique 21 est adapté pour déformer au moins une partie de la membrane 15 en exerçant une pression ou une impulsion de pression au moyen d'un fluide de pression, et en particulier d'un gaz de pression via les trous d'actionnement 27 formés dans le deuxième substrat 13 et débouchant aux niveaux des chambres microfluidiques 5. Ainsi, le changement d'état d'une chambre microfluidique 5 quelconque est réalisé par une modification de la valeur de pression exercée localement sur la membrane 15 (ici sous la membrane) via le trou d'actionnement 27 correspondant à la chambre microfluidique 5.

[0084] Le mécanisme d'actionnement pneumatique 21 comporte un automate 211 permettant de programmer la pression dans chaque trou d'actionnement 27. Une pression positive permet de soulever (ou rétracter) la membrane déformable 15 au niveau local fermant ainsi la chambre microfluidique 5 alors qu'une pression négative assure le plaquage de la membrane déformable 15 au niveau local sur la deuxième surface microfluidique 131 de la plaque inférieure 13 et donc l'ouverture de la chambre microfluidique 5. En variante, le retour à l'état ouvert de la chambre microfluidique 5 peut être simplement assuré par la raideur de la membrane 15 si celle-ci est suffisamment rigide, et l'état ouvert peut donc être obtenu avec une pression nulle (i.e. une mise à la pression atmosphérique).

[0085] En variante, le mécanisme d'actionnement 21 peut être un mécanisme mécanique adapté pour déformer la membrane déformable 15 en actionnant des pistons (non illustrés) via les trous d'actionnement 27 formés dans le deuxième substrat 131.

[0086] La Fig. 6A illustre de manière schématique un procédé d'analyse mis en oeuvre au moyen d'un dispositif microfluidique selon l'invention.

[0087] Par la suite, on désignera une chambre microfluidique 5 quelconque « R » de rang « i » dans un état fermé par « $R_i=0$ » et dans un état ouvert par « $R_i=1$ ».

[0088] Initialement, toutes les chambres microfluidiques 5 sont à l'état fermé ($R_i=0$ pour tout i) et au moins une des chambres microfluidiques 5 contient un réactif 31 embarqué.

[0089] A l'étape E0, un échantillon d'un liquide réactionnel 33 (correspondant au fluide d'intérêt) est injecté dans l'orifice d'entrée 7 du dispositif microfluidique 1. Le liquide réactionnel 33 est par exemple un liquide biologique (sang, salive, urine, etc.) ou un liquide chimique qui doit être analysé selon un protocole à multi étapes.

[0090] Aux étapes E1-E2, l'état des chambres microfluidiques 5 est commuté de l'état fermé à l'état ouvert selon une séquence d'opérations prédéterminée adaptée pour contrôler le passage du liquide réactionnel 33 entre les différentes chambres microfluidiques 5.

[0091] Plus particulièrement, à l'étape E1, la membrane déformable 15 est actionnée au niveau de la première chambre R1 qui passe alors de l'état fermé vers l'état ouvert ($R_1=0 \rightarrow R_1=1$) permettant l'aspiration d'un volume d'échantillon calibré dans la première chambre. Cette chambre contient les réactifs 31 embarqués qui sont dissous en contact du liquide 33. Cette première étape permet d'effectuer la première opération du protocole biologique ou chimique en mélangeant l'échantillon 33 avec le premier réactif 31.

[0092] A l'étape suivante E2, l'actionnement de la membrane déformable 15 au niveau de la deuxième chambre R2 permet d'ouvrir cette chambre et de pomper le volume réactionnel dans la deuxième chambre ($R_2=0 \rightarrow R_2=1$). Simultanément, ou avec un retard (de l'ordre de quelques secondes), la première chambre se rétracte ($R_1=0 \rightarrow R_1=1$). De même, le liquide dissout les réactifs embarqués dans la deuxième chambre R2 afin d'effectuer la deuxième opération du protocole d'analyse.

[0093] En particulier, la Fig. 6B illustre une vue de dessus d'une partie d'un dispositif microfluidique 1 selon l'invention montrant une première chambre microfluidique 5 dans un état fermé « $R_1=0$ » ne contenant aucun fluide et une deuxième chambre microfluidique 5 dans un état ouvert « $R_2=0$ » contenant le liquide réactionnel 33 (éventuellement mélangé avec le réactif).

[0094] Ainsi, et de proche en proche, pour chaque opération sur une chambre R_i : on a l'ouverture de la chambre ($R_i=0 \rightarrow R_i=1$) alors que les autres chambres (i.e. pour tout j supérieur à i et pour tout j inférieur à i) restent fermées.

[0095] La succession des états du procédé de la Fig. 6A pour un protocole à quatre opérations effectuées dans quatre chambres microfluidiques 5 successives peut être résumée dans le tableau T1 de la manière suivante :

Tableau : T1

N° étape	R1	R2	R3	R4
Initiale	0	0	0	0
E1	1	0	0	0

EP 3 085 444 A1

(suite)

N° étape	R1	R2	R3	R4
E2	0	1	0	0
E3	0	0	1	0
E4	0	0	0	1

[0096] Selon un autre exemple, le protocole à quatre opérations peut être défini, pour chaque opération (ou étape Ei) par l'ouverture de la chambre de rang « i » ($R_i=0 \rightarrow R_i=1$) alors que les chambres restent fermées pour tout j supérieur à i et ouvertes pour tout j inférieur à i selon les étapes du tableau T2 de la manière suivante :

Tableau : T2

N° étape	R1	R2	R3	R4
Initiale	0	0	0	0
E1	1	0	0	0
E2	1	1	0	0
E3	1	1	1	0
E4	1	1	1	1

[0097] D'autres variantes sont possibles en rajoutant par exemple une chambre tampon « RT » pour initier le protocole et favoriser le remplissage de la première chambre microfluidique R1 et isoler le réservoir du liquide réactionnel 33 situé en amont dans l'orifice d'entrée 7 selon la table T3 de la manière suivante :

Tableau : T3

N° étape	RT	R1	R2	R3	R4
Initiale	0	0	0	0	0
E11	1	0	0	0	0
E12	1	1	0	0	0
E13	0	1	0	0	0
E14	0	0	1	0	0
E15	0	0	0	1	0
E16	0	0	0	0	1

[0098] L'exemple du tableau T3 permet de définir un volume de fluide discret ayant un volume parfaitement déterminé par le volume de la chambre R1. Ce volume d'échantillons est transporté de proche en proche sur les réservoirs R2 à R4 par les changements d'états de différentes chambres.

[0099] Par ailleurs, comme indiqué sur le tableau T4, il est possible aussi de générer (étape E24) puis déplacer (étape E25) un doublon avec deux réservoirs consécutifs placés à l'état 1. On peut aussi « couper en deux le doublon » (étape E26) puis le réassembler (étape E27), etc.

[0100] Ainsi, sur un même dispositif on peut réaliser une grande variété de protocoles comprenant des étapes de formation de volume, transport, mélange, division, etc. en changeant simplement la programmation de la succession des états de chaque réservoir.

Tableau : T4

N° étape	RT	R1	R2	R3	R4
Initiale	0	0	0	0	0
E31	1	0	0	0	0

(suite)

N° étape	RT	R1	R2	R3	R4
E32	1	1	0	0	0
E33	1	0	1	0	0
E34	0	1	1	0	0
E35	0	0	1	1	0
E36	0	0	1	0	1
E37	0	0	1	1	0
E38	0	0	1	0	1

[0101] Avantageusement, le procédé comporte des étapes de brassage en faisant basculer le liquide 33 entre deux chambres microfluidiques 5 un nombre déterminé de fois. En effet, pour assister et accélérer le mélange entre l'échantillon 33 et les réactifs 31 dans une chambre 5 de rang « i », on peut réaliser des étapes de brassage en faisant circuler le liquide entre la chambre de rang « i » et celle de rang « i-1 ». Le tableau T5 ci-dessous explique le mélange de réactif entre les chambres R2 et R3 en faisant basculer le liquide entre ces deux chambres microfluidiques 5 pendant sept opérations. Avantageusement, une dizaine de basculements permet de bien homogénéiser le mélange réactionnel par brassage.

Tableau : T5

N° étape	T	R1	R2	R3	R4
Melange R3	0	0	0	1	0
	0	0	1	0	0
	0	0	0	1	0
	0	0	1	0	0
	0	0	0	1	0
	0	0	1	0	0
	0	0	0	1	0
Etc...					

[0102] Finalement, le procédé d'analyse comporte une dernière étape E4 (Fig. 6A) de mesure du liquide dans au moins une chambre de détection. En effet, le résultat du protocole d'analyse peut s'effectuer par exemple par une mesure de fluorescence ou par colorimétrie suivant le protocole utilisé. Généralement cette opération s'effectue à la fin du protocole donc dans la dernière chambre microfluidique 5.

[0103] Avantageusement, le premier substrat 11 et/ou le deuxième substrat 13 et/ou la membrane 15 sont réalisés dans un matériau transparent permettant ainsi de voir le contenu des chambres microfluidiques 5 et de faciliter la mesure optique du résultat.

[0104] On notera que d'autres moyens de détection connus par l'homme du métier comme par exemple une détection électrique (conductimétrie, mesure électrochimique, etc.) sont aussi envisageables.

[0105] La Fig. 7 illustre de manière très schématique un dispositif microfluidique de contrôle d'écoulement d'un fluide d'intérêt, selon un deuxième mode de réalisation préféré de l'invention.

[0106] Selon ce deuxième mode de réalisation, chaque suite de cavités 51 (en forme de calotte sphérique) est formée sur la deuxième surface microfluidique 131 du deuxième substrat 13. En outre, chaque suite de canaux microfluidiques de communication 25 est formée sur la première surface microfluidique 111 du premier substrat 11. La continuité entre les différents canaux d'une suite de canaux microfluidiques 25 formée sur le premier substrat 11 est assurée par les cavités 51 de la suite de cavité correspondante formée sur le deuxième substrat 13. Autrement dit, les cavités 51 formées sur la deuxième surface microfluidique 131 présentent des positions et diamètres complémentaires aux positions et longueurs des canaux 25 formés sur la première surface microfluidique 111.

[0107] Par ailleurs, l'orifice d'entrée 7 est formé dans le premier substrat 11 et les trous d'actionnement 27 sont formés dans le deuxième substrat 13. On notera qu'ici, les trous d'actionnement 27 débouchent dans les cavités 51 correspon-

dantes.

[0108] Comme le premier mode de réalisation, la membrane déformable 15 est disposée entre le premier substrat 11 (correspondant ici selon l'orientation Z à une plaque supérieure) et le deuxième substrat 13 (correspondant à une plaque inférieure). Ainsi, la suite de chambres microfluidiques 5 est formée par la membrane déformable 15 et la suite de cavités 51.

[0109] Toutefois, selon ce deuxième mode de réalisation, une chambre microfluidique 5 est dans un état ouvert lorsque la partie de la membrane 15 correspondante est déformée et elle est dans un état fermé lorsque la partie de la membrane 15 correspondante est relâchée.

[0110] En effet, les Figs. 8A et 8B illustrent de manière schématique les états d'une chambre microfluidique selon le mode de réalisation de la Fig. 7.

[0111] Plus particulièrement, la Fig. 8A illustre une vue d'une chambre microfluidique dans un état fermé où la partie correspondante de la membrane déformable 15 est mise dans une forme relâchée en maintenant par exemple une pression atmosphérique via le trou d'actionnement 27 formé dans le deuxième substrat 13. En effet, selon cet état, la partie de la membrane 15 correspondante à la chambre 5 est plaquée sur la partie correspondante de la première surface microfluidique 111 (i.e. sur la plaque supérieure) de sorte que le volume entre la membrane 15 et cette première surface 111 est quasiment nul bloquant ainsi l'écoulement du fluide d'intérêt au travers de la chambre.

[0112] La Fig. 8B illustre une vue d'une chambre microfluidique 5 dans un état ouvert où la partie correspondante de la membrane est mise dans une forme déformée. La déformation de la membrane 15 au niveau de la chambre 5 peut être réalisée en exerçant une pression négative via le trou d'actionnement 27 formé dans le deuxième substrat 13. Ainsi, la partie de la membrane 15 correspondante à la chambre 5 est aspirée pour être plaquée sur la partie correspondante de la deuxième surface microfluidique 131 (i.e., la plaque inférieure) tout en épousant la forme de la cavité 51 correspondante de sorte que la membrane 15 déformée et la partie correspondante de la première surface microfluidique 111 délimitent un réservoir de volume prédéterminé égal à celui de la cavité 51 autorisant ainsi l'écoulement du fluide d'intérêt dans ce réservoir.

[0113] Les Figs. 9A, 9B et 9C illustrent de manière très schématique différentes configurations d'un dispositif microfluidique, selon d'autres modes de réalisation de l'invention.

[0114] Le réseau microfluidique 3 comporte un ensemble de branches microfluidiques 37 connectées à un même orifice d'entrée 7. Chaque branche microfluidique 37 comporte une suite de canaux microfluidiques de communication 25 reliant de manière séquentielle une suite correspondante de chambres microfluidiques 5. Ainsi, plusieurs réactions en parallèle peuvent être effectuées sur un même volume d'échantillon. En plaçant différents réactifs dans les différentes branches 37, il est ainsi possible de réaliser plusieurs analyses sur le même échantillon placé dans l'orifice d'entrée.

[0115] La Fig. 9A montre que les branches 37 sont disposées en peigne tandis que la Fig. 9B montre que les branches 37 sont disposées en étoile à partir de l'orifice d'entrée 7.

[0116] La Fig. 9C montre un exemple de réseau plus complexe comportant des intersections ou croisements entre plusieurs chemins fluidiques. Chaque intersection permet d'effectuer une opération de mélange entre différents liquides, ou pour transporter différents échantillons ou réactifs sur une partie du réseau microfluidique. Notons que la taille des chambres des différents chemins peut être différente. A titre d'exemple, les flèches sur la figure 9C indiquent les sens possibles de déplacement des volumes fluidiques.

Revendications

1. Dispositif microfluidique de contrôle d'écoulement d'au moins un fluide d'intérêt, **caractérisé en ce qu'il** comporte :

- un premier substrat (11) ayant une première surface microfluidique (111),
- un deuxième substrat (13) ayant une deuxième surface microfluidique (131),
- une membrane déformable (15) disposée entre lesdites première et deuxième surfaces microfluidiques,
- au moins une suite de cavités (51) formée sur l'une ou l'autre des première et deuxième surfaces microfluidiques et délimitant avec ladite membrane (15) une suite de chambres microfluidiques (5), ladite membrane déformable étant apte à être déformée au niveau de chaque chambre microfluidique (5) pour être plaquée contre une partie de la première surface microfluidique (111) ou contre une partie de la deuxième surface microfluidique (131) permettant ainsi de commuter l'état de chaque chambre microfluidique (5) entre un premier état fermé bloquant l'écoulement du fluide d'intérêt et un second état ouvert allouant un volume prédéterminé à ladite chambre, la membrane étant adaptée pour ouvrir ou bloquer le passage du fluide ainsi que pour pomper le fluide depuis une chambre vers au moins une autre chambre, et
- au moins une suite de canaux microfluidiques de communication (25) formée sur l'une ou l'autre des première et deuxième surfaces microfluidiques, ladite suite de canaux microfluidiques reliant de manière séquentielle ladite suite de chambres microfluidiques, ladite au moins une suite de canaux microfluidiques de communication

(25) présentant un volume plus petit que celui de ladite au moins une suite de cavités (51).

2. Dispositif microfluidique selon la revendication 1, **caractérisé en ce qu'**au moins une des chambres microfluidiques contient un réactif (31) embarqué adapté pour réagir avec le fluide d'intérêt.

3. Dispositif microfluidique selon la revendication 1 ou 2, **caractérisé en ce que** le volume d'un canal microfluidique de communication (25) est d'environ dix fois plus petit que le volume d'une cavité.

4. Dispositif microfluidique selon l'une quelconque des revendications précédentes, **caractérisé en ce que** le réseau microfluidique comporte un orifice d'entrée (7) formé dans le premier substrat (11) et relié à une entrée de ladite au moins une suite de canaux microfluidiques de communication (25), ledit orifice étant adapté pour recevoir le fluide d'intérêt.

5. Dispositif microfluidique, selon l'une quelconque des revendications précédentes, **caractérisé en ce que** le premier substrat, la membrane (15) et le deuxième substrat (13) sont assemblés de manière à assurer un contact étanche entre la membrane et les première et deuxième surfaces microfluidiques (111, 131) des premier et deuxième substrats (11, 13) tout en aménageant un espace d'écoulement au niveau des cavités et des canaux microfluidiques de communication.

6. Dispositif microfluidique selon la revendication 5, **caractérisé en ce que** l'assemblage est réalisé par collage, par plasma, ou par un plaquage mécanique.

7. Dispositif microfluidique selon l'une quelconque des revendications précédentes, **caractérisé en ce qu'**il comporte un mécanisme d'actionnement (21) adapté pour agir sur la membrane déformable (15) au niveau de chaque chambre microfluidique (5) afin de commuter l'état de la chambre microfluidique sélectionnée.

8. Dispositif microfluidique selon la revendication 7, **caractérisé en ce que** le mécanisme d'actionnement (21) est un mécanisme pneumatique adapté pour déformer la membrane (15) en exerçant une pression via des trous d'actionnement (27) formés dans le deuxième substrat (13) et débouchant aux niveaux des chambres microfluidiques (5), le changement d'état d'une chambre microfluidique quelconque étant réalisé par une modification de la valeur de pression exercée sur la membrane via le trou d'actionnement correspondant à ladite chambre microfluidique.

9. Dispositif microfluidique selon l'une quelconque des revendications précédentes, **caractérisé en ce que** ladite au moins une suite de cavités et ladite au moins une suite de canaux microfluidiques de communication sont formées sur la première surface microfluidique (111), une chambre microfluidique (5) étant dans un état ouvert lorsque la membrane déformable (15) est plaquée sur la deuxième surface microfluidique (131) de sorte que la membrane et la cavité correspondante délimitent un réservoir de volume prédéterminé égal à celui de la cavité autorisant ainsi l'écoulement du fluide d'intérêt dans ledit réservoir, et une chambre microfluidique étant dans un état fermé lorsque la membrane est plaquée sur la première surface microfluidique (111) tout en épousant la forme de la cavité correspondante de sorte que le volume entre la membrane et la cavité est quasiment nul bloquant ainsi l'écoulement du fluide d'intérêt au travers de ladite chambre.

10. Dispositif microfluidique selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, **caractérisé en ce que** ladite au moins une suite de cavités est formée sur la deuxième surface microfluidique et ladite au moins une suite de canaux microfluidiques de communication est formée sur la première surface microfluidique, une chambre microfluidique (5) étant dans un état ouvert lorsque la membrane (15) est plaquée sur la deuxième surface microfluidique (131) tout en épousant la forme de la cavité correspondante de sorte que la membrane et la première surface microfluidique (111) délimitent un réservoir de volume prédéterminé égal à celui de la cavité autorisant ainsi l'écoulement du fluide d'intérêt dans ledit réservoir, et une chambre microfluidique étant dans un état fermé lorsque la membrane (15) est plaquée sur la première surface microfluidique (111) de sorte que le volume entre la membrane et la première surface est quasiment nul empêchant ainsi l'écoulement du fluide d'intérêt au travers de ladite chambre.

11. Dispositif microfluidique, selon l'une quelconque des revendications précédentes, **caractérisé en ce que** :

- les cavités (51) ont une forme de calotte sphérique dont la base a un diamètre entre environ 1 mm et 1 cm et dont la hauteur est entre environ 100 μ m et 1 mm,
- chaque canal de ladite au moins une suite de canaux microfluidiques de communication (25) a une longueur entre environ 1 mm et 5 mm et une section entre environ 50 μ m et 500 μ m de côté, et

- chacun desdits premier et deuxième substrats (11, 13) présente une épaisseur entre environ 200 μm et 4 mm et une surface de l'ordre de plusieurs centimètres carrés.

5 **12.** Dispositif microfluidique selon l'une quelconque des revendications précédentes, **caractérisé en ce que** le réseau microfluidique comporte un ensemble de branches microfluidiques (37) connectées à un même orifice d'entrée (7) et comprenant chacune une suite de canaux microfluidiques de communication (25) reliant de manière séquentielle une suite correspondante de chambres microfluidiques (5), les branches étant disposées en peigne ou en étoile à partir dudit orifice d'entrée.

10 **13.** Procédé d'analyse mis en oeuvre au moyen d'un dispositif microfluidique selon l'une quelconque des revendications précédentes, toutes les chambres microfluidiques étant initialement à l'état fermé et au moins une des chambres microfluidiques contenant un réactif embarqué, ledit procédé comportant les étapes suivantes :

15 - injection d'un liquide correspondant au fluide d'intérêt dans le dispositif microfluidique, et
 - commutation de l'état des chambres microfluidiques selon une séquence d'opérations prédéterminée adaptée pour contrôler le passage du liquide entre les différentes chambres.

20 **14.** Procédé d'analyse selon la revendication 13, **caractérisé en ce qu'il** comporte des étapes de brassage en faisant basculer le liquide entre deux chambres microfluidiques un nombre déterminé de fois.

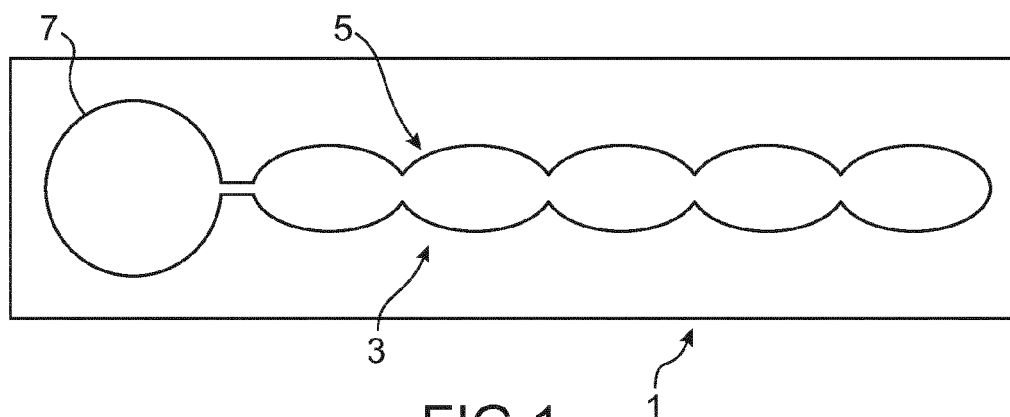


FIG. 1

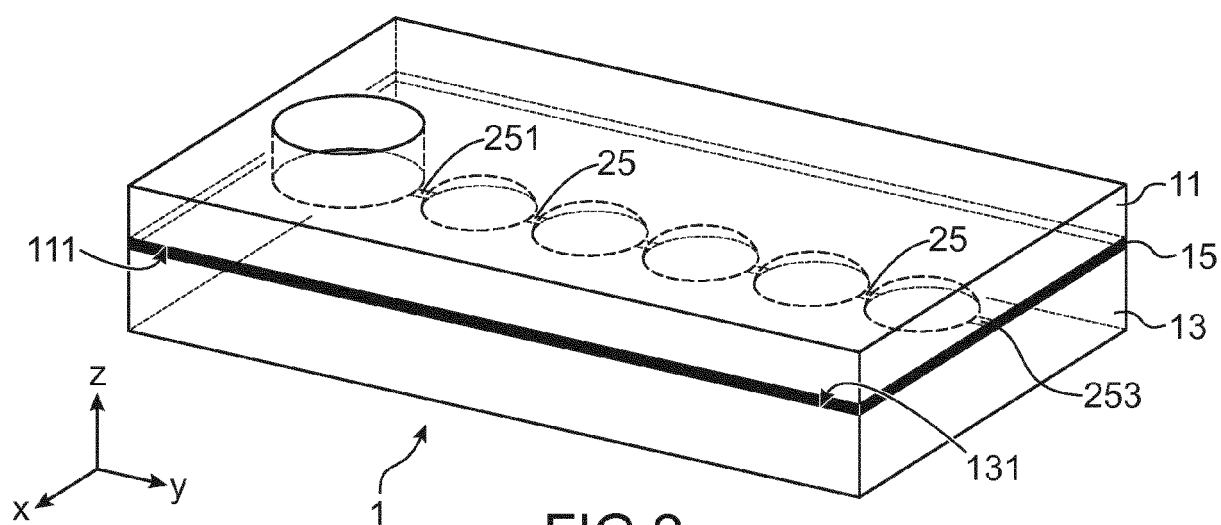


FIG. 2

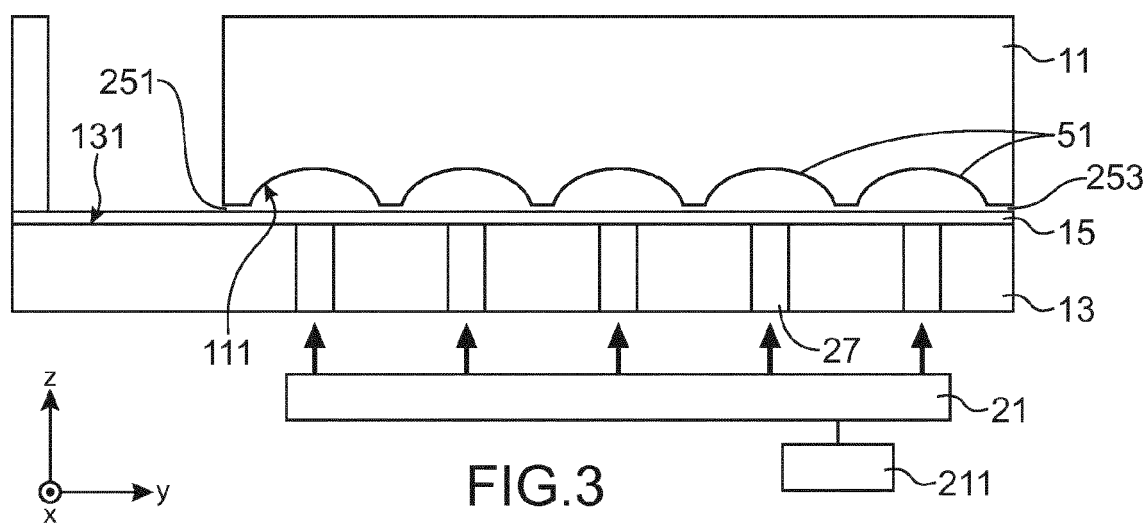


FIG. 3

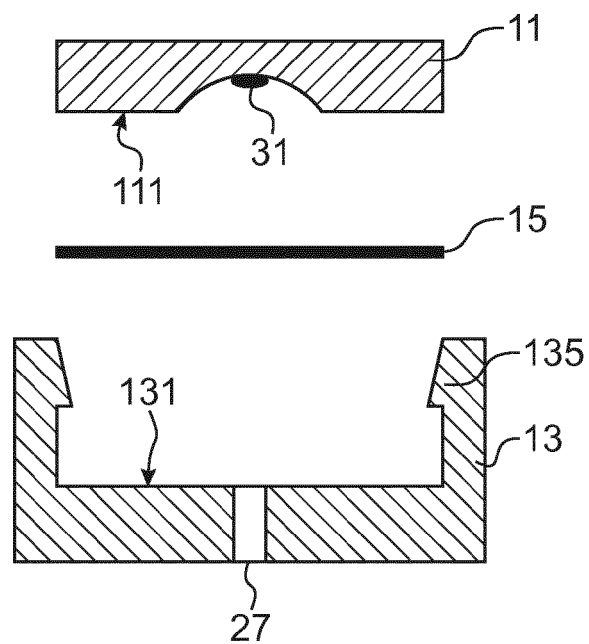


FIG. 4A

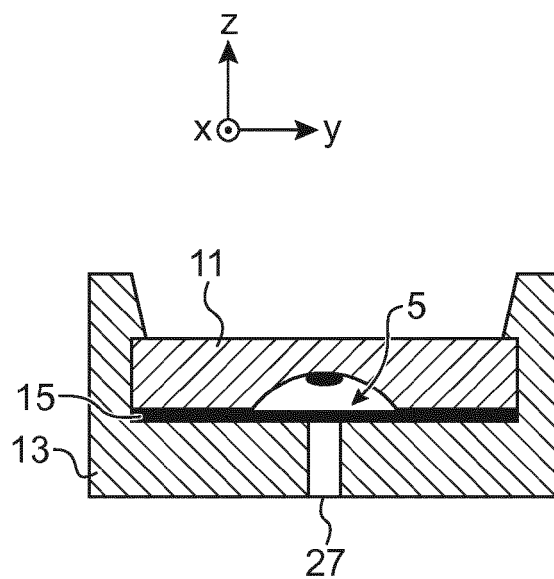


FIG. 4B

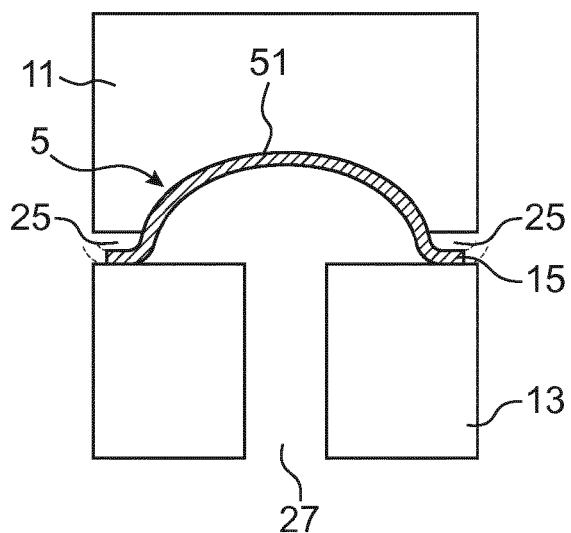


FIG. 5A

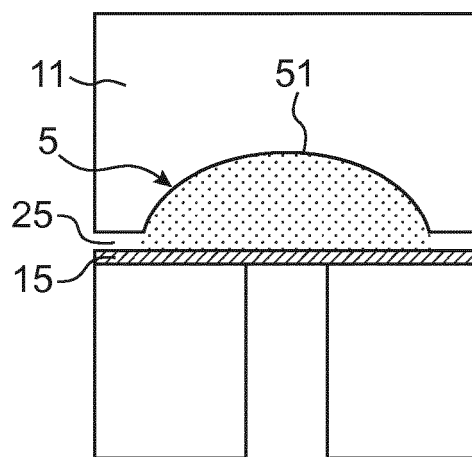


FIG. 5B

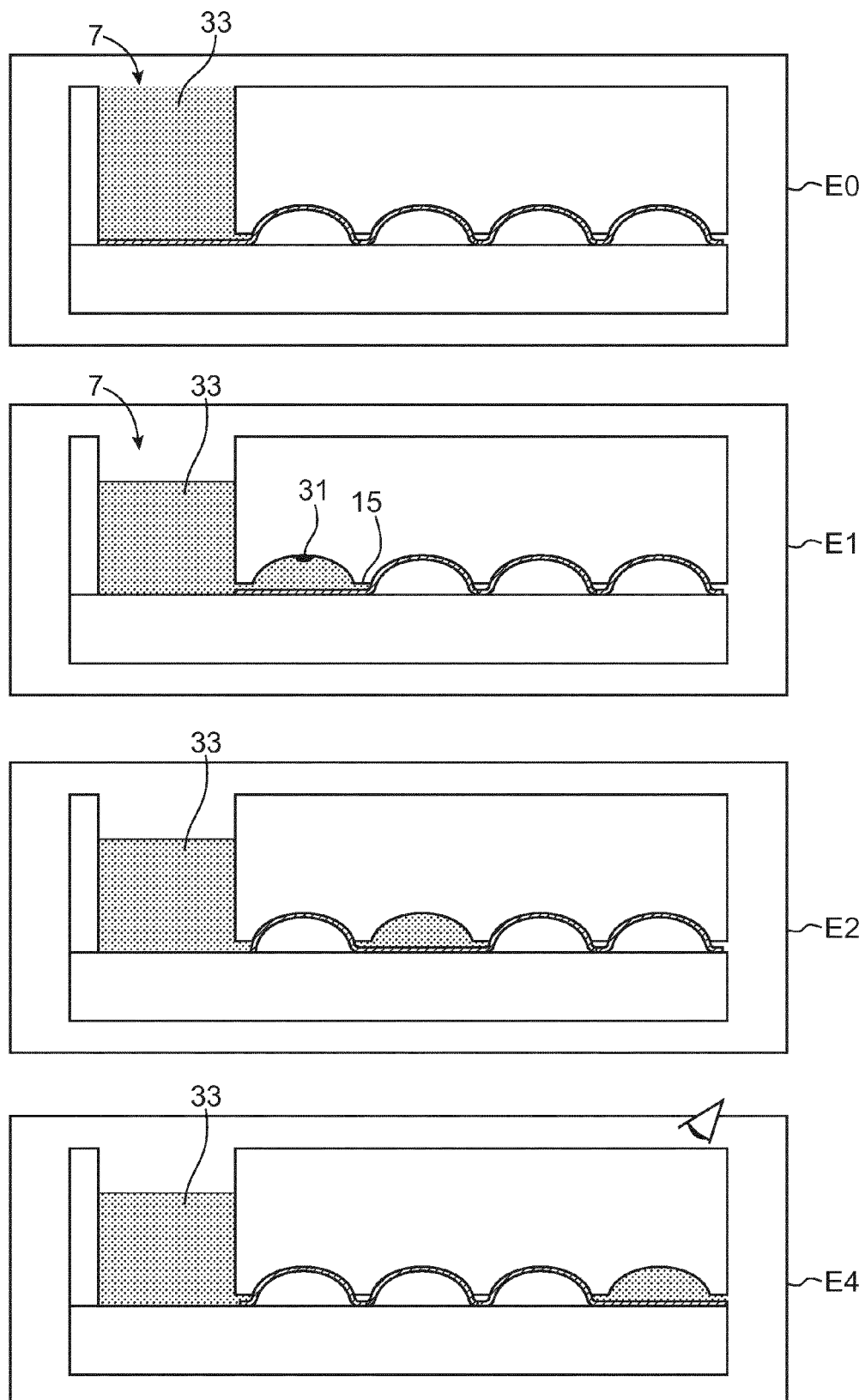


FIG.6A

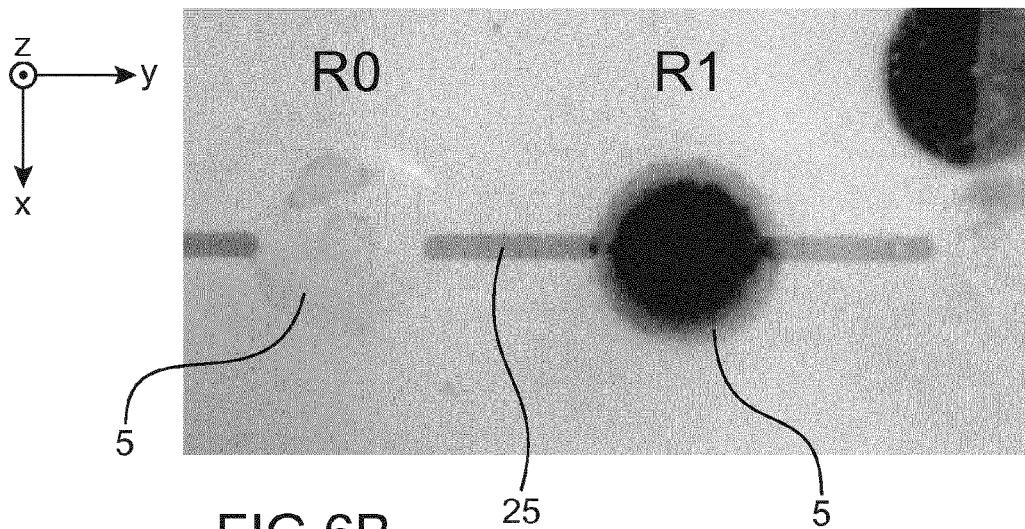


FIG. 6B

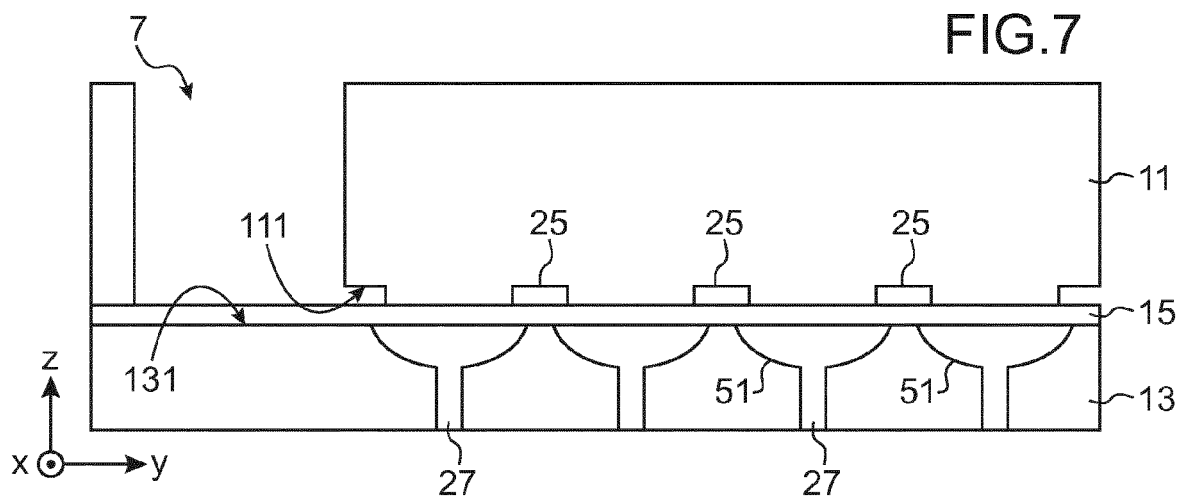


FIG. 7

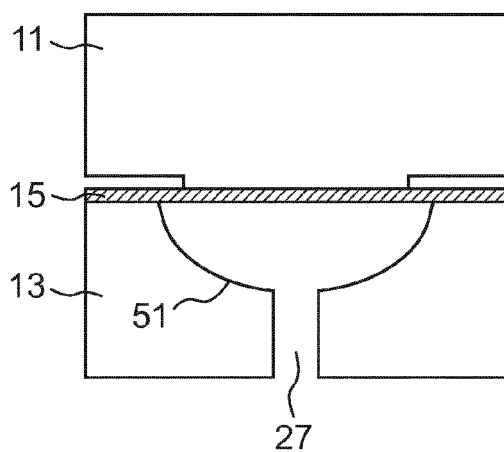


FIG. 8A

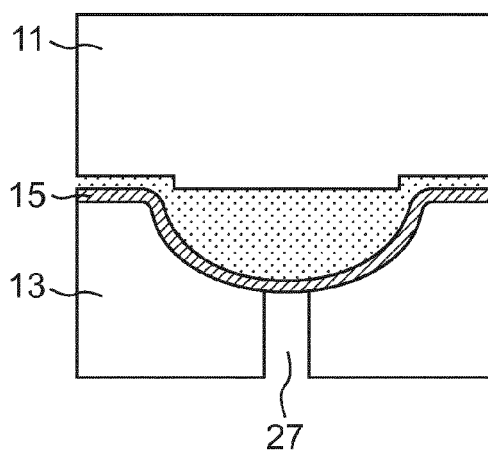
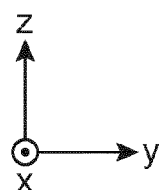


FIG. 8B



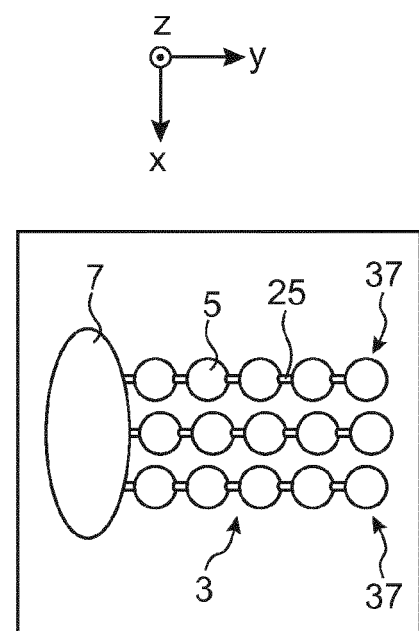


FIG. 9A

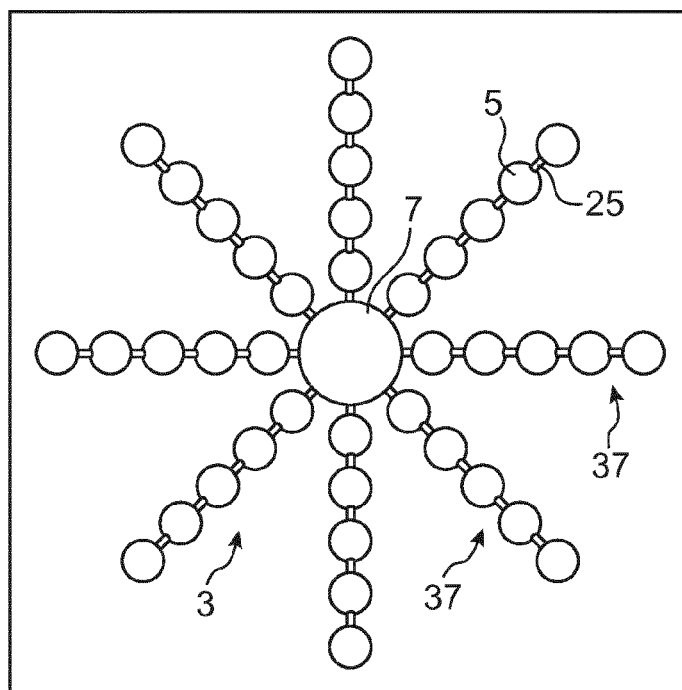


FIG. 9B

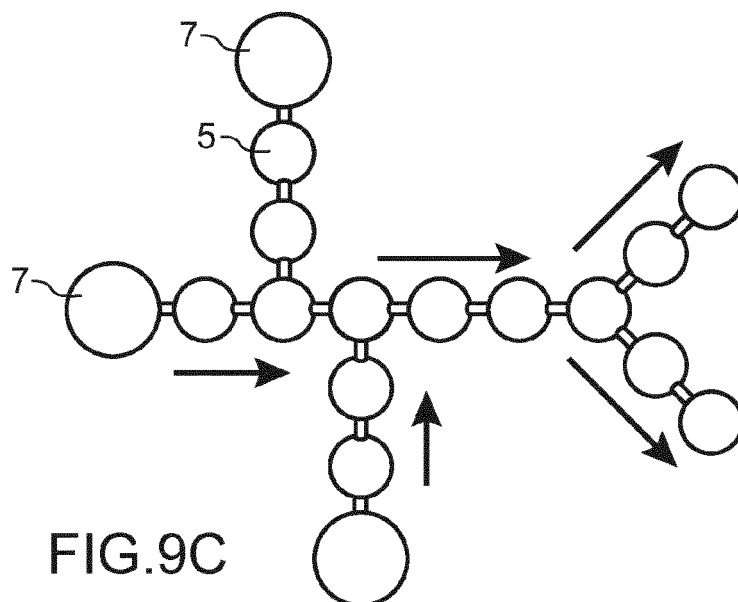


FIG. 9C



RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numéro de la demande

EP 16 16 6022

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (IPC)
X	US 2012/064597 A1 (CLEMMENS JOHN [US] ET AL) 15 mars 2012 (2012-03-15) * alinéas [0079] - [0083], [0087], [0091] - [0094], [0098] - [0100], [0104] - [0106] * * figures 1, 3, 4, 5 *	1-14	INV. B01L3/00
X	US 2013/130262 A1 (BATTRELL C FREDERICK [US] ET AL) 23 mai 2013 (2013-05-23) * alinéas [0127] - [0131] * * figures 8, 9, 10 *	1-14	
X	US 2007/166199 A1 (ZHOU PENG [US] ET AL) 19 juillet 2007 (2007-07-19) * alinéas [0070] - [0072] * * figures 2, 4 *	1-14	
X	US 2006/076068 A1 (YOUNG LINCOLN [US] ET AL) 13 avril 2006 (2006-04-13) * alinéas [0076] - [0080] * * figures 6, 7, 8 *	1-14	
A	US 2013/156658 A1 (SHIM JOON-SUB [KR] ET AL) 20 juin 2013 (2013-06-20) * le document en entier *	1-14	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (IPC)
A	US 2010/303687 A1 (BLAGA IULIU I [US] ET AL) 2 décembre 2010 (2010-12-02) * le document en entier *	1-14	B01L
Le présent rapport a été établi pour toutes les revendications			
Lieu de la recherche		Date d'achèvement de la recherche	Examineur
La Haye		26 mai 2016	Bischoff, Laura
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

EPO FORM 1503 03.82 (P04C02)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET EUROPEEN NO.**

EP 16 16 6022

5 La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche européenne visé ci-dessus.
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

26-05-2016

10

Document brevet cité
au rapport de recherche

Date de
publication

Membre(s) de la
famille de brevet(s)

Date de
publication

15

US 2012064597 A1 15-03-2012 US 2007183935 A1 09-08-2007
US 2010167384 A1 01-07-2010
US 2012064597 A1 15-03-2012
WO 2007064635 A1 07-06-2007

20

US 2013130262 A1 23-05-2013 CA 2786569 A1 04-08-2011
CN 102740976 A 17-10-2012
EP 2528687 A2 05-12-2012
JP 5791634 B2 07-10-2015
JP 2013518289 A 20-05-2013
KR 20130033345 A 03-04-2013
US 2013130262 A1 23-05-2013
WO 2011094577 A2 04-08-2011

25

US 2007166199 A1 19-07-2007 AU 2007207681 A1 26-07-2007
CN 101495236 A 29-07-2009
EP 1979097 A2 15-10-2008
JP 5250425 B2 31-07-2013
JP 2009524054 A 25-06-2009
KR 20080085898 A 24-09-2008
US 2007166199 A1 19-07-2007
US 2007166200 A1 19-07-2007
US 2011214745 A1 08-09-2011
US 2011275160 A1 10-11-2011
US 2011293489 A1 01-12-2011
US 2013209327 A1 15-08-2013
US 2014093431 A1 03-04-2014
US 2014322099 A1 30-10-2014
WO 2007084425 A2 26-07-2007

30

US 2006076068 A1 13-04-2006 AU 2006320916 A1 07-06-2007
CN 101282789 A 08-10-2008
EP 1940549 A2 09-07-2008
EP 2520367 A1 07-11-2012
EP 2520368 A1 07-11-2012
JP 4939541 B2 30-05-2012
JP 2009510337 A 12-03-2009
KR 20080059426 A 27-06-2008
US 2006076068 A1 13-04-2006
US 2009056822 A1 05-03-2009
US 2009056861 A1 05-03-2009
US 2011041935 A1 24-02-2011
US 2013105017 A1 02-05-2013
US 2014246618 A1 04-09-2014
WO 2007064404 A2 07-06-2007

35

40

45

50

55

EPO FORM P0460

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET EUROPEEN NO.**

EP 16 16 6022

5 La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche européenne visé ci-dessus.
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

26-05-2016

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2013156658 A1	20-06-2013	CN 103157523 A	19-06-2013
		EP 2604343 A1	19-06-2013
		US 2013156658 A1	20-06-2013

US 2010303687 A1	02-12-2010	CN 102459565 A	16-05-2012
		EP 2438154 A1	11-04-2012
		KR 20120030130 A	27-03-2012
		US 2010303687 A1	02-12-2010
		WO 2010141326 A1	09-12-2010

EPO FORM P0460

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82

RÉFÉRENCES CITÉES DANS LA DESCRIPTION

Cette liste de références citées par le demandeur vise uniquement à aider le lecteur et ne fait pas partie du document de brevet européen. Même si le plus grand soin a été accordé à sa conception, des erreurs ou des omissions ne peuvent être exclues et l'OEB décline toute responsabilité à cet égard.

Documents brevets cités dans la description

- FR 2897282 [0004]