



Université de Limoges

École Doctorale Sciences et Ingénierie pour l'Information, Mathématiques (ED 521)

Faculté des Sciences et Techniques - XLIM Equipe BioEM

Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Limoges

Discipline : Electronique des Hautes Fréquences, Photonique et Systèmes

Présentée et soutenue par
Malak SOUEID

Le 9 novembre 2016

Contribution au développement et à la caractérisation d'applicateurs pour les études bioélectromagnétiques portant sur les ondes radiofréquences et les impulsions électriques nanosecondes de haute intensité

Thèse dirigée par Philippe LEVEQUE et co-dirigée par Delia ARNAUD-CORMOS

JURY :

Rapporteurs :

Mme Noëlle Lewis

Professeur des Universités

Université de Bordeaux – IMS UMR 5218, groupe Bioélectronique, équipe Elibio

M. Jean PAILLOL

Professeur des Universités

UPPA - Université de Pau et des Pays de l'Adour – SIAME-IPRA, Pau

Examineurs :

M. Benoit Derat

Docteur – Ingénieur, Président de ART-FI

M. Rodney O'Connor

Enseignant – Chercheur

Ecoles des Mines de Saint-Etienne

Mme Catherine Yardin

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Services d'Histologie, Cytologie et Cytogénétique – CHU Dupuytren, Limoges

Encadrants :

Mme Delia ARNAUD-CORMOS

Maitre de conférences HDR

XLIM CNRS – Université de Limoges, Limoges

M. Philippe LEVEQUE

Directeur de recherche CNRS

XLIM CNRS – Université de Limoges, Limoges



Remerciements

Dans le cadre de mes trois années de thèse, je souhaiterais tout d'abord remercier M. Philippe Lévêque et Mme Delia Arnaud-Cormos, respectivement directeur de recherche au CNRS et maître de conférence, pour m'avoir accueillie au sein leur équipe « Bioélectromagnétique » de l'institut de recherche XLIM. J'ai eu le grand plaisir de travailler avec vous tout au long de cette thèse et je vous remercie fortement pour votre encadrement plein d'humanité, votre patience et vos conseils précieux et avisés. Aussi je remercie Madame Nadine AYMARD la secrétaire de notre équipe.

J'adresse également mes sincères remerciements à Mme. Catherine Yardin, Professeur à l'Université de Limoges, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury de cette thèse.

Mes sincères remerciements à Mme. Noëlle Lewis Et M. Jean Paillol, respectivement professeur des universités à l'université de Bordeaux et professeur des universités à l'université de Pau et des Pays de l'Adour, pour avoir accepté d'être rapporteur de mes travaux. Pareillement, je remercie chaleureusement M. Benoit Derat, ingénieur et président de l'entreprise ART-FI et M. Rodney O'Connor, enseignant - chercheur aux Ecoles des Mines de Saint-Etienne, pour leur participation au jury en tant qu'examineur.

Un grand merci à mes collègues d'équipe : Martinus, Lynn, Sabrina, Ryan et Sylvia. Vous êtes géniaux !!

Et bien sûr, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes amis de Limoges Fattoum, Karkoura, Nathalie, Abed, Ahmad Haidar, Ali El Hajj, Karim, Oussama, Youssef et Houssam.

Un merci qui tend vers l'infini et même plus pour Rim, Abir, Ghaydaa, Nourredine, Ahmad, Kassem, Hamed et Ali Sabra. Amis pour la vie 🎵. Bonheur de ma vie ♥. Merci pour votre soutien quotidien indéfectible malgré les centaines++ de kilomètres qui nous séparent. Abir et Kassem vous m'avaient tout simplement faciliter la vie ! Et je ne t'oublierais pas mon bébé d'amour kok pour toute la joie que tu as toujours semée dans mon cœur.

Pour finir, un GRAND GRAND merci à ma famille ! Merci maman et papa pour toutes les valeurs que vous m'avez transmises :). Mille Merci Khalil, Mohamed, Nour, Mayssa et ma khalto préférée Zeinab. Et je ne terminerais pas sans un clin d'oeil tout spécial à mon frère Hamoudi, ma sœur Zaza, et à mon petit frère Yassinooo : je vous aime ! ♥



Table des matières

Introduction générale.....	25
Chapitre I. Contexte de l'étude	31
I.1. Introduction	31
I.3. La cellule biologique	34
I.3.1. Description du point de vue biologique.....	34
I.3.2. Description du point de vue électrique	34
I.4. Interaction d'une onde électromagnétique avec le vivant	36
I.4.1. Effet thermique	36
I.4.1.1 Débit d'absorption spécifique	37
I.4.2. Applications thérapeutiques de l'effet thermique : Ablation thermique	38
I.4.2.1 Ablation radiofréquence.....	38
I.4.2.2 Ablation micro-onde	39
I.4.2.3 Avantages de l'ablation micro-onde	40
I.4.3. Effet athermique : effets potentiels sanitaires des signaux de télécommunications sans fils.....	42
I.4.4. Conclusion	43
I.5. Interaction d'un champ électrique pulsé avec le vivant	44
I.5.1. L'impulsion électrique.....	44
I.5.2. Effets biologiques d'un champ électrique pulsé sur les cellules biologiques.....	46
I.5.2.1 Effets biologiques des impulsions longues	46
I.5.2.1.1. Electroporation classique	46
I.5.2.1.2. Applications de l'électroporation classique	47
I.5.2.2 Effets biologiques des impulsions plus courtes	48
Nanoporation	48
I.5.3. Conclusion	48
I.6. Les systèmes d'exposition.....	50
I.6.1. Système d'ablation micro-onde	51
I.6.1.1 Antennes d'ablation micro-onde.....	52
I.6.1.1.1. Antennes d'ablation par voie percutanée (non endoscopique).....	53
Antenne coaxiale à fentes.....	53
Antenne coaxiale monopolaire.....	55
Antenne coaxiale à bobine d'arrêt (Choked sleeve antenna)	56
I.6.1.1.2. Antenne d'ablation par voie endoscopique	57
I.6.1.2 Conclusion	59
I.6.2. Système d'exposition aux radiofréquences	60
I.6.2.1 Exigences fondamentales pour les systèmes d'exposition RF.....	61



I.6.2.1.1. Exigences électromagnétiques	61
I.6.2.1.2. Exigences biologiques	62
I.6.2.1.3. Autres exigences	63
I.6.3. Classification des systèmes d'exposition RF	63
I.6.3.1 Bilan des Systèmes d'exposition <i>in vitro</i>	64
I.6.3.1.1. Systèmes propagatifs	64
I.6.3.1.2. Systèmes résonants	66
I.6.3.1.3. Systèmes radiatifs	66
I.6.3.1.4. Systèmes d'exposition <i>in vitro</i> « temps réel »	67
Guide d'onde coplanaire	68
Guide d'onde rectangulaire	69
Cellule transverse électromagnétique	70
I.6.3.2 Conclusion	72
I.6.4. Système d'exposition aux nsPEFs	73
I.6.4.1 Appicateurs nsPEFs	74
I.6.4.1.1. Les applicateurs avec contact électrodes/milieu biologique	74
Appicateurs pour exposer un grand nombre de cellules	74
Cuvette biologique	74
Système à aiguilles pour l'exposition d'une suspension cellulaire	75
Appicateurs pour exposer un petit nombre de cellules	76
Microsystème à aiguilles pour l'exposition d'une seule cellule	76
Microchambre à électrodes filaires	77
Système microfluidique	77
I.6.4.1.2. Les applicateurs sans contact électrodes/milieu biologique	79
Antenne ultra-large bande	79
Cellule TEM ouverte	80
I.6.4.2 Conclusion	81
I.7. Conclusion du chapitre	82
Chapitre II. Systèmes d'exposition : applications RF temps réel et AMW	87
II.1. Introduction	87
II.2. Caractérisation expérimentale et numérique d'un dispositif spécifique pour l'ablation micro-onde à 2.45 GHz	88
II.2.1. Caractéristiques d'une antenne micro-onde	88
II.2.2. Géométrie de l'antenne triaxiale	89
II.2.3. Caractérisation électromagnétique de l'antenne triaxiale	90
II.2.3.1 Logiciel de simulation numérique	91



II.2.3.2 Modélisation numérique de l'antenne triaxiale	91
II.2.3.3 Caractérisation fréquentielle.....	92
II.2.3.3.1. Coefficient de réflexion S_{11}	92
II.2.3.3.2. Débit d'absorption spécifique DAS	93
Evaluation numérique du DAS : distribution spatiale.....	94
Evaluation expérimentale du DAS	95
II.2.4. Conclusion.....	97
II.3. Caractérisation expérimentale et numérique d'un système pour l'exposition en temps réel	99
II.3.1. Problématique d'exposition en temps réel	99
II.3.2. Présentation de la cellule TEM	99
II.3.3. Caractéristiques de l'ITO	101
II.3.4. Modification de la cellule TEM	101
II.3.5. Caractérisation électromagnétique de la cellule TEM modifiée	102
II.3.5.1 Adaptation de la cellule TEM.....	102
II.3.5.1.1. Mesures des paramètres S_{ij}	102
II.3.5.1.2. Impédance d'entrée	106
II.3.6. Débit d'absorption spécifique (DAS).....	107
II.3.6.1 Evaluation numérique du DAS	107
II.3.6.1.1. Modélisation de la cellule TEM.....	107
II.3.6.1.2. Influence de l'ouverture et de l'ITO sur le DAS	109
Distribution spatiale du DAS	110
DAS local	111
Etude paramétrique du DAS	112
II.3.6.2 Evaluation expérimental du DAS	116
II.3.6.2.1. Montage expérimental de mesure du DAS	117
II.3.6.2.2. Préparation de la cellule TEM avec la couche d'ITO	117
Mesure de la résistance carrée de la couche d'ITO	120
Recuisson de la cellule TEM avec la couche d'ITO.....	121
II.3.6.3 Dosimétrie expérimentale.....	123
II.3.6.3.1. DAS Local	123
II.3.6.3.2. Evaluation de l'homogénéité du DAS	125
II.3.7. Transparence optique de l'ITO	126
II.3.7.1 Préparation de l'échantillon biologique et microscopie à fluorescence.....	126
II.3.7.2 Imagerie cellulaire par microscopie à fluorescence en temps réel	127
II.3.8. Conclusion.....	128



II.4. Conclusion du chapitre	130
Chapitre III. Les applicateurs d'impulsions avec contact	133
III.1. Introduction	133
III.2. Caractéristiques d'un applicateur biologique nsPEFs	133
III.3. Les applicateurs d'impulsions avec contact électrodes/milieu biologique.....	137
III.3.1. La cuvette biologique standard	137
III.3.1.1 Géométrie de la cuvette biologique modifiée	139
III.3.1.2 Caractérisation fréquentielle expérimentale	141
III.3.1.2.1. Impédance théorique de la cuvette biologique	141
III.3.1.2.2. Préparation des cuvettes biologiques modifiées	142
III.3.1.2.3. Coefficient de réflexion mesuré	143
III.3.1.2.4. Impédance d'entrée mesurée	145
III.3.1.2.5. Cuvette modifiée de distance inter-électrodes de 4 mm avec une charge 50 Ω en parallèle.....	148
III.3.1.3 Caractérisation temporelle expérimentale	150
III.3.1.3.1. Banc expérimental	150
III.3.1.3.2. Type des impulsions traitées.....	152
III.3.1.3.3. Réponse temporelle des cuvettes biologiques	154
III.3.1.4 Caractérisation numérique.....	159
III.3.1.4.1. Modélisation numérique des cuvettes biologiques modifiées	159
III.3.1.4.2. Validation des modèles numériques des cuvettes biologiques modifiées	160
Coefficient de réflexion numérique.....	161
III.3.1.4.3. Validation numérique de la réponse temporelle des cuvettes biologiques	162
Champs électriques appliqués au milieu biologique	162
Représentations temporelles des champs électriques appliqués	163
Représentations fréquentielles des champs électriques appliqués.....	166
Distribution spatiale du champ électrique appliquée.....	168
III.3.1.5 Expérimentations biologiques	168
III.3.1.5.1. La cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm.....	169
Exposition des lignées cellulaires et résultats	169
III.3.1.6 Conclusion.....	170
III.3.2. Le système à deux électrodes.....	172
III.3.2.1 Impédance théorique du système à deux électrodes.....	173
III.3.2.2 Caractérisation électromagnétique du système à deux électrodes.....	173



III.3.2.2.1. Modélisation numérique du système à électrodes	173
III.3.2.2.2. Caractérisation dans le domaine fréquentiel.....	174
Coefficient de réflexion.....	174
Impédance d'entrée mesurée.....	175
III.3.2.2.3. Caractérisation dans le domaine temporel	176
III.3.2.2.4. Champ électrique appliqué dans la solution biologique	179
Allure temporelle du champ électrique	179
Distribution spatiale du champ électrique	182
III.3.2.3 Expérimentations biologiques avec le système à deux électrodes	182
III.3.2.4 Conclusion.....	183
III.4. Conclusion du chapitre	185
Chapitre IV. Les applicateurs d'impulsions isolés	188
IV.1. Introduction	188
IV.2. Les applicateurs d'impulsions sans contact électrodes/milieu biologique	188
IV.2.1. La cellule transverse électromagnétique.....	188
IV.2.2. Modélisation numérique de la cellule TEM	189
IV.2.3. Caractérisation fréquentielle de la cellule TEM	190
IV.2.3.1 Paramètres-S	190
IV.2.3.2 Impédance d'entrée mesurée	191
IV.2.4. Caractérisation temporelle de la cellule TEM	192
IV.2.4.1 Mesures expérimentales	192
IV.2.4.2 Champ électrique appliqué dans la solution	194
IV.2.4.2.1. Allure temporelle et spectre fréquentiel du champ appliqué.....	194
Allure temporelle.....	194
Spectres fréquentsiels	195
IV.2.4.2.2. Distribution spatio-temporelle du champ appliqué	197
IV.2.5. Expérimentations biologiques avec la cellule TEM contenant la cuvette en plastique	197
IV.2.6. Conclusion	198
IV.2.7. La cuvette d'électroporation isolée.....	199
IV.2.7.1 Caractérisation électromagnétique numérique de la cuvette isolée	199
IV.2.7.1.1. Modélisation numérique des cuvettes isolées.....	199
IV.2.7.1.2. Caractérisation fréquentielle des cuvettes isolées	200
Coefficient de réflexion S_{11}	200
IV.2.7.1.3. Caractérisation temporelle des cuvettes isolées	201
Champ électrique appliqué au milieu biologique.....	201



Allure temporelle et spectre fréquentiel du champ appliqué	201
Distribution spatio-temporelle du champ appliqué	204
IV.2.7.2 Conclusion	204
IV.2.8. Le système à deux électrodes isolées.....	206
IV.2.8.1 Caractérisation fréquentielle du système à électrodes isolées	206
Coefficient de réflexion S_{11}	206
IV.2.8.2 Caractérisation temporelle du système à électrodes isolées.....	207
IV.2.8.2.1. Allure temporelle du champ électrique au milieu biologique	207
IV.2.8.2.2. Distribution spatio-temporelle du champ appliqué	208
IV.2.8.3 Conclusion	209
IV.3. Conclusion du chapitre	210
Conclusion générale et perspectives.....	213
Références bibliographiques	221



Table des illustrations

Figure 1 Schéma d'un modèle simplifié d'une cellule biologique et de la composition de la membrane plasmique : (a) schéma simplifié de la cellule, (b) composition de la membrane cellulaire, (c) représentation schématique de la couche phospholipidique et (c) d'une molécule lipidique [18]	35
Figure 2 Schéma d'un modèle simplifié d'une cellule biologique du point de vue électrique.	36
Figure 3 Effets de l'élévation de température induite par un champ alternatif radiofréquence sur les tissus biologiques (a) et le principe d'un système d'ARF (b).....	39
Figure 4 Principe d'échauffement par des micro-ondes basé sur l'agitation des molécules d'eau [3].	40
Figure 6 Schéma montrant l'échauffement thermique des organes sains adjacents au trajet d'insertion de l'antenne d'AMW nécessitent des systèmes de refroidissement [30].....	41
Figure 5 Comparaison de l'élévation de température obtenue par mesures <i>in vivo</i> après application de l'AMW et l'ARF dans un rein porcine <i>in vivo</i> [30].	41
Figure 7 Caractéristique d'une impulsion électrique.	44
Figure 8 Deux impulsions électriques dans le domaine temporel (a) et leur spectre respectif (b).	45
Figure 9 Phénomène de l'électroporation classique : bicouche phospholipidique sans pores (A), avec un pore hydrophobe (B), sa transition réversible dans un pore hydrophile métastable (C), et sa transition irréversible dans un pore hydrophile auto-expansible instable (D) (à des tensions de membrane au-dessus ~ 500 mV) [54].	46
Figure 10 Applications de l'électroporation classique dans les domaines de la médecine et la biotechnologie [63].	47
Figure 11 Objectif du travail de la thèse : Développement et caractérisation des applicateurs spécifiques pour étudier les effets potentiels sanitaires et thérapeutiques des ondes électromagnétiques sur le vivant.	50
Figure 12 Système d'ablation micro-onde composée principalement d'un générateur micro-onde, d'un système de distribution de puissance et d'une ou plusieurs antennes micro-onde [3].	51
Figure 13 Différentes géométries des antennes d'ablation micro-onde [26], [80].....	53
Figure 14 Schémas et distributions du DAS à 2.45 GHz obtenus par simulation numérique pour l'antenne à une fente (a) et l'antenne à double fentes (b) plongeant dans un tissu de foie du porc cancéreux [83].	54
Figure 15 Schéma et photo de l'antenne monopolaire triaxiale (a) et photo de la zone d'ablation obtenue dans un foie porcine <i>in vivo</i> (b) [88].	55



Figure 16 Schéma de l'antenne à bobine basée sur une structure coaxiale (a) et la comparaison de la distribution du DAS de l'antenne coaxiale avec et sans la bobine (b) [89].	56
Figure 17 Schéma et photo de l'antenne à bobine basée sur une structure coaxiale à double fentes (a), coefficient de réflexion mesuré à son entrée (b) et distribution du DAS (dB) obtenue numériquement (c) [75].	57
Figure 18 Schéma d'insertion de l'antenne par voie endoscopique pour l'AMW du cancer dans les canaux biliaires (a) et structure basique de l'antenne à fente utilisée (b) [82].	58
Figure 19 Structure de l'antenne monopolaire utilisée pour l'AMW par voie endoscopique du cancer des canaux biliaires (a). Types de prothèses utilisés (b) et distribution du DAS pour chaque prothèse (c) [81].	59
Figure 20 Schéma général d'un montage expérimental d'exposition RF.	61
Figure 21 Les deux catégories principales d'exposition RF liées au type de la cible biologique exposée : (a) exposition <i>in vivo</i> d'un rat, (b) exposition <i>in vitro</i> d'une suspension cellulaire.	64
Figure 22 Système d'exposition basé sur un guide d'onde rectangulaire : (a) schéma d'un guide d'onde rectangulaire, (b) photo d'un guide d'onde rectangulaire ⁽⁴⁾ contenant un flasque ⁽¹⁾ rempli d'un milieu biologique ⁽²⁾ [115]	65
Figure 23 Système d'exposition basé sur une cellule TEM : (a) schéma d'une cellule TEM, (b) photo d'une cellule TEM contenant une boîte de Petri remplie d'un milieu biologique. ..	65
Figure 24 Récipients utilisés pour l'exposition des milieux de culture biologiques : (a) cuvettes biologiques, (b) boîte de Petri, (c) flasques, (d) multipuits.....	65
Figure 25 Système d'exposition basé sur un guide d'onde court-circuité contenant plusieurs boîte de Petri remplies de milieu biologique [98].	66
Figure 26 Système d'exposition basé sur une antenne cornet : (a) schéma d'une antenne cornet utilisé pour exposer un milieu biologique dans une boîte de Petri, (b) photo d'une antenne cornet [121].	67
Figure 27 Guide d'onde coplanaire spécifique pour l'observation microscopique de l'échantillon en temps réel : (a) Coupe transversale du guide d'onde coplanaire avec les lignes du champ électrique. (b) Représentation schématique du guide d'onde coplanaire avec les boîtes de Petri contenant le milieu biologique, positionnée au-dessus du microscope, (c) Photo du guide d'onde coplanaire à substrat transparent développé par Paffi et al. [125].	68
Figure 28 Schéma d'un guide d'onde rectangulaire. La plaque inférieure possède une ouverture pour permettre l'observation microscopique du milieu biologique placé dans la chambre expérimentale [124].	70
Figure 29 Structure de la cellule TEM.	71
Figure 30 Structure de la cellule TEM montée sur la platine d'un microscope inversé avec la plaque métallique inférieure ouverte au centre d'un trou de 10 mm de diamètre, représentatif	



des dimensions de l'objectif du microscope : (a) schéma de la structure entière, (b) coupe longitudinale au niveau de l'ouverture, (c) coupe transversale au niveau du récipient cylindrique contenant le milieu biologique [133].	71
Figure 31 Schéma représentant les parties principales d'un système d'exposition aux nsPEFs.	74
Figure 32 Cuvettes d'électroporation standards de distance inter-électrodes de 1,2 et 4 mm.	75
Figure 33 Trois configurations d'un applicateur coaxial pour des expositions aux nsPEFs : 1- Applicateur coaxial à une aiguille, 2- applicateur coaxial à cinq aiguilles et 3- applicateur coaxial sans aiguille [147].	75
Figure 34 Microsystème pour l'exposition d'une cellule. (A) Image microscopique du positionnement des électrodes et de la micropipette par rapport à la cellule exposée. (B) Schéma du système [148].	76
Figure 35 Schéma de la microchambre à électrodes filaires parallèles [149].	77
Figure 36 (a) Schéma du système microfluidique, (b) Photo du système fabriqué et zoom sur l'entrée [151].	78
Figure 37 Photo du montage expérimental comportant l'antenne IRA [152].	80
Figure 38 Schéma et photo de la boîte de Petri placée dans la cellule TEM: (a) vue de côté; (b) vue de dessus (dimensions en mm); (c) vue de côté [154].	81
Figure 39 Géométrie et dimensions de l'antenne triaxiale d'ablation micro-onde. Photos de l'antenne triaxiale (a) et de la sonde endoscopique (b).	90
Figure 40 Antenne triaxiale modélisée et simulée.	92
Figure 41 Coefficient de réflexion à l'entrée de l'antenne triaxiale immergée dans le liquide équivalent obtenu par mesure et simulation.	93
Figure 42 Distribution spatiale du DAS à 2.45 GHz pour l'antenne triaxiale immergée dans le liquide équivalent : a) coupe longitudinale le long de l'axe principal de l'antenne, b) coupe transversale au bout de la partie active de l'antenne.	94
Figure 43 La sonde fluoroptique accompagnée d'un boîtier pour les mesures de température (Luxtron One, Lumasense Technologies, CA, USA) (a) et le volume de mesure de la sonde (b).	95
Figure 44 Photo de l'antenne triaxiale plongeant dans le liquide équivalent avec la sonde de mesure de température placée à proximité de la partie active de l'antenne pour mesurer le DAS à 2.45 GHz.	96
Figure 45 DAS expérimental à 2.45 GHz calculé à partir des mesures d'élévation de température obtenues par la sonde Luxtron placée au bout de la partie active de l'antenne.	96
Figure 46 Trajet d'insertion de l'antenne d'AMW dans le foie par voie endoscopique.	97



Figure 47 Cellule TEM contenant une boîte de Petri: (a) vue de dessous, (b) vue de côté. Dimensions en mm.	100
Figure 48 Photos de la cellule TEM et de la couche d'ITO placée dans la plaque inférieure de la cellule TEM (Vue de dessous, vue de côté et ouverture fermée avec la couche d'ITO. Dimensions en mm [178].	102
Figure 49 Montage expérimental de mesures des paramètres S.....	103
Figure 50 Mesures des coefficients de réflexion (S_{11}) et de transmission (S_{21}) de trois configurations de la cellule TEM contenant la boîte de Petri vide : la cellule TEM sans ouverture dans la plaque inférieure, avec une ouverture de 20-mm de diamètre, avec l'ouverture fermée par une lame en verre couverte avec une couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur.	104
Figure 51 Mesures des coefficients de réflexion (S_{11}) et de transmission (S_{21}) de trois configurations de la cellule TEM contenant la boîte de Petri remplie de 3-ml de solution biologique: la cellule TEM sans ouverture dans la plaque inférieure, avec une ouverture de 20-mm de diamètre, avec l'ouverture fermée par une lame en verre couverte avec une couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur.....	105
Figure 52 Partie réelle et imaginaire de l'impédance d'entrée de la cellule TEM avec la boîte de Petri remplie de solution en fonction de la fréquence.	106
Figure 53 Cellule TEM modélisée : (a) sans ouverture dans la plaque inférieure, (b) avec une ouverture de 20-mm de diamètre, (c) avec l'ouverture dans la plaque inférieure fermée par une lame en verre couverte avec une couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur.....	108
Figure 54 Dimensions de la cellule TEM modélisée par le logiciel CST : (a) vue de côté, (b) vue de dessus.	109
Figure 55 Distribution du DAS à travers la couche inférieure et une coupe verticale de l'échantillon biologique pour trois configurations différentes: (a) Cellule TEM sans ouverture, (b) cellule TEM avec une ouverture de 20-mm de diamètre dans la plaque inférieure 20 mm, (c) l'ouverture inférieure de 20-mm de diamètre fermée par une lame en verre couverte avec une couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur.....	110
Figure 56 Distribution du DAS à 0.9 GHz à travers la couche inférieure de l'échantillon biologique obtenue pour différentes tailles de l'ouverture percée dans la plaque inférieure de la cellule TEM sans la couche d'ITO.	112
Figure 57 Distribution du DAS à 1.4 GHz à travers la couche inférieure de l'échantillon biologique obtenue pour différentes tailles de l'ouverture percée dans la plaque inférieure de la cellule TEM sans la couche d'ITO.	113
Figure 58 Distribution du DAS à 1.8 GHz à travers la couche inférieure de l'échantillon biologique obtenue pour différentes tailles de l'ouverture percée dans la plaque inférieure de la cellule TEM sans la couche d'ITO.	114
Figure 59 DAS moyenné sur le volume entier de la solution biologique en fonction de la fréquence pour différentes tailles d'ouverture (diamètre de 0, 4, 8, 12, 16 et 20 mm).....	116



Figure 60 Montage expérimental développé pour les mesures de température (en utilisant la sonde Luxtron).	117
Figure 61 Les dimensions et la géométrie de la plaque d'ITO.	118
Figure 62 Les résultats de mesures de température pour l'exposition de 3-ml de la solution saline à une fréquence de 1.8 GHz et une puissance incidente $P_{inc} = 25$ W dans la cellule TEM avec l'ouverture de diamètre 20-mm fermée par la plaque d'ITO cuite une heure dans le four à 120°C. Mesures faites une heure et six heures après la cuisson.	119
Figure 63 Méthode de mesure de la résistance carrée $R_{\square}$, exprimée en ohms par carré ($\Omega/\square$).	121
Figure 64 Les résultats de mesures de température pour l'exposition de 3-ml de la solution saline à une fréquence de 1.8 GHz et une puissance incidente $P_{inc} = 25$ W dans la cellule TEM avec l'ouverture de diamètre 20-mm fermée par la plaque d'ITO cuite 12 heures dans le four à 120°C. Mesures faites sur une durée de 14 jours après la cuisson.	122
Figure 65 Mesures de température obtenues par la sonde Luxtron pour trois configurations différentes: cellule TEM sans ouverture dans la plaque inférieure (courbe bleue); cellule TEM avec une ouverture de 20-mm de diamètre (courbe rouge); ouverture fermée avec une couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur (courbe verte).	123
Figure 66 Emplacement des points de mesure de température avec la Luxtron.	125
Figure 67 Cellules U87 observées en fluorescence multimodale à travers l'ouverture ITO de la cellule TEM. Les cellules ont été marquées avec des fluorophores pour discriminer i, le noyau (Hoechst- 33342), ii, les microtubules (tubuline couplée à la GFP), iii, les mitochondries (TMRM), iv, une image combinée des trois canaux de fluorescence. Les images ont été capturées avec un objectif LEICA HCX 40x à distance de travail élevée (N.A. 0.75).....	128
Figure 68 (a) milieu biologique diélectrique entre deux plaques métalliques. (b) circuit équivalent du point de vue électrique.....	135
Figure 69 Cuvette d'électroporation standard de distance inter-électrodes 4 mm.	137
Figure 70 Caractérisation fréquentielle de la cuvette biologique standard de distance inter-électrodes de 4 mm contenant un milieu de culture des cellules biologique de conductivité électrique ajustée à 0.31 S/m. (a) Modules du coefficient de réflexion S_{11} et de la puissance transmise. (b) Résultats analytiques et mesurés des parties réelle et imaginaire de l'impédance d'entrée Z_e . D'après [139].	138
Figure 71 Allures temporelles et spectres fréquentiels des impulsions électriques incidentes et appliquées mesurées à l'entrée de la cuvette biologique standard de distance inter-électrodes de 4 mm contenant un échantillon biologique de conductivité électrique faible de 0.31 S/m. Résultats pour une impulsion de durée 10 ns: (a) allures temporelles et (b) spectres fréquentiels. Résultats pour une impulsion de durée 3 ns: (c) allures temporelles et (d) spectres fréquentiels. D'après [139].	138



Figure 72 Photographies et dimensions des deux cuvettes biologiques modifiées. La cuvette biologique de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et la cuvette biologique de distance inter-électrodes de 4 mm (b).	140
Figure 73 Schéma de la cuvette biologique modifiée montée sous l'objectif du microscope.	141
Figure 74 Géométrie et dimensions des cuvettes biologiques modifiées contenant le milieu biologique.	143
Figure 75 Photographies des deux cuvettes biologiques modifiées placées entre deux plaques métalliques soudées à un connecteur de type N. Photographie de la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et de la cuvette de distance inter-électrodes de 4 mm (b).	144
Figure 76 Modules du coefficient de réflexion S_{11} mesurés à l'entrée des deux cuvettes biologiques modifiées de distances inter-électrodes de 1 mm et 4 mm.	145
Figure 77 Partie réelle et partie imaginaire de l'impédance à l'entrée de la cuvette biologique de distances inter-électrodes de 1 mm (a) et 4 mm (b).	147
Figure 78 Photographies de la cuvette biologique modifiée de distance inter-électrodes de 4 mm placée en parallèle à une charge 50 Ω , entre deux plaques métalliques soudées à un connecteur BNC. Configuration de la charge 50 Ω soudée directement aux deux plaques métalliques (a). Configuration de la charge 50 Ω placée en forme de T avec la cuvette biologique (b).	148
Figure 79 Modules du coefficient de réflexion S_{11} mesurés de la cuvette biologique de distance inter-électrodes de 4 mm sans la charge 50 Ω en parallèle, avec la charge 50 Ω soudée aux plaques métalliques ou placée en forme de T avec la cuvette biologique.	149
Figure 80 Partie réelle et partie imaginaire de l'impédance à l'entrée de la cuvette biologique modifiée de distance inter-électrodes de 4 mm placées en parallèles avec une charge 50 Ω soudée aux deux plaques métalliques tenant la cuvette biologique.	150
Figure 81 Banc expérimental pour étudier le comportement des applicateurs dans le domaine temporel avec des impulsions électriques hautes tensions de durées courtes et ultracourtes.	151
Figure 82 Allures temporelles et spectres fréquentiels des trois impulsions FID utilisées dans notre travail pour étudier le comportement fréquentiel et temporel des différents applicateurs. Allure temporelle de l'impulsion monopolaire de durée à mi-hauteur 14 ns et d'amplitude 4.5 kV (a) et son spectre fréquentiel (b). Allure temporelle de l'impulsion monopolaire de durée à mi-hauteur 8 ns et d'amplitude 4.6 kV (c) et son spectre fréquentiel (d). Allure temporelle de l'impulsion monopolaire de durée à mi-hauteur 3 ns et d'amplitude 3.1 kV (e) et son spectre fréquentiel (e).	153
Figure 83 Allures temporelles des impulsions électriques incidentes, réfléchies et transmises à l'entrée de la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm contenant l'échantillon biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14-ns (a), 8-ns (b) et 3 ns (c).	157
Figure 84 Allures temporelles des impulsions électriques incidentes, réfléchies et transmises à l'entrée de la cuvette de distance inter-électrodes de 4 mm contenant l'échantillon	



biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, pour la cuvette sans la charge 50 Ω (a) et avec la charge 50 Ω (b). Résultats pour l'impulsion incidente 8 ns, pour la cuvette sans la charge 50 Ω (c) et avec la charge 50 Ω (d). Résultats pour l'impulsion incidente 3 ns, pour la cuvette sans la charge 50 Ω (e) et avec la charge 50 Ω (f)..... 158

Figure 85 Cuvettes biologiques modélisées et simulées. La cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et la cuvette de distance inter-électrodes 4 mm (b). 160

Figure 86 Module du coefficient de réflexion S_{11} obtenus par mesure et simulation pour la cuvette de gap inter-électrodes de 1-mm (a) et 4-mm (b). 161

Figure 87 Tensions incidente (V_{inc}) et appliquée (V_{app}) au milieu biologique contenu dans la cuvette d'électroporation. 162

Figure 88 Allures temporelles des champs électriques appliqués dans un échantillon biologique exposé dans les deux cuvettes biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et 4 mm (b). Résultats pour l'impulsion incidente 8 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (c) et 4 mm (d). Résultats pour l'impulsion incidente 3 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (e) et 4 mm (f). 165

Figure 89 Spectres fréquentiels des champs électriques appliqués dans un échantillon biologique exposé dans les deux cuvettes biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et 4 mm (b). Résultats pour l'impulsion incidente 8 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (c) et 4 mm (d). Résultats pour l'impulsion incidente 3 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (e) et 4 mm (f). 167

Figure 90 Distribution spatiale du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé dans les deux cuvettes biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et 4 mm (b). Les résultats correspondent à l'instant $t = 25$ ns ou l'amplitude du champ appliqué est maximale. 168

Figure 91 Photographie d'un système à deux électrodes. 172

Figure 92 Système à deux électrodes modélisé et simulé. 174

Figure 93 Modules du coefficient de réflexion S_{11} obtenus par mesure et simulation pour le système à deux électrodes sans et avec le milieu biologique. 175

Figure 94 Parties réelles et parties imaginaires de l'impédance obtenues par mesure pour le système à deux électrodes sans et avec le milieu biologique. 176

Figure 95 Allures temporelles des impulsions électriques incidentes, réfléchies et transmises à l'entrée du système à deux électrodes plongeant dans le milieu biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns (a), 8 ns (b) et 3 ns(c)..... 178

Figure 96 Caractérisation des champs électriques appliqués dans un échantillon biologique exposé à l'aide du système à deux électrodes. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, dans le domaine temporel (a) et le domaine fréquentiel (b). Résultats pour l'impulsion incidente 8



ns, dans le domaine temporel (c) et le domaine fréquentiel (d). Résultats pour l'impulsion incidente 3 ns, dans le domaine temporel (e) et le domaine fréquentiel (f).	181
Figure 97 Distribution spatiale du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé avec le système à deux électrodes. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, coupe longitudinale (a) et coupe transversale (b). Les résultats correspondent à l'instant $t = 25$ ns ou l'amplitude du champ appliqué est maximale.	182
Figure 98 Exposition nsPEF avec le système à deux électrodes d'un embryon de caille <i>ex ovo</i> au jour 12 embryonnaire greffé avec des cellules tumorales humaines de glioblastome U87.	183
Figure 99 Photographie de la cellule TEM contenant la cuvette en plastique remplie de solution biologique.	189
Figure 100 Cellule TEM contenant la cuvette en plastique remplie par la solution biologique modélisée et simulée.	190
Figure 101 Modules du coefficient de réflexion S_{11} et de transmission S_{21} obtenus par mesure et simulation pour la cellule TEM contenant la cuvette en plastique remplie par la solution biologique.	191
Figure 102 Parties réelle et imaginaire de l'impédance mesurée à l'entrée de la cellule TEM contenant la cuvette en plastique remplie par la solution biologique.	192
Figure 103 Allures temporelles des impulsions électriques incidentes, réfléchies et transmises à l'entrée de la cellule TEM contenant la cuvette en plastique remplie par la solution biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns (a), 8 ns (b) et 3 ns (c).	193
Figure 104 Caractérisation des champs électriques appliqués dans un échantillon biologique exposé dans la cuvette en plastique placée à l'intérieur de la cellule TEM. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, dans le domaine temporel (a) et le domaine fréquentiel (b). Résultats pour l'impulsion incidente 8 ns, dans le domaine temporel (c) et le domaine fréquentiel (d). Résultats pour l'impulsion incidente 3 ns, dans le domaine temporel (e) et le domaine fréquentiel (f).	196
Figure 105 Distribution spatiale du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé dans la cuvette en plastique placée à l'intérieur de la cellule TEM. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, coupe longitudinale (a) et coupe transversale (b). Les résultats correspondent à l'instant $t = 25$ ns ou l'amplitude du champ appliqué est maximale.	197
Figure 106 Cuvettes biologiques isolées modélisées et simulées. La cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et la cuvette de distance inter-électrodes 4 mm (b).	200
Figure 107 Module du coefficient de réflexion S_{11} obtenus par simulation pour les cuvettes isolées de gap inter-électrodes de 1-mm (a) et 4-mm (b).	201
Figure 108 Caractérisation du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé à l'impulsion 3 ns dans les cuvettes d'électroporation. Résultats pour la cuvette isolée de distance inter-électrodes de 1 mm, dans le domaine temporel (a) et le domaine fréquentiel	



(b). Résultats pour la cuvette isolée avec une couche de silicone d'épaisseur 100 μm , de distance inter-électrodes de 4 mm, dans le domaine temporel (c) et le domaine fréquentiel (d). Résultats pour la cuvette isolée avec une couche de silicone d'épaisseur 500 μm , de distance inter-électrodes de 4 mm, dans le domaine temporel (e) et le domaine fréquentiel (f)..... 203

Figure 109 Distribution spatiale du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé dans la cuvette biologique isolée de distance inter-électrodes de 4 mm. L'épaisseur de la couche de silicone est de 500 μm . Les résultats correspondent à l'instant $t = 7$ ns ou l'amplitude du champ appliqué est maximale. 204

Figure 110 Systèmes à deux électrodes isolées modélisées et simulées. 206

Figure 111 Module du coefficient de réflexion S_{11} obtenus par simulation pour le système à deux électrodes isolées du milieu biologique..... 207

Figure 112 Caractérisation du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé à l'impulsion 3 ns avec le système à deux électrodes isolées dans le domaine temporel (a) et le domaine fréquentiel (b)..... 208

Figure 113 Distribution spatiale du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé à l'aide du système à deux électrodes isolées. Résultats pour l'impulsion incidente 3 ns, coupe longitudinale (a) et coupe transversale (b). Les résultats correspondent à l'instant $t = 7$ ns ou l'amplitude du champ appliqué est maximale. 208





Table des tableaux

Tableau II-1 DAS localisé simulé pour 3 configurations à 1.8 GHz.....	111
Tableau II-2 DAS localisé mesuré à 1.8 GHz pour la cellule TEM avec l'ouverture de 20-mm de diamètre fermée par la couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur, cuite une heure à une température de 120°C.....	120
Tableau II-3 DAS localisé mesuré à 1.8 GHz pour la cellule TEM avec l'ouverture de 20-mm de diamètre fermée par la couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur cuite une heure à une température de 120°C.....	122
Tableau II-4 DAS localisé mesuré et simulé pour 3 configurations à 1.8 GHz.	124
Tableau II-5 DAS localisé mesuré à 1.8 GHz pour la cellule TEM avec l'ouverture de 20-mm de diamètre fermée par la couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur cuite une heure à une température de 120°C.....	126
Tableau III-1 Amplitudes maximales des tensions incidentes et transmises mesurées à l'aide du tap-off à l'entrée des trois structures différentes contenant le milieu biologique: la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm sans la charge 50 Ω et la cuvette de de distance inter-électrodes de 4 mm sans et avec la charge 50 Ω . Résultats pour les trois impulsions incidentes de durées 14 ns, 8 ns et 3 ns.	155
Tableau III-2 Propriétés des parties diélectriques des structures modélisées des cuvettes biologiques.	160
Tableau III-3 Amplitudes maximales des champs incidents et appliqués au milieu biologique obtenues par mesure et simulation pour les deux cuvettes de distances inter-électrodes de 1 mm et 4 mm. Résultats pour les trois impulsions incidentes de durées 14 ns, 8 ns et 3 ns.	164
Tableau III-4 Amplitudes maximales des tensions incidentes et transmises mesurées à l'aide du tap-off à l'entrée du système à électrodes. Résultats pour les trois impulsions incidentes de durées 14 ns, 8 ns et 3 ns.	176
Tableau III-5 Amplitudes maximales des champs incidents et appliqués au milieu biologique par le système à électrodes. Résultats pour les trois impulsions incidentes de durées 14 ns, 8 ns et 3 ns.	180
Tableau IV-1 Amplitudes maximales des tensions incidentes et transmises mesurées à l'aide du tap-off à l'entrée de la cellule TEM contenant la cuvette en plastique remplie par le milieu biologique. Résultats pour les trois impulsions incidentes de durées 14 ns, 8 ns et 3 ns.....	192
Tableau IV-2 Amplitudes maximales des champs incidents et appliquées au milieu biologique contenant dans la cuvette en plastique placée dans la cellule TEM. Résultats pour les trois impulsions incidentes de durées 14 ns, 8 ns et 3 ns.	195
Tableau IV-3 Amplitudes maximales des champs incidents et appliquées au milieu biologique contenu dans les cuvettes biologiques isolées et avec contact. Résultats pour l'impulsion incidente de durée 3 ns.....	202



Tableau IV-4 Amplitudes maximales des champs incidents et appliquées au milieu biologique par le système à deux électrodes isolées et avec contact. Résultats pour l'impulsion incidente de durée 3 ns.	207
---	-----



Introduction générale





Introduction générale

Depuis des décennies, le monde industriel et sociétal s'intéresse de plus en plus aux interactions entre le vivant et les champs électromagnétiques fréquemment utilisés dans notre environnement. Avec l'avènement de la téléphonie mobile et des systèmes de télécommunications sans fil (GSM, WiFi, WiMax, ...), de nombreuses études sont orientées vers l'évaluation des effets sanitaires éventuels de ces nouveaux signaux ayant des intensités et des fréquences très élevées [1].

Cependant, au-delà des effets sanitaires des ondes électromagnétiques, il existe un certain nombre d'applications qui utilisent les champs électromagnétiques à des fins thérapeutiques. Plusieurs études ont été réalisées et ont montré que l'application d'un champ électromagnétique alternatif radiofréquence (typiquement entre 450 à 500 kHz) [2] ou micro-onde (typiquement de 915 MHz et 2.45 GHz) [3] à un milieu biologique, entraîne un échauffement du milieu au-delà de 60°C. Cette température considérée comme létale pour les cellules aboutit à la mort cellulaire par la formation d'une nécrose de coagulation. Cette technique basée sur l'élévation de la température du milieu biologique est nommée « ablation thermique ». Elle peut être utilisée pour détruire les tumeurs cancéreuses considérées comme inopérables ou pour traiter les patients inadmissibles à la chirurgie en raison de l'âge, la souffrance d'autres maladies supplémentaires ou d'une mauvaise santé générale.

D'autres études ont montré qu'un champ électrique pulsé suffisamment intense délivré à un milieu biologique est capable de modifier la perméabilité de la membrane cellulaire, formant des pores aqueux à travers elle, d'où le nom électroporation, permettant le passage d'ions et molécules [4]. Depuis la mise en œuvre de son application efficace à la biotechnologie (décontamination bactérienne...) [5] et à la médecine (électrochimiothérapie pour le traitement du cancer...) [6], l'électroporation induite par les impulsions électriques de durées allant de l'ordre de la milliseconde à la microseconde (ms/μs) prend un intérêt croissant.

Plus récemment, l'application d'impulsions de champ électrique de durées plus courtes que celles utilisées dans le cas de l'électrochimiothérapie a montré l'électroporation des membranes intracellulaires, ouvrant ainsi un moyen de manipulations subcellulaires [7]. Ce type d'impulsion se nomme « nanopulse » ou en anglais nanosecond Pulsed Electric Field (nsPEF). Un nouveau champ d'applications est alors apparu pour ces signaux ultracourts.



L'exposition des milieux biologiques à des champs électromagnétiques exige la maîtrise des procédures d'expérimentation et de mesure pour assurer la reproductibilité et l'analyse des résultats obtenus. L'étape expérimentale consiste à être capable de générer les champs et les transférer vers le milieu biologique. Il faut donc développer des systèmes d'exposition composés d'une part du générateur qui permet de délivrer des signaux et d'autre part de l'applicateur qui contient le milieu cellulaire.

Dans ce contexte, nous étudions des interactions entre les champs électromagnétiques et le vivant connues sous le nom de bioélectromagnétisme. Les travaux de ma thèse ont été effectués en collaboration avec des biologistes et des médecins, au sein de l'équipe « BioEM » de l'Institut de recherche XLIM. Ils avaient particulièrement pour objectif le développement et la caractérisation de la partie « applicateurs » du système d'exposition, spécifiques pour l'exposition des milieux biologiques à différents types de champs électromagnétiques : radiofréquences, micro-ondes et impulsionnels. Cela permettra de trouver leurs limites et préciser les bonnes conditions de fonctionnement. Mes travaux s'appuyaient sur des mesures expérimentales et des simulations numériques pour atteindre ces objectifs. Le manuscrit est composé de quatre chapitres qui se composent comme suit.

Le premier chapitre consiste à définir le contexte de l'étude. La première partie exposera et définira les principaux éléments qui composent une cellule biologique. La deuxième partie présentera les phénomènes connus des ondes électromagnétiques sur la cellule tel que l'effet thermique ainsi que son application dans l'ablation thermique. Le principe d'échauffement des deux techniques d'ablation les plus connues: « l'ablation radiofréquence » (ARF) et « l'ablation micro-onde » (AMW) sera introduit. Une comparaison de ces deux techniques sera donnée pour montrer les avantages de l'AMW par rapport à l'ARF. Ensuite, les interrogations concernant les effets sanitaires potentiels des signaux de télécommunications sans fils seront abordées. La troisième partie sera consacrée à l'étude de l'interaction entre les champs électriques pulsés et le vivant. Nous commencerons par expliquer les mécanismes et les phénomènes de base de l'interaction du milieu biologique avec les impulsions, en fonction de leur durée et leur amplitude. Ensuite, les principales applications médicales seront présentées brièvement afin de mettre en évidence les raisons d'utiliser des impulsions ultracourtes (ns, ps) et les effets supplémentaires par rapport aux impulsions de durée plus longue (ms, μ s). Enfin, les systèmes d'exposition des milieux biologiques aux ondes électromagnétiques seront présentés en décrivant d'une façon générale leurs différentes parties. Premièrement, un bref état de l'art sur



les dispositifs d'AMW, basés sur des structures d'antennes différentes, sera donné. Ces antennes sont divisées en deux catégories : antennes d'AMW « par voie percutanée » ou « par voie endoscopique ». Deuxièmement nous présenterons un bilan des différents systèmes d'exposition utilisés dans le cadre de l'étude de l'interaction des ondes radiofréquences avec le vivant (effet sanitaire). Le but est de sélectionner et détailler les systèmes qui permettent l'observation microscopique en temps réel du milieu durant son exposition. Elle introduira entre autres les exigences biologiques et physiques à satisfaire en développant un système d'exposition. Enfin, les applicateurs nsPEFs existant seront décrits afin de bien préciser la problématique par rapport aux limites d'un applicateur vis-à-vis des impulsions.

Dans le deuxième chapitre, deux systèmes d'exposition pour des applications différentes seront caractérisés. Le premier système est basé sur une antenne triaxiale. Ce système est spécifique pour l'AMW par voie endoscopique des tumeurs cancéreuses du foie. Le deuxième est un système spécifique pour l'étude des effets sanitaires des signaux GSM à 1800 MHz. Il est basé sur une cellule transverse électromagnétique (TEM) qui sera modifiée pour permettre l'exposition en temps réel sous l'objectif du microscope de l'échantillon biologique dans une boîte de Petri.

Dans le troisième chapitre, deux applicateurs spécifiques pour l'exposition des milieux biologiques aux nsPEFs seront présentés. Ces applicateurs permettent l'exposition du milieu en contact direct avec les électrodes. Le premier applicateur est une cuvette biologique modifiée pour permettre la visualisation microscopique en temps réel d'une suspension cellulaire exposée aux nsPEFs. Le deuxième est un système basé sur deux électrodes spécifique pour l'exposition de tumeurs humaines greffées sur membrane chorioallantoïdienne (CAM) d'œufs de caille.

Enfin, le quatrième et dernier chapitre, proposera l'étude de trois applicateurs nsPEFs avec les électrodes isolées du milieu biologique. Nous commencerons par la caractérisation d'une cellule transverse TEM, puis nous proposerons d'effectuer une isolation entre le milieu biologique et les électrodes de la cuvette biologique et du système à deux électrodes présentés dans le troisième chapitre.

Ce manuscrit se termine par une conclusion générale et des perspectives sur les travaux présentés.





Chapitre I :

Contexte de l'étude





I.1. Introduction

Au cours des deux dernières décennies, l'augmentation rapide de l'utilisation des appareils de communication sans fil tels que la téléphonie mobile, WiFi, Zigbee, Bluetooth, a été accompagnée par une quantité importante de la recherche. Cela vient en réponse aux inquiétudes du public concernant les effets possibles des champs électromagnétiques (EM) sur la santé [8], [1]. Ces champs s'inscrivent dans le spectre des champs électromagnétiques radiofréquences (RF-EMF) allant de 30 kHz à 300 GHz.

Actuellement, le seul effet avéré est l'effet thermique. La nature dipolaire de certaines molécules, la molécule d'eau en particulier, entraîne des pertes par effet Joule conduisant à un échauffement du milieu biologique. Cependant, les mécanismes intervenant dans l'interaction entre les champs EM et les cellules vivantes autres que ceux conduisant au seul effet avéré, l'effet thermique, sont encore largement méconnus (s'ils existent). Pour répondre à ces questions, une piste repose sur le développement des systèmes permettant la visualisation microscopique en temps réel des cellules biologiques pendant leur exposition à des champs EM. Cette visualisation est en effet essentielle pour définir et explorer les mécanismes d'interaction, à la fois les effets thermiques et les effets potentiels non thermiques.

La biologie et les réponses biologiques sont complexes et transitoires à l'échelle temporelle. Jusqu'à présent, en raison des systèmes d'exposition utilisés qui ne permettent pas la visualisation en temps réel au cours de l'exposition, la plupart des études biologiques aux RF-EMF ont considéré des durées arbitraires fixes ; exposition de 30 minutes, exposition de 4 h, etc. Ces études sont donc adaptées uniquement à la mesure des effets biologiques permanents obtenus après la fin de l'exposition. Seule la visualisation microscopique en temps réel permet le suivi des réponses biologiques transitoires qui peuvent avoir lieu depuis le début de l'exposition jusqu'à sa fin. Peu sont les systèmes déjà conçus pour assurer cette visualisation.

Autres que les effets athermiques sanitaires des ondes électromagnétiques, il existe des applications qui utilisent l'effet thermique de ces ondes pour des fins thérapeutiques. Le cancer est l'une des principales causes de décès humain des dernières décennies [9]. Les principaux traitements actuels du cancer sont la chirurgie, la chimiothérapie, la radiothérapie et d'autres méthodes, mais ces traitements provoquent généralement des effets secondaires importants. Par conséquent, le développement de technologies avec des effets secondaires réduits est nécessaire.



A la fin des années 1990, l'hyperthermie ou l'ablation thermique par une énergie électromagnétique a été proposé comme étant un procédé pour le traitement du cancer lorsque des études expérimentales ont montré que certains types de cellules cancéreuses sont plus sensibles aux températures élevées que les cellules des tissus sains [10]. Le terme « ablation » réfère à la destruction d'un matériau. Le but de l'ablation thermique est de détruire les tissus cancéreux en générant des températures nocives (effet thermique) pour les cellules pendant une courte période de temps d'une manière peu invasive, sans endommager les structures voisines.

Les principales modalités d'ablation thermique dans les applications cliniques à ce jour comprennent l'ablation par radiofréquence (ARF) et l'ablation micro-ondes (AMW). L'ARF est actuellement la modalité la plus populaire et largement étudiée, tandis que l'AMW a été que récemment découverte. En comparant les deux techniques de thérapie thermique, l'AMW a montré plusieurs avantages supplémentaires. Bien que ces deux techniques détruisent les tumeurs en les chauffant à des températures cytotoxiques, leurs mécanismes d'échauffement sont très différents et doivent être pris en considération pour l'ablation des différents types de tissus. En particulier, ces dernières années la plupart des progrès ont été associés au traitement des tumeurs du foie [11]–[13].

De nombreux types d'antennes (dipôle, monopole...) pour l'ablation thermique des tumeurs cancéreuses ont été proposés dans la littérature [14]. La plupart de ces antennes sont conçues pour être insérées dans la tumeur par voie percutanée ou à travers une opération chirurgicale. Cependant, un grand nombre de patients ne peuvent pas être soumis à une intervention chirurgicale en raison du stade avancé de la maladie ou de leurs souffrances simultanées d'autres maladies comme le diabète, etc. Cela nécessite alors la recherche d'une méthode plus sécurisée qui permet l'insertion de l'antenne dans la tumeur tout en évitant le recours à une opération chirurgicale.

Plus récemment, il a été montré qu'un champ électrique pulsé suffisamment intense est capable d'induire des changements morphologiques et fonctionnels dans les cellules biologiques. Les effets observés varient fortement en fonction des caractéristiques des impulsions appliquées, telles que leur durée et intensité. Les impulsions longues (ms- μ s, kV/m) affectent la membrane plasmique de la cellule biologique [4], [15], tandis que les impulsions nanoseconde (nsPEF) de très fortes amplitudes (MV/m) pénètrent à l'intérieur de la cellule pour cibler les structures intracellulaires [16], [17]. Ces dernières années, un vif intérêt pour ces champs électriques pulsés courts s'est développé grâce à leur application importante à la



biotechnologie [5] (ex : décontamination bactérienne) et à la médecine [6] (ex : électrochimiothérapie, transfert d'ADN).

L'application des champs électriques pulsés haute intensité nanoseconde (nsPEF) sur un milieu biologique exige la mise en place des bancs d'exposition qui permettent de réaliser des expérimentations dans des conditions précises et maîtrisées sur les deux aspects physique et biologique. Il faut être capable de générer des impulsions dont on maîtrise la forme, la durée, et l'amplitude. Il faut ensuite amener ces impulsions vers le milieu biologique de façon à appliquer le maximum de tension sur ce milieu.

Dans ce cadre, mon travail de thèse se focalise sur la conception et la caractérisation des systèmes spécifiques pour l'exposition des milieux biologiques aux ondes électromagnétiques. Le but est d'évaluer leurs effets thermiques et athermiques pour des applications sanitaires ou thérapeutiques.

Ce premier chapitre sera organisé de la manière suivante. Dans un premier temps, nous décrirons les principaux éléments qui composent une cellule biologique d'un point de vue physique vis-à-vis de l'interaction avec des ondes électromagnétiques. Ensuite, l'effet thermique connu des ondes électromagnétiques et son application dans les techniques d'ablation thermiques seront présentés, ainsi que l'inquiétude vis-à-vis des effets potentiels athermiques des signaux de télécommunications sans fils sur la santé humaine. Cette partie sera suivie par une définition des caractéristiques générales des champs électriques pulsés, de leurs effets sur la cellule biologique et de leurs applications dans le domaine biomédical et la biotechnologie. Finalement, un bilan des systèmes d'exposition couramment utilisés dans la littérature sera donné pour comprendre la motivation principale de notre travail focalisé sur cette partie.



I.3. La cellule biologique

I.3.1. Description du point de vue biologique

Une cellule biologique (Figure 1a) est composée essentiellement d'un milieu interne liquide, le cytoplasme, dans lequel différentes organelles (noyau cellulaire, mitochondrie...) sont en suspensions. Il est entouré par une membrane plasmique qui représente une barrière physique relativement imperméable au passage des molécules et des ions entre le milieu intracellulaire et le milieu extracellulaire [18].

Les principaux constituants moléculaires de chaque membrane cellulaire sont les lipides. Les plus abondants sont les phospholipides (Figure 1b), mais les membranes biologiques typiques contiennent également des glycolipides et du cholestérol. Chacun de ces trois groupes principaux de lipides comporte une partie polaire (hydrophile) et une partie non polaire (hydrophobe). La partie polaire est assez compacte et la partie non polaire est plus allongée de sorte qu'elles sont souvent désignées par la « tête » et les « queues » de la molécule lipidique, respectivement (Figure 1d). En raison de cette structure, les lipides dans les solutions aqueuses forment spontanément une double couche, avec les queues non polaires orientées vers l'intérieur et les têtes polaires orientées vers l'extérieur. De ce fait, la membrane plasmique est considérée initialement formée d'une bicouche phospholipidique, comme montre la Figure 1c. La membrane plasmique possède une épaisseur entre 5 et 10 nm, selon le type de la cellule [19]. Elle représente un support mécanique et une protection de la cellule.

I.3.2. Description du point de vue électrique

D'un point de vue électrique, la cellule entière peut être représentée par un modèle sphérique simple dans lequel le cytoplasme est le milieu conducteur et la membrane plasmique est l'isolant (Figure 2). Le cytoplasme est caractérisé par sa conductivité électrique σ_{int} (0.14 - 1.2 S/m) et sa permittivité diélectrique ϵ_{int} (60 - 80).

Au repos, en raison de la répartition inégale des ions de part et d'autre de la membrane cellulaire (Figure 2), il existe un potentiel transmembranaire (PTM) compris généralement entre -40 mV et -80 mV [20]. Le potentiel transmembranaire se définit comme étant la différence de tension entre les deux cotés intérieure (V_{int}) et extérieure (V_{ext}) :

$$PTM = V_{int} - V_{ext} \quad \text{équation I-1}$$



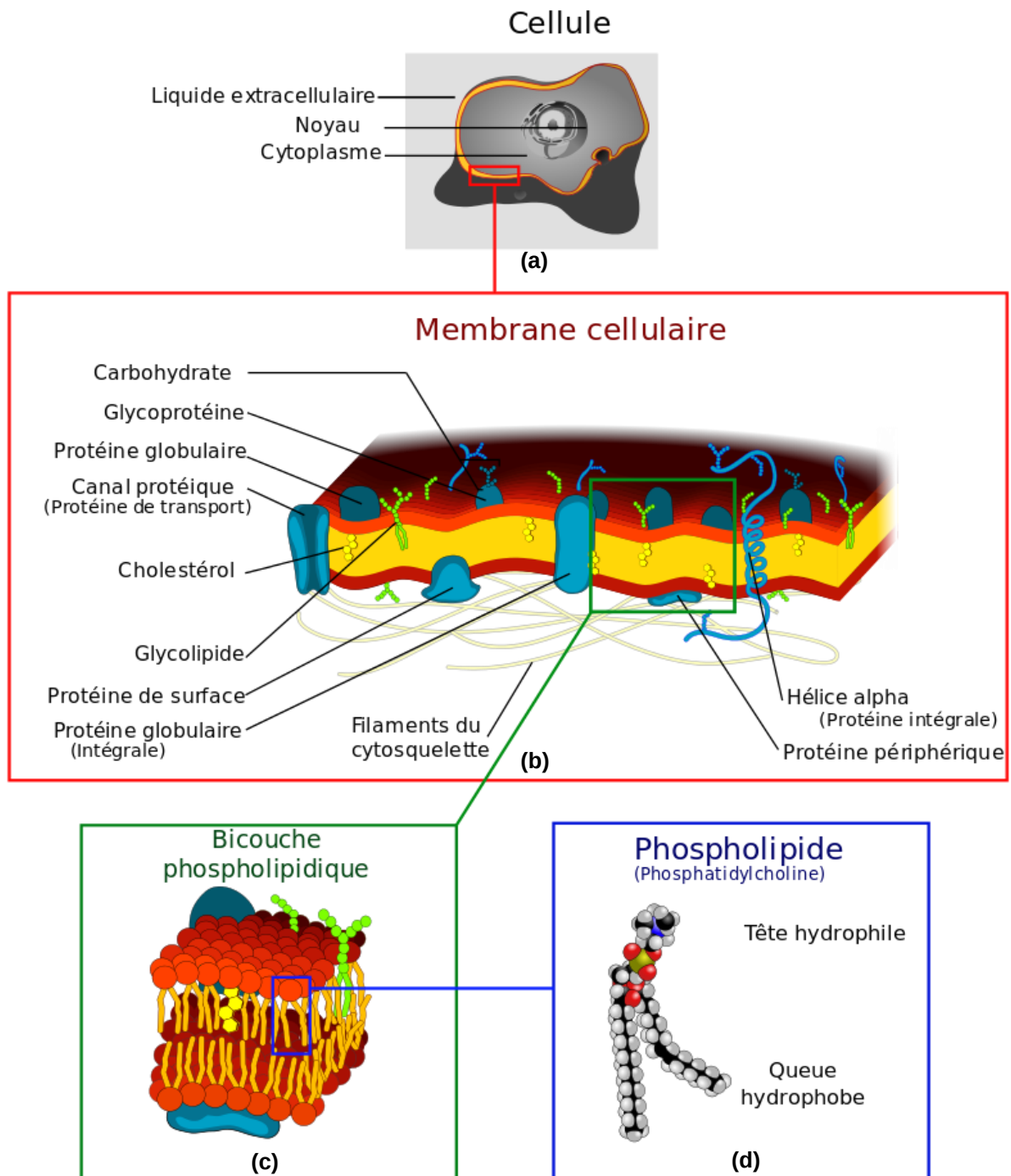


Figure 1 Schéma d'un modèle simplifié d'une cellule biologique et de la composition de la membrane plasmique : (a) schéma simplifié de la cellule, (b) composition de la membrane cellulaire, (c) représentation schématique de la couche phospholipidique et (d) d'une molécule lipidique [18] .

La membrane plasmique est assimilée à une combinaison résistance-capacité. Le comportement résistif élevé de l'ordre de $100 \Omega.m$ résulte de la perméabilité sélective de la membrane qui empêche le mouvement de certaines charges à travers elle. La capacité est due au fait que la bicouche lipidique est très mince, ce qui fait qu'une accumulation de particules



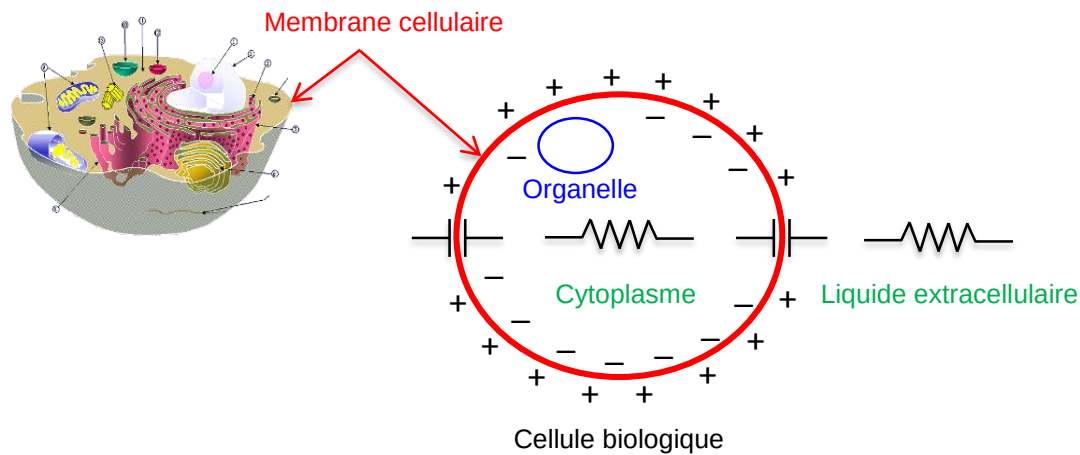


Figure 2 Schéma d'un modèle simplifié d'une cellule biologique du point de vue électrique.

chargées d'un côté donne lieu à une force électrique qui attire les particules de charges opposées sur l'autre côté. La capacité est caractérisée par un temps de charge qui dépend du diamètre de la cellule (8 - 100 μm) et de la conductivité électrique du milieu de culture qui la contient σ_{ext} (0.13 - 1.2 S/m) [21]. Pour des cellules de mammifères en suspension, le temps de charge de la membrane plasmique varie typiquement entre 50 et 100 ns [22].

Lorsqu'un tissu biologique est exposé à une onde électromagnétique, des phénomènes d'induction de courant électrique ou d'absorption d'énergie plus ou moins importants se créent. Ces phénomènes dépendent essentiellement de la fréquence de l'onde électromagnétique incidente. Dans la partie qui suit, nous allons présenter les mécanismes d'interaction entre une onde électromagnétique et un tissu biologique.

I.4. Interaction d'une onde électromagnétique avec le vivant

I.4.1. Effet thermique

Il existe différents mécanismes d'interaction entre les ondes électromagnétiques et les tissus biologiques [23]. Lorsque l'onde électromagnétique est située aux basses fréquences (< 100 kHz), le couplage avec un tissu biologique conduit à la création d'un courant électrique et la réorientation des molécules dipolaires dans le tissu. L'exposition du corps humain à des telles ondes n'entraîne généralement qu'une faible absorption d'énergie.

Au-delà de 100 kHz, il est possible d'observer des phénomènes d'absorption d'énergie significatifs. Cette absorption d'énergie peut entraîner une élévation de la température du tissu biologique. On parle dans ce cas de l'effet thermique des ondes électromagnétiques sur le



vivant. La quantité d'énergie absorbée par les tissus est le paramètre le plus significatif pour étudier cet effet thermique. Dans ce but, le Débit d'Absorption Spécifique (DAS), nommé en anglais Spécifique Absorption Rate (SAR), a été défini en 1981 par le NCRP (National Council on Radiation Protection and Measurements) comme paramètre dosimétrique de référence [24]. Le DAS peut être déterminé par des mesures expérimentales et des calculs numériques. Une définition du DAS sera donnée dans le paragraphe suivant.

I.4.1.1 Débit d'absorption spécifique

Le débit d'absorption spécifique ou DAS est une grandeur qui caractérise la quantité de puissance radiofréquence RF absorbée par unité de masse des cellules biologiques, émise vers les cellules par un appareil radioélectrique [25]. Il s'exprime en watt par kilogramme (W/kg). Sa définition générale est donnée par :

$$DAS = \frac{d}{dt} \left(\frac{dW}{dm} \right) = \frac{d}{dt} \left(\frac{dW}{\rho \times dV} \right) \quad (W/kg) \quad \text{équation I-1}$$

Où dW est la quantité d'énergie absorbée par l'élément de masse dm , de volume dV et de densité volumique ρ , pendant la durée dt .

Le DAS peut être calculé de plusieurs façons [25]. Il dépend du champ électrique présent dans le milieu considéré ainsi que des propriétés de ce même milieu (conductivité électrique et densité volumique) :

$$DAS = \frac{\sigma \times E^2}{2\rho} \quad (W/kg) \quad \text{équation I-2}$$

Où

σ est la conductivité du milieu en S/m.

ρ est la densité du milieu en kg/m³.

E est la valeur crête du champ électrique en V/m.

Le DAS est également proportionnel à l'élévation de température engendrée dans le milieu considéré pendant une durée ∂t :

$$DAS = C \left. \frac{\partial T}{\partial t} \right|_{t=t_0} \quad (W/kg) \quad \text{équation I-3}$$

Où

C est la capacité thermique massique du milieu en J/(kg.K).

∂T est l'élévation de température pendant la durée ∂t .

t_0 le début de l'exposition.



Pour une bonne détermination du DAS à partir de la température, la durée dt doit être choisie la plus courte possible pour s'affranchir des effets de conduction thermique pouvant intervenir à plus long terme. Le DAS est donc un paramètre dosimétrique qui semble être le plus significatif pour quantifier la dissipation de l'énergie dans un milieu biologique exposé à un champ électrique.

L'effet thermique des ondes électromagnétiques est utilisé dans de nombreuses applications quotidiennes comme par exemple le four micro-onde domestique. Il est utilisé également pour des applications dans le domaine biomédical. Il s'agit généralement d'utiliser l'effet thermique induit par les ondes électromagnétiques pour chauffer une zone particulière du corps humain et la détruire (tumeur cancéreuse par exemple). Cette technique est nommée « hyperthermie » ou « ablation thermique ». Dans la partie suivante, nous allons présenter les deux techniques d'ablation thermique les plus connues « l'ablation par des radiofréquences » et « l'ablation par des micro-ondes ».

I.4.2. Applications thérapeutiques de l'effet thermique : Ablation thermique

I.4.2.1 Ablation radiofréquence

Actuellement, l'ablation radiofréquence est la modalité d'ablation des tumeurs la plus connue et la plus utilisée dans les traitements cliniques [2]. L'ARF éradique les tumeurs en convertissant l'énergie radiofréquence en chaleur, ce qui provoque une dénaturation des protéines, une perte de la structure cellulaire et une nécrose de coagulation [26] (Figure 3).

L'ARF est basée sur la conduction électrique et considère typiquement des fréquences dans la gamme située entre 450 et 500 kHz [26]. Au cours de l'ARF, un courant alternatif est injecté dans la zone de traitement par l'intermédiaire d'une électrode placée dans la cible visée. Un plan de masse est généralement placé sur la cuisse du patient ou à l'arrière pour servir comme électrode de référence afin de compléter le circuit électrique. Dans le tissu, le courant électrique est transporté par les ions (Na^+ , K^+ et Cl^-). L'oscillation rapide des ions en raison de courant radiofréquence se traduit par un échauffement résistif [27] de manière préférentielle autour de l'électrode d'ARF où la densité du courant RF est la plus élevée.

A des températures comprises entre 60 et 100 °C, la dénaturation des protéines a lieu, conduisant à une nécrose de coagulation [28]. Au-delà de 105 °C, une carbonisation excessive et une vaporisation des tissus a lieu. Cela augmente l'impédance du milieu biologique, diminuant ainsi le flux du courant électrique [29]. Par conséquent, la gamme thérapeutique de



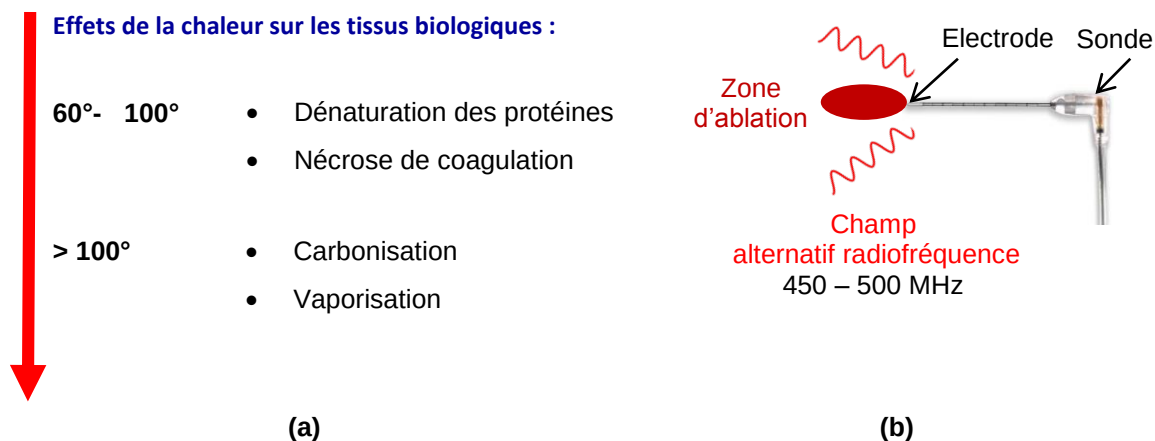


Figure 3 Effets de l'élévation de température induite par un champ alternatif radiofréquence sur les tissus biologiques (a) et le principe d'un système d'ARF (b).

l'ARF est étroite (par comparaison avec l'AMW qui sera définie dans le paragraphe suivant), comprise entre 65 °C et 105 °C.

I.4.2.2 Ablation micro-onde

L'ablation micro-onde (AMW), est une technique relativement nouvelle et moins étudiée parmi les techniques d'ablation thermique utilisées pour détruire les tumeurs cancéreuses [3]. Elle utilise des ondes électromagnétiques ayant des fréquences supérieures à 900 MHz (typiquement 915 MHz et 2.45 GHz).

L'ablation micro-onde est basée sur l'échauffement diélectrique des tissus biologiques [30]. Lorsqu'un champ électromagnétique alternatif est appliqué, les molécules polaires (principalement les molécules d'eau) ayant une distribution inégale de charges électriques, sont forcées à vibrer et se réorienter d'une manière continue à la même vitesse du champ oscillant appliqué (Figure 4). Ce mouvement vigoureux des molécules polaires augmente leur énergie cinétique et par conséquent la température du tissu par frottement. La destruction du tissu se fait par coagulation lorsque l'élévation de température atteint des niveaux cytotoxiques létaux supérieurs à 60 °C [31]. Les tissus contenant un pourcentage élevé d'eau sont les plus favorables à ce type d'échauffement et à l'absorption rapide de l'énergie micro-onde, puisqu'une molécule d'eau exposée aux micro-ondes oscille plusieurs milliards de fois par seconde [32].

Un autre mécanisme responsable de la génération de chaleur est la polarisation ionique. Ce phénomène a lieu lorsque les ions se déplacent en réponse au champ électrique des micro-ondes appliqué. Le déplacement des ions provoque une collision avec d'autres ions, ce qui



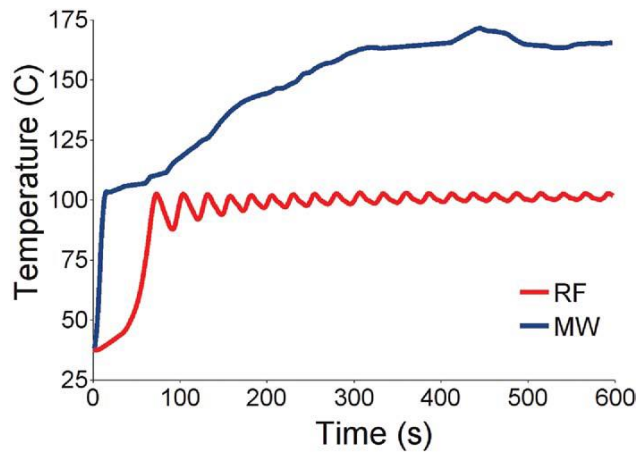


Figure 6 Comparaison de l'élévation de température obtenue par mesures *in vivo* après application de l'AMW et l'ARF dans un rein porcine *in vivo* [30].

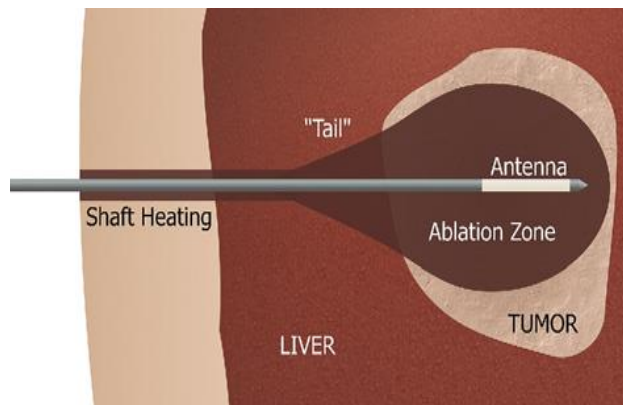


Figure 5 Schéma montrant l'échauffement thermique des organes sains adjacents au trajet d'insertion de l'antenne d'AMW nécessitent des systèmes de refroidissement [30].

nécrotiques reproductibles et prévisibles. Par comparaison à l'ARF, qui est la technique courante la plus adoptée dans le monde, l'AMW présente plusieurs avantages théoriques [36]. Cela est dû principalement au fait que ces deux techniques sont basées sur deux mécanismes d'échauffement différents.

Premièrement, l'AMW est capable d'assurer une zone d'ablation plus large [37], puisqu'elle est basée sur un échauffement radiatif qui est émis dans tout le volume entourant l'antenne micro-onde [30]. Au contraire l'ARF dans laquelle l'échauffement résistif résulte du passage du courant électrique à travers les ions, n'affecte que la région adjacente à l'électrode utilisée pour appliquer les radiofréquences [30].

Deuxièmement, l'AMW ne repose pas sur la conduction électrique. Cela la rend plus effective dans les tumeurs à faible conductivité électrique et les tissus carbonisés ayant une haute impédance [38], [39]. Elle est moins sensible à l'effet de la dissipation de chaleur dans



les vaisseaux sanguins traversant la tumeur [40]. Ceci produit une zone d'ablation plus uniforme de part et d'autre d'un vaisseau et permet de générer des températures supérieures à 100 °C. La température peut atteindre 170°C [30], [41] (Figure 5). L'AMW permet aussi une ablation locale sans diffusion de chaleur par conduction électrique aux organes sains adjacents à la tumeur [30] (Figure 6).

Troisièmement, l'échauffement en AMW étant local il est possible d'utiliser plusieurs antennes d'ablation simultanément [42]–[45]. Il a été montré que l'insertion de plusieurs antennes d'AMW dans la tumeur n'est pas affectée par l'interférence électrique observée dans l'ARF. Cela réduit le nombre et le temps de sessions de traitement nécessaires, ainsi que le taux de traitement incomplet des tumeurs volumineuses. Ajoutons que l'AMW ne nécessite pas la présence d'un plan de masse ou d'autres composants auxiliaires.

I.4.3. Effet athermique : effets potentiels sanitaires des signaux de télécommunications sans fils

Les signaux de télécommunications sans fils nuisent-ils à la santé ? A ce jour, on ne peut pas prouver que l'usage de ces signaux est dommageable pour la santé. Mais on ne peut pas davantage assurer qu'il est totalement inoffensif !

De nombreuses études ont été menées, sous l'égide de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [46], sur les effets thermiques et les effets athermiques des signaux de télécommunications. Les premiers sont désormais connus. Pour éviter ces effets thermiques lors de l'utilisation des signaux de télécommunications sans fils, des limites sur les niveaux d'expositions ont été définies par des comités scientifiques pour garantir l'absence d'échauffement significatif lié à ces ondes et protéger la santé humaine. Les plus connus sont celles de l'IEEE/ICES (Institute of Electrical and Electronic Engineers/International Committee on Electromagnetic Safety) et de l'ICNIRP (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection). Au sein de l'union européenne [47], la limite de DAS est fixée à 2 W/kg au niveau du tronc et de la tête (moyenne rapportée sur 10 grammes de tissu). Pour l'exposition de l'intégralité du corps humain, le seuil est de 0.08 W/kg dont la moyenne se rapporte à l'ensemble du corps.

Les recherches se focalisent donc sur les effets non thermiques. Plusieurs centaines d'études expérimentales ont été conduites. Le document de synthèse de l'OMS se contentant



de conclure qu'*aucune des recherches menées n'a permis de conclure qu'une exposition aux champs électromagnétiques des téléphones mobiles et de leurs stations de base pouvait avoir des effets néfastes sur la santé des humains*, au moins à court terme.

Cependant, malgré les propos rassurants de l'OMS, il reste quelques interrogations sur des éventuels effets athermiques des signaux de télécommunications sans fils sur la santé humaine restent au centre des recherches scientifiques.

I.4.4. Conclusion

Dans cette partie, nous avons présenté dans un premier temps d'une manière non exhaustive la description d'une cellule biologique et son équivalence du point de vue électrique. Après, nous nous sommes intéressés aux effets des ondes électromagnétiques sur le vivant. Nous avons vu que ces effets sont divisés en deux catégories : les effets thermiques et les effets athermiques. Nous avons mis l'accent sur une application thérapeutique puissante utilisant l'effet thermique des ondes électromagnétiques : l'hyperthermie ou l'ablation thermique des tumeurs cancéreuses. Cette application est basée principalement sur deux techniques d'ablation : l'ablation par des radiofréquences et l'ablation par des micro-ondes. Nous avons présenté le principe d'échauffement cellulaire de chacune. Nous avons vu que la technique d'AMW offre des avantages supplémentaires par rapport à l'ARF, dans le traitement des tumeurs cancéreuses. Ensuite, nous avons évoqué les inquiétudes vis-à-vis des effets potentiels sanitaires (effets athermiques) des signaux de télécommunications sans fils sur le vivant.

Dans la partie suivante, nous présenterons les effets athermiques des champs électriques pulsés sur les milieux biologiques. En effet, ces champs peuvent affecter non seulement la membrane plasmique de la cellule biologique mais aussi le milieu intracellulaire, et présentent des applications puissantes dans le domaine biomédical et la biotechnologie.



I.5. Interaction d'un champ électrique pulsé avec le vivant

Nous commençons par introduire les caractéristiques d'une impulsion électrique.

I.5.1. L'impulsion électrique

Une impulsion électrique est un signal de durée relativement courte et de forte amplitude qui varie dans le temps sans porteuse. Elle est caractérisée par les paramètres suivants (Figure 7) :

- La durée à mi-hauteur (T)
- L'amplitude maximale (U)
- La forme temporelle (rectangle, trapèze, bipolaire)
- Le temps de montée (t_m) et de descente (t_d), correspondant au temps de transition de l'amplitude de l'impulsion de 10 % à 90 % de l'amplitude maximale.

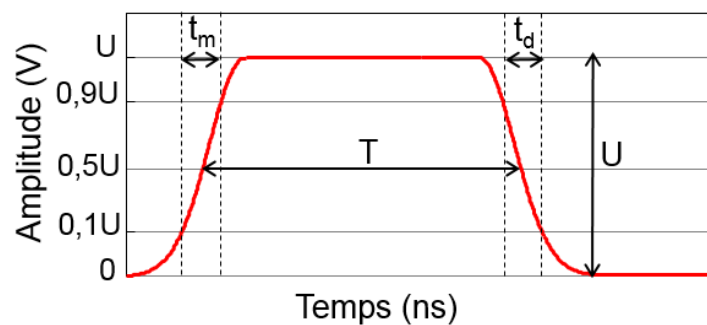


Figure 7 Caractéristique d'une impulsion électrique.

Dans le domaine fréquentiel, une impulsion électrique est caractérisée par un spectre de composantes fréquentielles. La largeur du spectre est inversement proportionnelle à la durée de l'impulsion. Cela indique que plus l'impulsion est courte plus son spectre fréquentiel est large (Figure 8). Pour une impulsion de durée T , la fréquence du premier minimum local du spectre, dit premier zéro, est donnée par $1/T$.

Les paramètres essentiels qui contrôlent l'interaction des cellules biologiques avec les impulsions électriques sont la durée de l'impulsion et son amplitude. La durée de l'impulsion est très importante vis-à-vis des cibles à exposer au niveau de la cellule. Elle est comparée au temps de charge de la membrane cellulaire. L'amplitude permet d'atteindre des niveaux de champs électriques responsables de la perturbation des structures cellulaires.



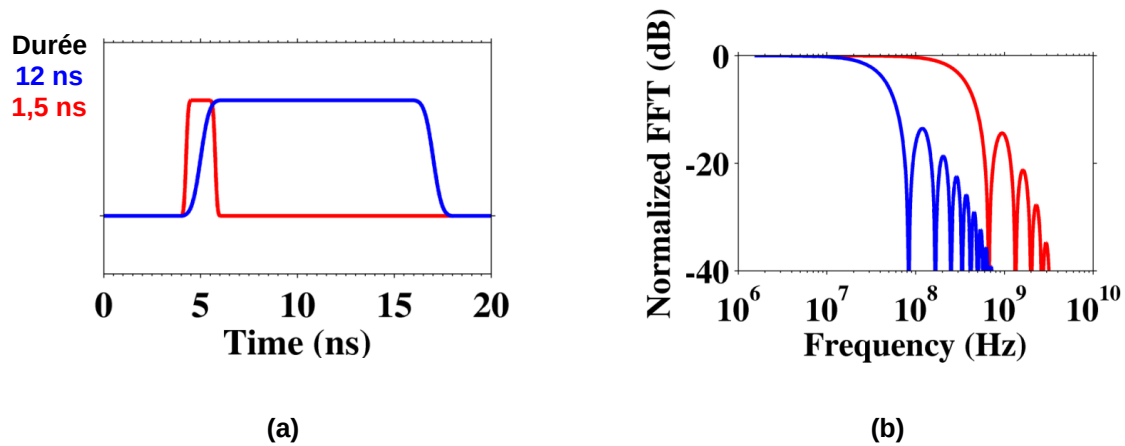


Figure 8 Deux impulsions électriques dans le domaine temporel (a) et leur spectre respectif (b).

Afin de minimiser les effets thermiques de sorte que seuls les effets électriques des impulsions soient importants, toute réduction de la durée de l'impulsion peut être compensée par une augmentation de l'intensité du champ électrique pour garder le même niveau d'énergie. Cela vient du fait que la densité d'énergie pour une impulsion appliquée est proportionnelle à la durée et à l'intensité de l'impulsion, d'après la formule suivante :

$$W = \frac{E^2 \times T}{\rho} \quad \text{exprimé en (J/m}^3\text{)} \quad \text{équation I-4}$$

avec E l'amplitude du champ électrique appliqué en V/m, T la durée de l'impulsion en s et ρ la résistivité du milieu biologique en $\Omega.m$.

Garner et al. [48] ont étudié la densité d'énergie pour deux impulsions ayant des durées et des intensités de champs électriques différentes. La première est une impulsion de durée 50 μs et d'intensité de champ égale à 1.1 kV/cm. La deuxième est une impulsion de durée 10 ns et d'intensité de champ égale à 78.5 kV/cm. La résistivité du milieu biologique utilisé dans les expérimentations est égale à 1.1 k $\Omega.cm$ (valeur typique de la résistivité d'un milieu biologique). D'après l'équation I-4, une densité d'énergie de 55 mJ/cm³ a été obtenue pour ces deux impulsions de durées et d'amplitudes différentes. Pour l'impulsion plus courte, une tension d'amplitude plus forte a été appliquée pour avoir le même niveau d'énergie de l'impulsion plus longue d'amplitude plus faible. Ce niveau d'énergie a été choisi afin de minimiser l'effet



thermique pour que seul l'effet électrique des impulsions soit important. Il a été montré que l'élévation de température obtenue pour cette énergie de 55 mJ/cm³ été de 0.013 °C.

I.5.2. Effets biologiques d'un champ électrique pulsé sur les cellules biologiques

L'exposition des cellules biologiques aux champs électriques suffisamment intenses en les plaçant par exemple entre deux conducteurs (électrodes) induit des changements non linéaires dans les membranes cellulaires.

Selon leur durée, les impulsions électriques peuvent être classées en trois catégories :

- **Impulsions longues (> à des centaines de ms, μ s) :** leur durée est plus longue que le temps de charge de la membrane plasmique.
- **Impulsions courtes (de 10 ns à 100 ns) :** leur durée est plus courte que le temps de charge de la membrane plasmique.
- **Impulsions ultra-courtes (sub-ns à 10 ns) :** leur durée est < 10 ns.

I.5.2.1 Effets biologiques des impulsions longues

I.5.2.1.1. Electroporation classique

Lorsqu'une impulsion longue d'amplitude de plusieurs centaines de V/cm à plusieurs kV/cm est appliquée, la membrane plasmique est la partie affectée de la cellule biologique.

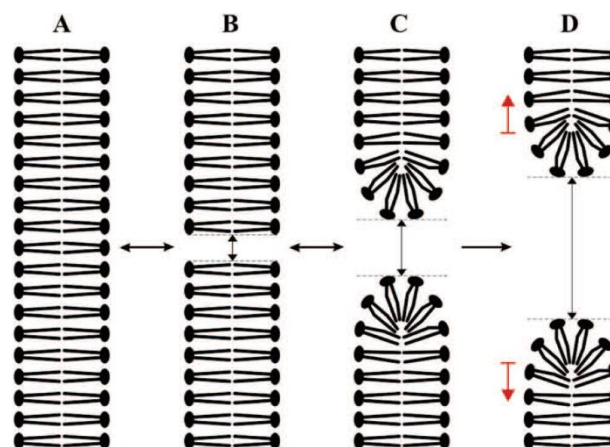


Figure 9 Phénomène de l'électroporation classique : bicouche phospholipidique sans pores (A), avec un pore hydrophobe (B), sa transition réversible dans un pore hydrophile métastable (C), et sa transition irréversible dans un pore hydrophile auto-expansible instable (D) (à des tensions de membrane au-dessus ~ 500 mV) [54].



En effet, un déplacement de charges s'effectue de part et d'autre de la membrane. L'accumulation de ces charges crée alors un potentiel qui vient se rajouter au potentiel de repos de la membrane cellulaire (potentiel transmembranaire) [49]–[51]. Lorsque ce potentiel dépasse un certain seuil (autour de 1 V), la force d'électro-compression qui s'exerce sur la membrane plasmique entraîne la formation de pores dans la membrane ce qui augmente sa perméabilité permettant le passage plus facile des molécules et ions [52], [53]. Ce phénomène est appelé électroporation classique ou électroperméabilisation [54]. Si l'exposition est suffisamment courte et le redressement de la membrane est suffisamment rapide pour maintenir la viabilité de la cellule, l'électroporation est appelée réversible ; sinon, elle est appelée irréversible (Figure 9).

I.5.2.1.2. Applications de l'électroporation classique

Depuis sa découverte [55]–[57], l'électroporation n'a cessé de gagner un grand intérêt grâce à ses applications [58] dans divers domaines de la médecine et la biotechnologie (Figure 10). Aujourd'hui, une électroporation réversible est une méthode établie pour introduire des médicaments chimiothérapeutiques dans des cellules tumorales (électrochimiothérapie) [59]. Elle offre également une grande promesse comme une technique de thérapie génique (électrotransfert d'ADN) [6]. En médecine clinique, l'électroporation irréversible est utilisée depuis une dizaine d'années pour l'ablation des tissus cancéreux cutanés et sous-cutanés (électroablation non thermique) [60], [61]. Dans la biotechnologie, elle est utile pour l'extraction des biomolécules [62] et pour la désactivation microbienne, en particulier dans la conservation des aliments (stérilisation d'aliments) [5].

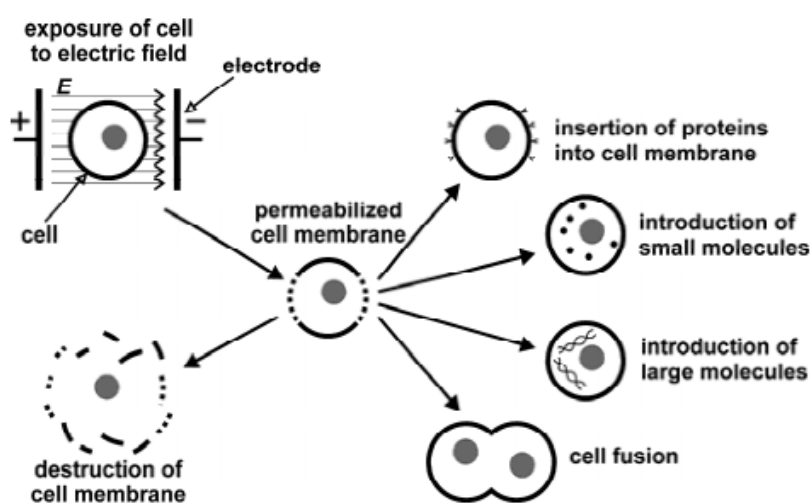


Figure 10 Applications de l'électroporation classique dans les domaines de la médecine et la biotechnologie [63].



I.5.2.2 Effets biologiques des impulsions plus courtes

Nanoporation

En réduisant la durée de l'impulsion de l'ordre de la microseconde à la nanoseconde et en augmentant son amplitude jusqu'au MV/m, la membrane plasmique n'ayant pas le temps suffisant pour se charger, le champ électrique pénètre à l'intérieur de la cellule et affecte les structures internes (membrane nucléaire...) de la même manière que la membrane plasmique [64]. Ce phénomène est appelé nanoporation.

En ce qui concerne les effets de ces impulsions courtes, une revue de la littérature scientifique montre qu'elles peuvent être classées en deux catégories, à savoir les effets primaires et secondaires.

Concernant les effets primaires, il a été mis en évidence :

- une perméabilisation de la membrane plasmique qui diffère de l'électroporation classique, notamment par les mécanismes mis en jeu et par la taille des pores [65], [66].
- une perméabilisation des membranes sous-cellulaire [64], [7].
- une externalisation immédiate de la phosphatidylserine [67], [68].

Les effets secondaires concernent par exemple l'augmentation du calcium intracellulaire et l'apoptose [69] (la mort programmée de la cellule) utilisés dans des opérations d'ablation cellulaire pour détruire des cellules sans l'utilisation de médicaments. Des premières études ont d'ores et déjà montré l'intérêt des impulsions nanosecondes dans les traitements anticancéreux (destruction des mélanomes [70], inhibition du développement des tumeurs [71]) mais également dans la décontamination de bactéries telles que l'*Escherichia Coli* [72].

Plus récemment, l'intérêt de la communauté scientifique s'est tournée vers l'étude des effets des champs électriques ultra-courts nanosecondes (nsPEF) et picosecondes avec une intensité de l'ordre de la dizaine de MV/m en raison de leurs applications puissantes possibles dans les manipulations intracellulaires. A présent, ce domaine de recherche n'est pas encore suffisamment exploré à cause du manque d'outils technologiques à la fois pour la stimulation cellulaire et pour l'imagerie de ces phénomènes à l'échelle subcellulaire.

I.5.3. Conclusion

Pour conclure cette partie, nous avons présenté les effets de l'application des impulsions électriques sur les cellules biologiques en fonction de leur durée et leur amplitude. Il a été montré par les recherches scientifiques que les impulsions de durée longue (ms, μ s) et d'amplitude moyenne (des centaines de V/cm à plusieurs kV/cm) conduisent à la formation des



pores dans la membrane plasmique, permettent ainsi le passage normalement interdit des molécules entre les milieux intracellulaire et extracellulaire. Ce phénomène est nommé « électroporation classique » et n'a cessé de gagner un grand intérêt grâce à ses applications dans divers domaines de la médecine et la biotechnologie. Les impulsions ultracourtes de durée nanoseconde (nsPEFs) sont capables de perméabiliser les structures intracellulaires. Ce phénomène est nommé « nanoporation » et occupe la priorité des travaux de la communauté scientifique en raison de ses applications puissantes possibles dans les manipulations intracellulaires.

Il est clair que les champs électriques peuvent induire plusieurs phénomènes sur les cellules biologiques. Un rôle important est joué aussi par le système d'exposition utilisé pour l'application des champs. Nous appelons « système d'exposition », l'ensemble des outils technologiques nécessaires pour exposer une cible biologique. Il doit être adapté à l'objectif spécifique de l'étude ou de l'application. Par conséquent, sa conception exige une caractérisation détaillée.

Dans ce qui suit, nous présenterons les différentes parties qui constituent les systèmes d'exposition utilisés dans le but d'évaluer les effets thérapeutiques et sanitaires possibles des ondes sur le vivant. Essentiellement, nous chercherons à montrer l'importance de développer des dispositifs spécifiques qui permettent de transmettre les champs électriques au milieu à exposer. Ces dispositifs, nommés « applicateurs », seront classés en trois catégories comme schématisé dans la [Figure 11](#) :

- les applicateurs pour l'ablation thermique micro-onde des tumeurs cancéreuses (effet thermique).
- les applicateurs pour l'étude des effets potentiels sanitaires des signaux de télécommunications sans fils (effet athermique).
- les applicateurs pour l'exposition des milieux biologiques aux nsPEFs (effet athermique).



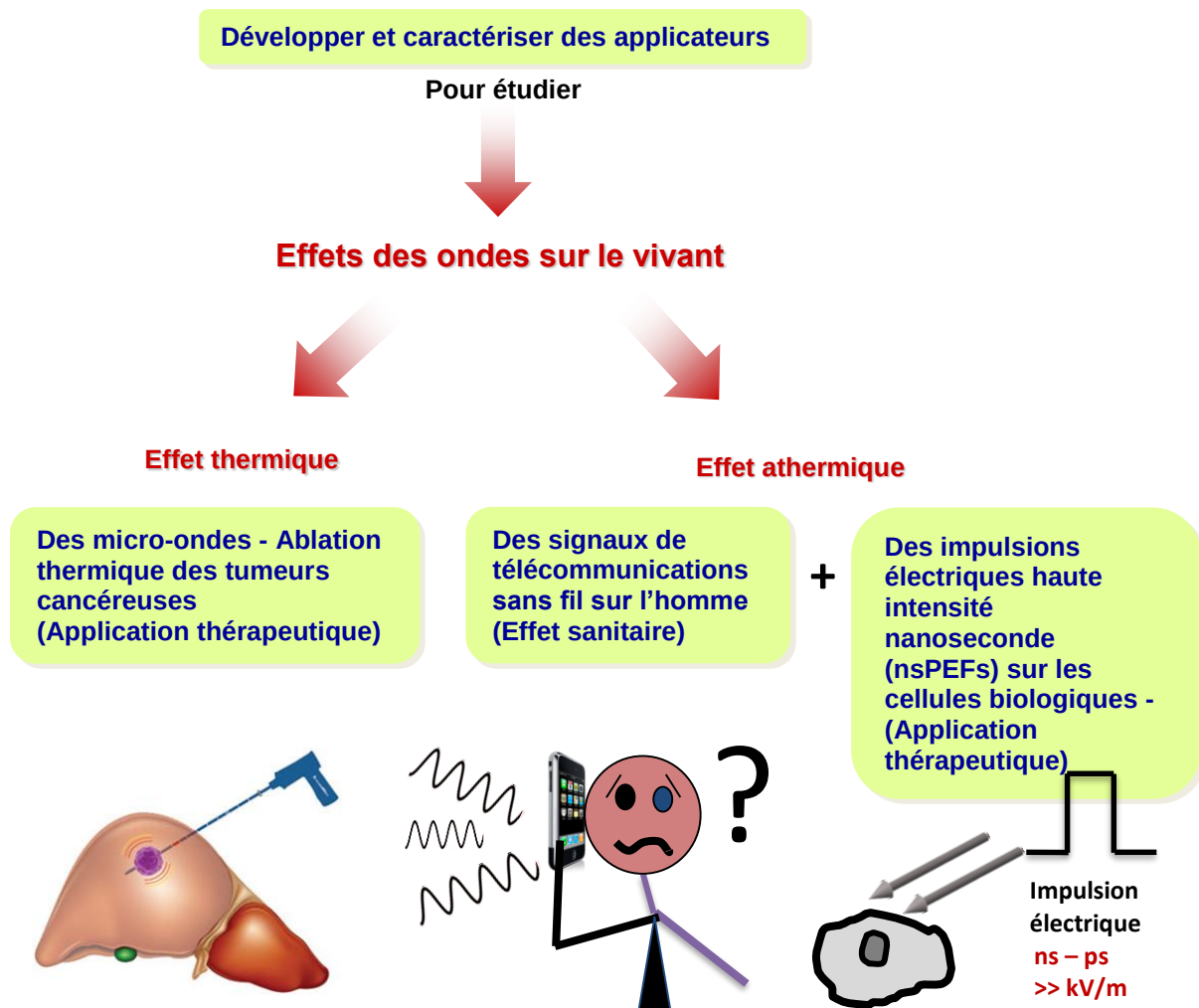


Figure 11 Objectif du travail de la thèse : Développement et caractérisation des applicateurs spécifiques pour étudier les effets potentiels sanitaires et thérapeutiques des ondes électromagnétiques sur le vivant.

I.6. Les systèmes d'exposition

Dans cette section, nous présenterons d'une manière successive les systèmes d'exposition typiques pour effectuer des ablations micro-ondes, pour étudier les effets sanitaires des signaux de télécommunications sans fils (ondes radiofréquences) et pour exposer les cellules biologiques aux nsPEFs.

I.6.1. Système d'ablation micro-onde

Un système d'ablation micro-onde est composé de trois éléments principaux : un générateur micro-onde, un système de distribution de puissance et une ou plusieurs antennes micro-ondes (applicateur) [3] (Figure 12).

Les générateurs micro-ondes utilisent typiquement deux générateurs basiques de puissances : des magnétrons ou des amplificateurs à état solide [3]. Ces générateurs de différentes topologies possèdent des performances caractéristiques différentes (puissance de sortie, efficacité...), mais produisent tous les deux l'énergie EM nécessaire pour l'ablation micro-onde. Cette énergie sera transmise du générateur à la tumeur cible par un système de distribution de puissance. Les fréquences des générateurs micro-ondes sont généralement 915 MHz ou 2.45 GHz [30].

La distribution d'énergie EM provenant du générateur à l'antenne est le plus souvent effectuée par l'intermédiaire d'une ligne de transmission coaxiale. Les câbles coaxiaux ont d'excellentes caractéristiques de propagation, des dimensions réduites et une bonne flexibilité. Les dimensions et la flexibilité du câble sont cependant limitées par un compromis entre sa capacité à transmettre une puissance élevée et l'échauffement du câble lui-même. En effet, plus le diamètre du câble diminue, plus la perte de puissance augmente. Par conséquent, il y a une limite au diamètre minimal du câble pour éviter tout échauffement dangereux.

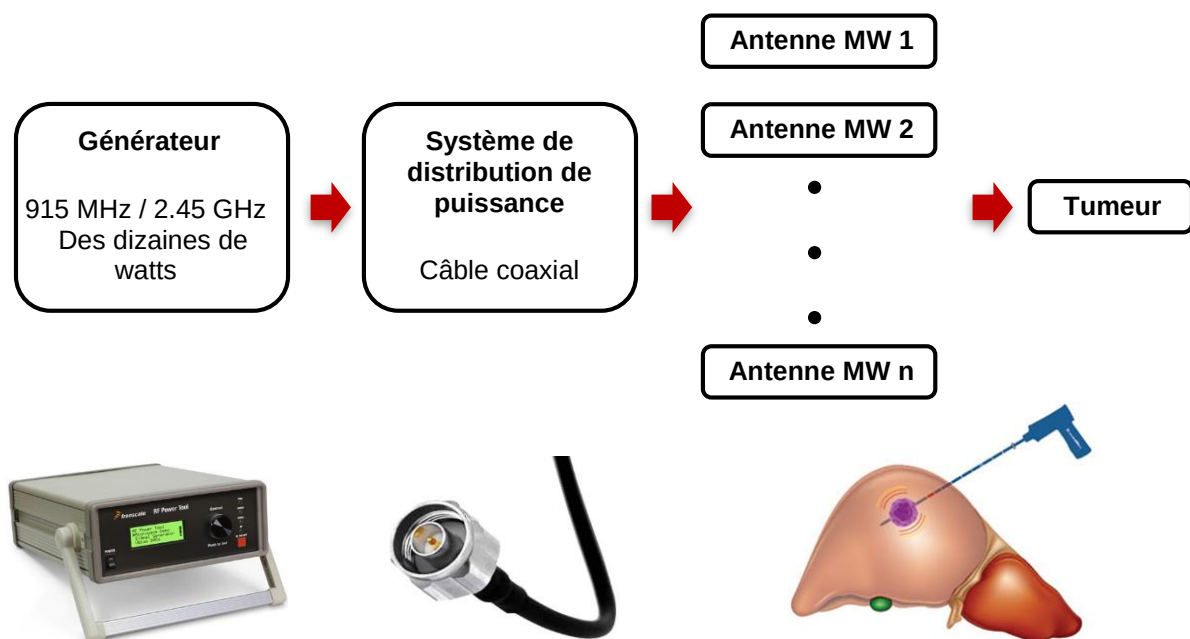


Figure 12 Système d'ablation micro-onde composée principalement d'un générateur micro-onde, d'un système de distribution de puissance et d'une ou plusieurs antennes micro-onde [3].



Les antennes micro-ondes sont la partie finale et la plus critique du système d'ablation [14]. Les antennes développées possèdent des dimensions et des géométries différentes qui déterminent la forme de la zone d'échauffement de l'antenne (zone de rayonnement) et son efficacité en puissance. Comme les antennes sont généralement basées sur des structures coaxiales, les antennes de petit diamètre peuvent avoir des difficultés à gérer des niveaux de puissance élevés sans un endommagement thermique indésirable dans les tissus adjacents au trajet d'insertion de l'antenne.

Pour augmenter la puissance transmise dans une antenne de faible diamètre, réduire son échauffement, éliminer l'ablation non ciblée le long de son axe et éviter la brûlure de la peau (Figure 6), des systèmes de refroidissement sont nécessaires [73], [74]. La circulation d'une solution saline réfrigérée est actuellement la méthode la plus utilisée pour refroidir l'axe de l'antenne, permettant ainsi la transmission des puissances plus élevées pour une durée plus longue [73]. Une deuxième méthode couramment utilisée consiste à faire circuler le dioxyde de carbone comprimé le long des câbles coaxiaux et de l'antenne [74]. Cette méthode permet une capacité de refroidissement plus élevée. Ceci entraîne la possibilité d'utiliser des générateurs de puissances plus fortes, des diamètres plus petits de l'antenne et permet une réduction des temps d'ablation et une approche moins invasive.

Dans notre travail nous allons nous concentrer sur la partie antenne du système d'AMW. Un bilan des différentes structures conçues dans la littérature sera ainsi présenté ci-après.

I.6.1.1 Antennes d'ablation micro-onde

Plusieurs modèles d'antennes ont été proposés pour l'AMW des tumeurs cancéreuses [14]. Ces antennes ont été insérées dans les tumeurs par voie percutanée ou à travers une opération chirurgicale. Leurs conceptions ont été basées en majorité sur les structures d'antennes monopolaires, dipolaires ou antennes à fentes [26], [75]–[80] (Figure 13). Deux types d'antennes ont été cependant utilisées pour l'ablation par voie endoscopique [81], [82]. Chaque conception de l'antenne doit satisfaire certaines exigences de base : l'antenne doit être minimalement invasive, très efficace en transfert d'énergie et capable de rayonner en profondeur dans le tissu pour créer de grandes zones d'échauffement actif. Deux paramètres introduits précédemment sont souvent utilisés pour décrire les performances d'une antenne : le coefficient de réflexion S_{11} et le DAS. Les antennes d'AMW développées à ce jour possèdent des diamètres compris entre 1.2 et 5.7 mm. Elles utilisent des puissances allant de 20 à 200 W



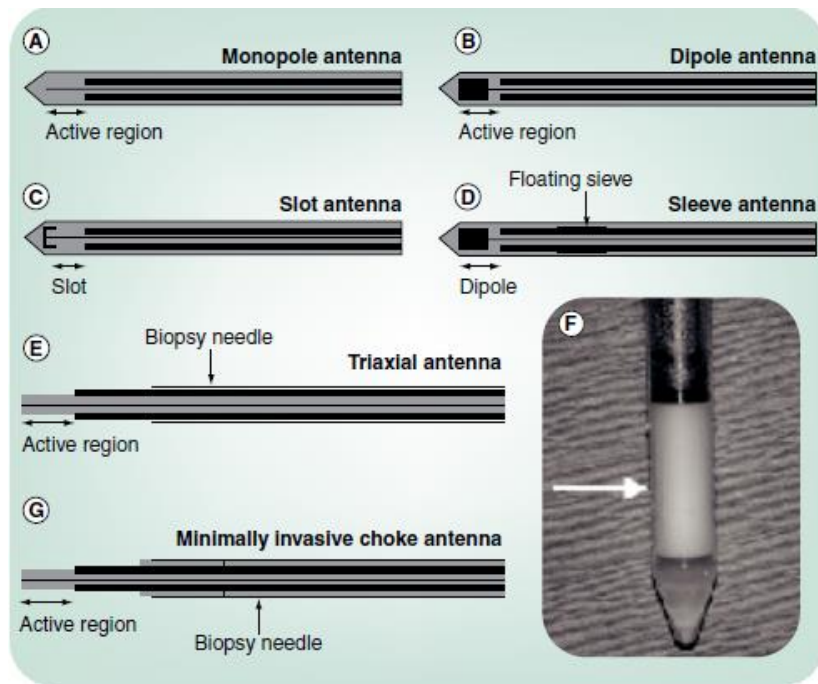


Figure 13 Différentes géométries des antennes d'ablation micro-onde [26], [80].

pendant environ 1 à 12 min pour produire des zones d'ablations ayant des largeurs de 1.5 à 6 cm [26].

Plusieurs types d'antennes coaxiales, non endoscopiques et endoscopiques, seront introduits par la suite :

- à fentes
- monopolaire
- à bobine d'arrêt (choked sleeve antenna)

I.6.1.1.1. Antennes d'ablation par voie percutanée (non endoscopique)

Antenne coaxiale à fentes

Le modèle d'antenne à fente a été largement utilisé dans les expérimentation d'AMW des tissus cancéreux de foie de bœuf *ex vivo* et de porc *in vivo* [83]–[86].

La Figure 14 montre les structures des deux antennes coaxiales à une fente et à double fentes, étudiées par Karampatzakis et al. [83] pour l'AMW des tissus cancéreux du foie à 2.45 GHz par voie percutanée. Ces antennes sont basées sur un câble coaxial semi-rigide ayant un diamètre externe de 1.3 mm. Les conducteurs intérieur et extérieur sont court-circuités au bout



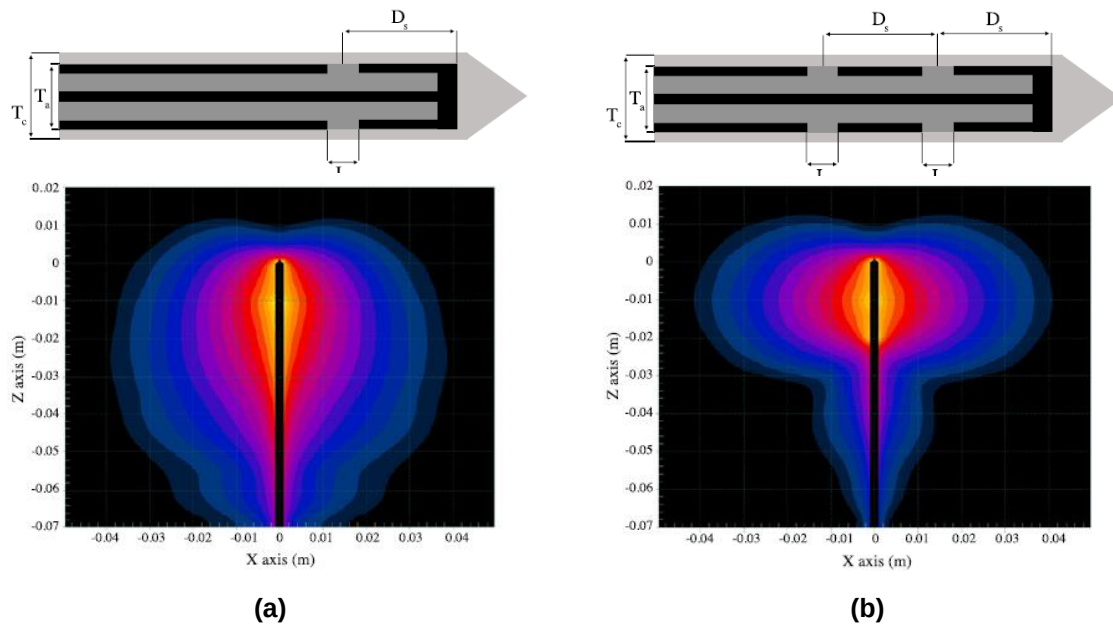


Figure 14 Schémas et distributions du DAS à 2.45 GHz obtenus par simulation numérique pour l'antenne à une fente (a) et l'antenne à double fentes (b) plongeant dans un tissu de foie du porc cancéreux [83].

de l'antenne. La fente est formée en retirant une partie en forme d'anneau d'environ 1 mm de largeur du conducteur externe du câble coaxial. La fente est placée près de l'extrémité de l'antenne puisque le champ électrique est plus fort près de la fente ce qui permet d'obtenir un échauffement efficace et très important autour de la pointe de l'antenne [87]. Dans le cas de l'antenne à double fentes, la distance entre les deux fentes est égale au quart de la longueur d'onde ($0.25 \times \lambda$) dans le tissu à la fréquence de 2.45 GHz. Cette longueur inter-fentes est choisie pour obtenir une distribution de puissance localisée près de l'extrémité de l'antenne. Lorsque ces antennes sont utilisées, elles sont insérées dans un cathéter en polytétrafluoroéthylène (PTFE) pour empêcher l'adhérence des tissus coagulés, faciliter le guidage et pour la sécurité médicale. Cela augmente le diamètre externe de l'antenne jusqu'à 1.8 mm.

Les résultats de simulation numérique ont montré que pour les deux structures la distribution du DAS pour 1 W incident est allongée le long de l'axe de l'antenne (Figure 14). Cependant, il est clair que l'ajout d'une seconde fente, localise la distribution du DAS près de la pointe et diminue l'échauffement arrière le long de l'axe de l'antenne. La présence de la deuxième fente joue le rôle d'une bobine d'arrêt quart-d'onde avec l'avantage de ne pas augmenter le diamètre externe de l'antenne.



Antenne coaxiale monopolaire

Un autre type d'antenne qui a été largement utilisé dans l'ablation est l'antenne monopolaire qui peut être facilement construite à partir de câble coaxial fin, semi-rigide. La structure de l'antenne monopolaire se caractérise par un conducteur intérieur allongé qui est radialement entouré d'un matériau diélectrique ouvert au bout (Figure 15a).

Brace et al. ont développé une antenne d'AMW basée sur la structure monopolaire (Figure 15) [88]. Un câble coaxial de diamètre 1.26 mm a été utilisé et inséré dans une aiguille de biopsie de diamètre 1.5 mm (17 gauge). L'aiguille a été placée pour créer une source secondaire de résonance ce qui réduit encore plus le coefficient de réflexion de l'antenne et l'échauffement arrière. Cette structure a été nommée structure monopolaire triaxiale en raison des trois axes correspondant à l'aiguille et aux conducteurs interne et externe du câble coaxial. Cette antenne a été optimisée pour opérer à 2.45 GHz dans un foie de porc *in vivo*. Les résultats obtenus ont montré la capacité de cette antenne à transmettre l'énergie micro-onde au tissu, et à fournir une zone d'ablation circulaire (Figure 15b).

Plus de détails sur la conception et la caractérisation EM seront présentés dans le chapitre 2, puisque nous nous sommes basés sur cette structure pour développer notre antenne monopolaire triaxiale spécifique pour l'AMW par voie endoscopique.

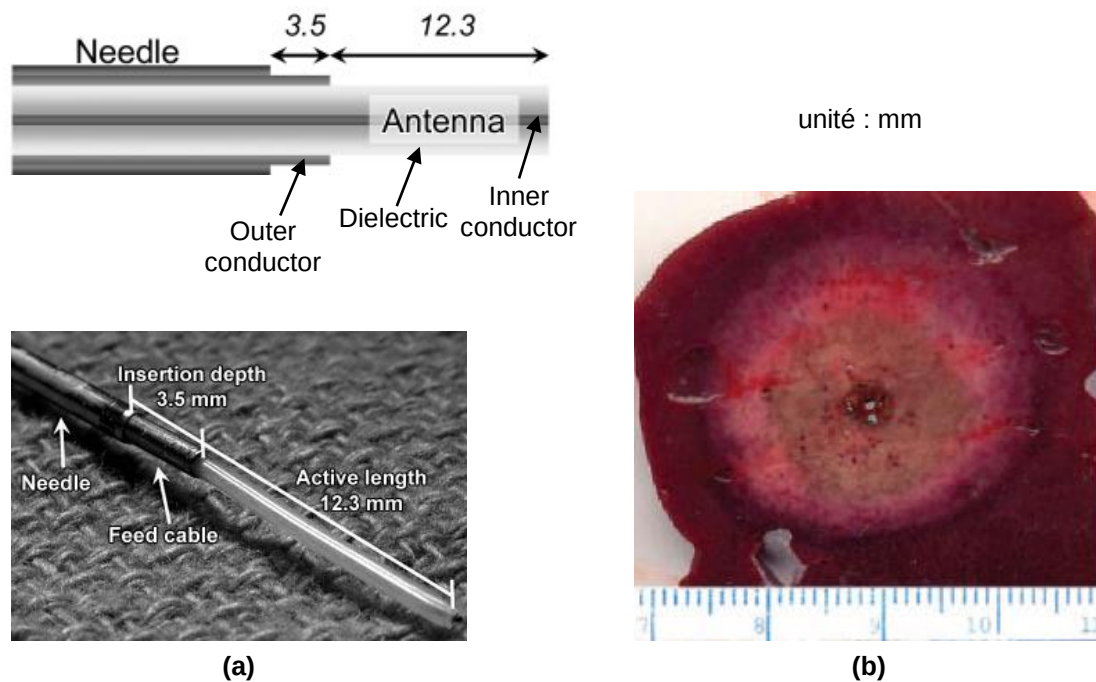


Figure 15 Schéma et photo de l'antenne monopolaire triaxiale (a) et photo de la zone d'ablation obtenue dans un foie porcine *in vivo* (b) [88].

Antenne coaxiale à bobine d'arrêt (Choked sleeve antenna)

Des études ont montré qu'une solution pratique et efficace au problème de l'échauffement arrière qui affecte les antennes est d'ajouter une mince bobine métallique, habituellement de longueur $((n + 1) \lambda/4)$, autour du conducteur externe de l'antenne. Ceci bloque le flux de courant axial et localise le dépôt de puissance près de la partie active de l'antenne (Figure 16 et Figure 17). Cette bobine est nommée bobine d'arrêt, puisqu'elle arrête la réflexion de l'énergie vers l'arrière.

Plusieurs antennes à bobine d'arrêt ont été présentées dans la littérature [75], [77], [89], [90]. Longo et al. [89] ont développés une antenne coaxiale, peu invasive avec une bobine d'arrêt miniaturisée de conception simple adaptée pour rayonner à 2.45 GHz (Figure 16). Sa caractéristique la plus originale est que l'aiguille de biopsie utilisée pour introduire l'antenne dans la lésion à ablater sert également comme paroi métallique latérale de la bobine. L'antenne a été fabriquée avec un câble coaxial semi-rigide de diamètre externe 1.2 mm, inséré dans une aiguille de biopsie de 14 gauge (diamètre intérieur : 1.78 mm, diamètre extérieur : 2.05 mm).

Un autre modèle d'antenne à bobine basée sur une antenne à double fentes a été évalué par pour travailler à 2.45 GHz [75] (Figure 17). Une bobine métallique de diamètre externe 1.5 mm et de longueur (λ) , a été enroulée autour du câble coaxiale de diamètre 1.1 mm à une distance de $(0.25 \times \lambda)$ de la seconde fente.

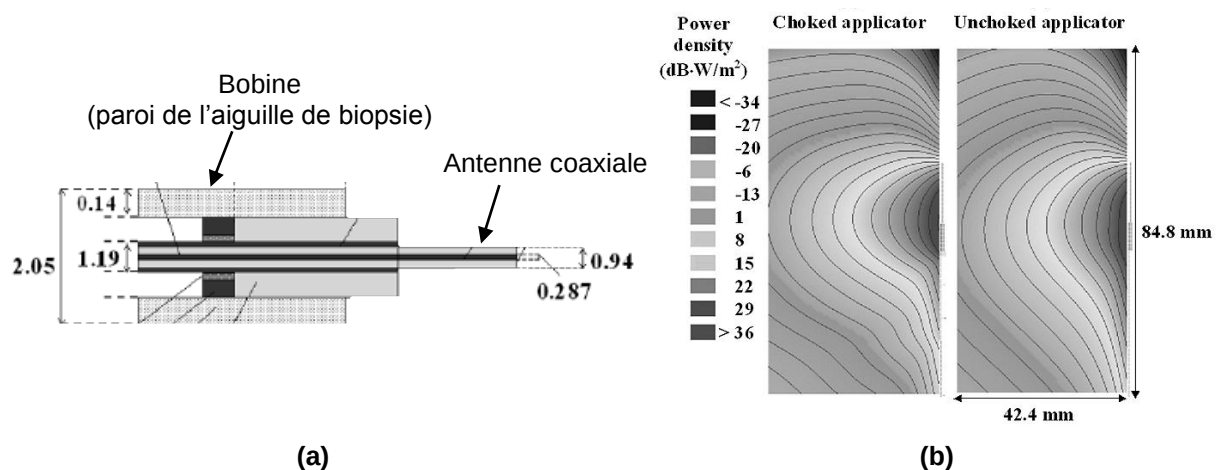


Figure 16 Schéma de l'antenne a bobine basée sur une structure coaxiale (a) et la comparaison de la distribution du DAS de l'antenne coaxiale avec et sans la bobine (b) [89].

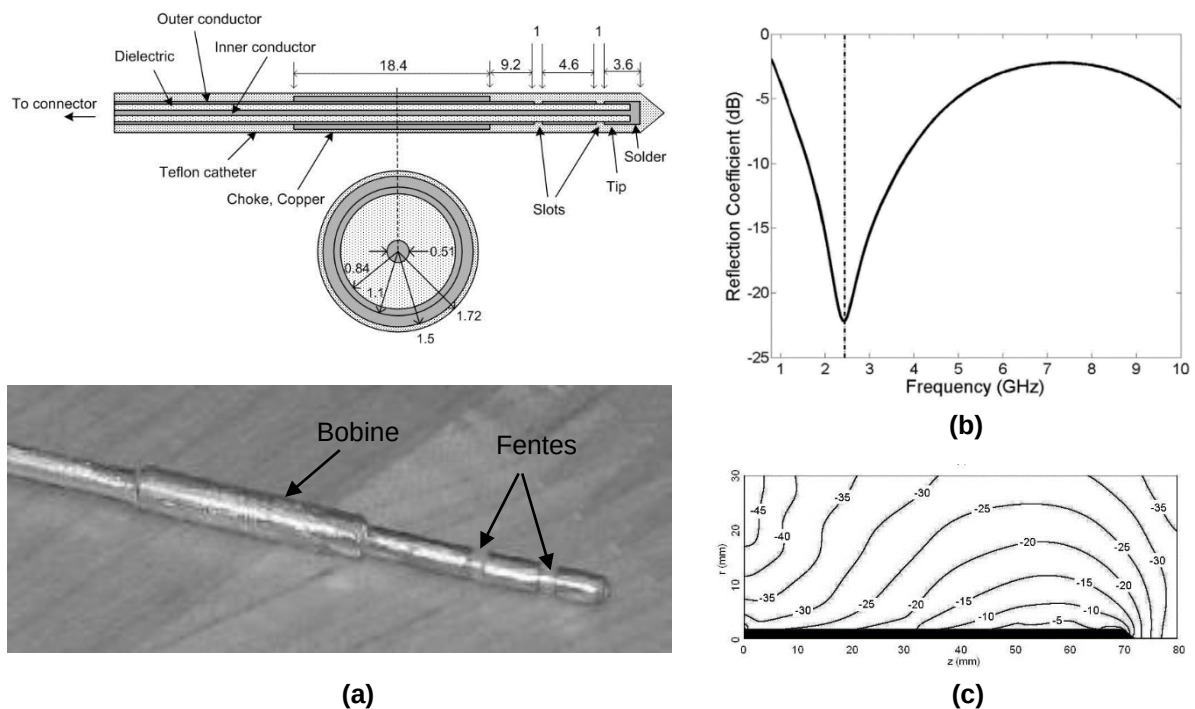


Figure 17 Schéma et photo de l'antenne à bobine basée sur une structure coaxiale à double fentes (a), coefficient de réflexion mesuré à son entrée (b) et distribution du DAS (dB) obtenue numériquement (c) [75].

Par comparaison aux antennes sans bobine, les résultats (Figure 16b et Figure 17c) ont montré que ces antennes à bobine sont capables de donner des DAS très localisés au bout de l'antenne et qui sont moins dépendants de la profondeur d'insertion de l'antenne dans la tumeur. L'inconvénient principal de ces antennes est qu'elles sont généralement plus invasives que les antennes sans bobines en raison de leur diamètre augmenté par l'ajout de ces dernières.

I.6.1.1.2. Antenne d'ablation par voie endoscopique

Saito et al. [82] ont proposé une antenne spécifique pour le traitement du cancer des canaux biliaires par voie endoscopique (Figure 18). L'antenne a été basée sur la structure d'une antenne à fente (Figure 18b) [91]. Elle a été fabriquée d'un câble coaxial flexible ayant un diamètre externe de 1.6 mm. Ce câble fin peut être inséré dans un endoscope de diamètre 2.4 mm puis conduit vers le canal biliaire à travers l'œsophage, comme montre le schéma de la Figure 18a. Schéma de l'antenne à bobine basée sur une structure coaxiale (a) et la comparaison de la distribution du DAS de l'antenne coaxiale avec et sans la bobine (b) [89].

Les auteurs avaient étudié les performances de l'antenne à 2.45 GHz en utilisant un fantôme de tissu équivalent à un tissu de foie de porc. Une sonde thermique à fibre optique a été placée à proximité de la fente de l'antenne pour mesurer l'élévation de température dans le



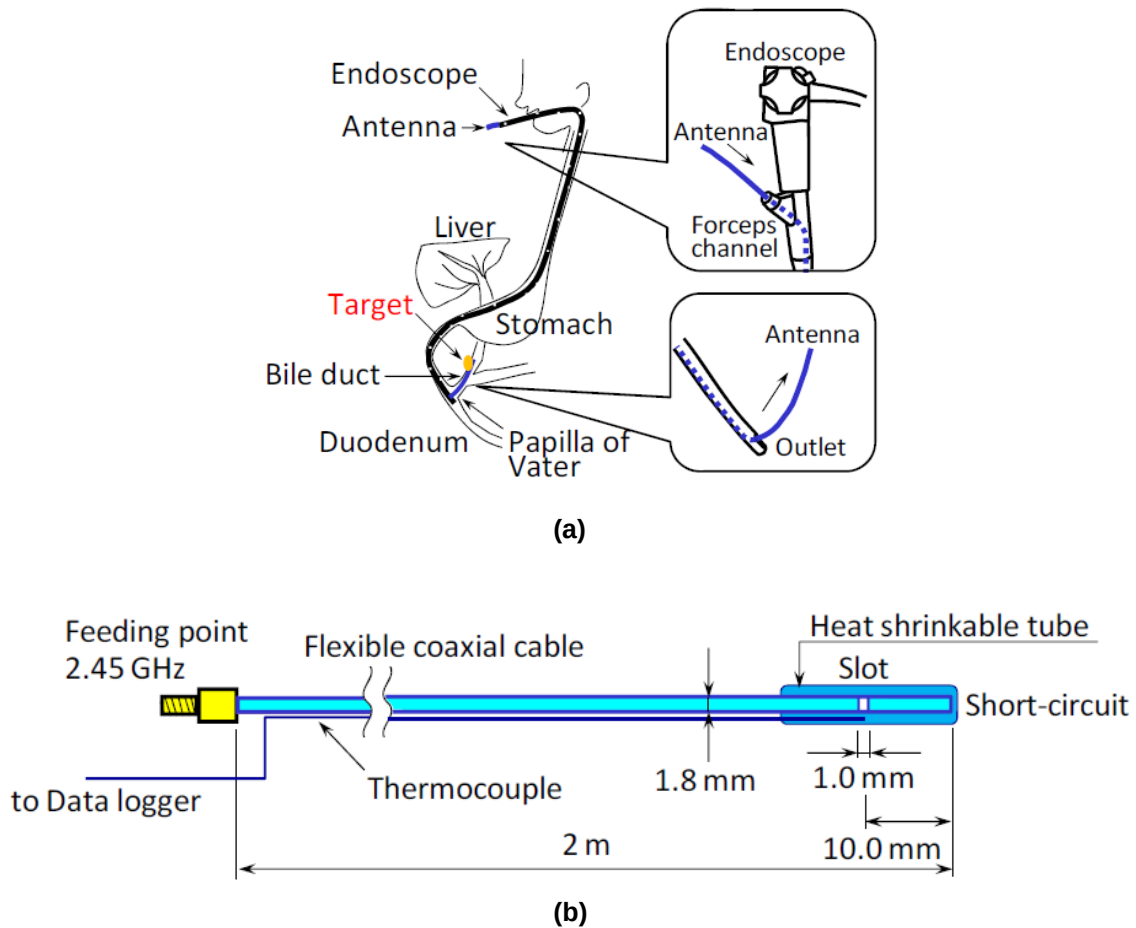


Figure 18 Schéma d'insertion de l'antenne par voie endoscopique pour l'AMW du cancer dans les canaux biliaires (a) et structure basique de l'antenne à fente utilisée (b) [82].

canal exposé. Les expérimentations ont montré que cette antenne est capable de produire une élévation de température de 10°C à une distance de 4.8 mm de la fente de l'antenne pour une puissance incidente de 5.4 W.

Les mêmes auteurs ont développé par la suite une autre antenne endoscopique basée sur une structure d'antenne monopolaire (Figure 19a) [81]. Le même type de câble coaxial que précédemment a été utilisé pour fabriquer cette antenne. Une prothèse biliaire a été insérée dans le canal biliaire autour de l'antenne sans aucun contact entre elles. Le DAS a été évalué numériquement pour deux types de prothèse biliaire (Figure 19b). La première est une prothèse métallique conventionnelle. La deuxième prothèse proposée est une prothèse métallique comportant cinq anneaux en plastique. Le résultat de la distribution du DAS (Figure 19c) a montré que la prothèse proposée permet de coupler l'énergie micro-onde le long de son axe tandis qu'avec la prothèse conventionnelle l'énergie est déposée au bout de l'antenne seulement.



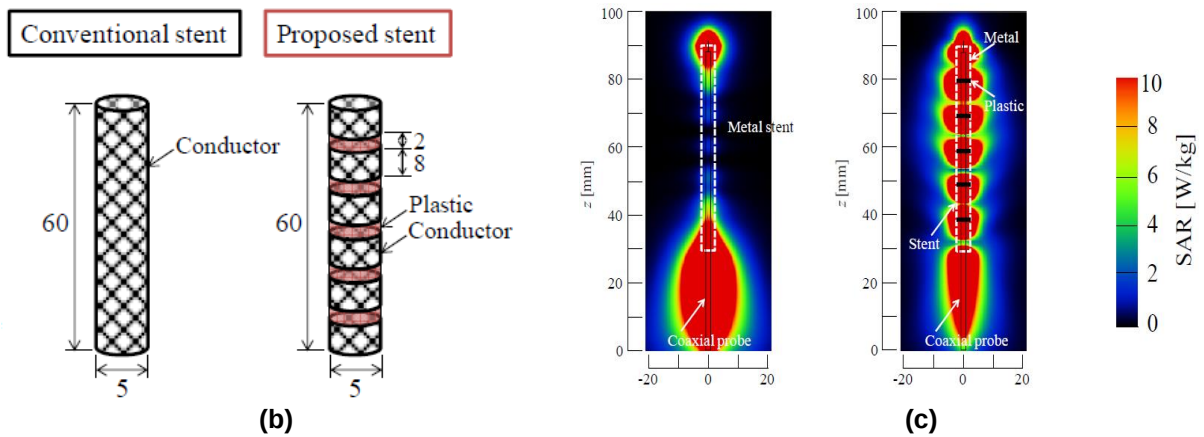
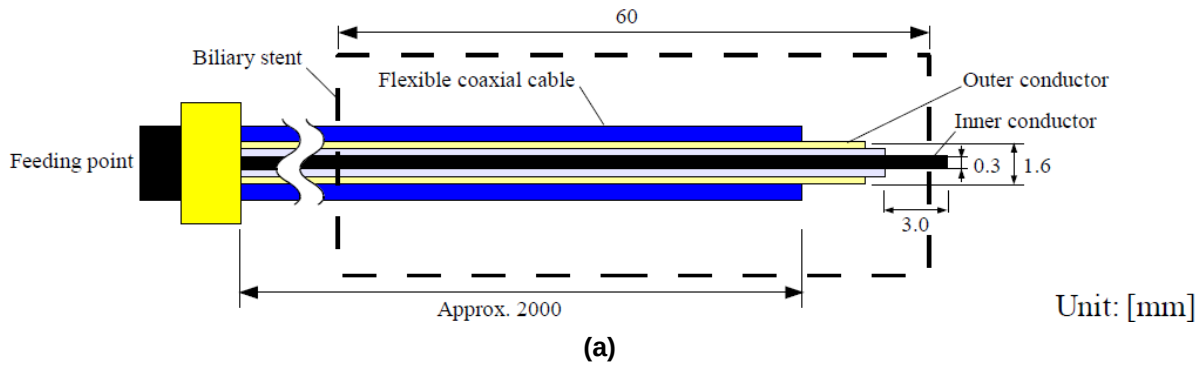


Figure 19 Structure de l'antenne monopolaire utilisée pour l'AMW par voie endoscopique du cancer des canaux biliaires (a). Types de prothèses utilisés (b) et distribution du DAS pour chaque prothèse (c) [81].

I.6.1.2 Conclusion

Pour conclure cette partie, nous avons dans un premier temps présenté les deux différentes parties qui constituent un système d'ablation micro-onde. Ensuite, nous nous sommes focalisés sur la partie antenne du système d'AMW. Nous avons présenté un bilan des différentes structures d'antennes existantes sous deux catégories : les antennes d'AMW par voie non endoscopique (voie percutanée) et les antennes d'AMW par voie endoscopique. Cela nous a permis de constater un manque dans la conception dans antennes spécifiques pour l'AMW par voie endoscopique.

Dans le cadre de l'étude présentée dans cette partie, la finalité de notre travail sera donc le développement et la caractérisation électromagnétique d'une antenne spécifique pour l'AMW par voie endoscopique. Son originalité réside en ses dimensions miniaturisées et la possibilité de l'insérer directement dans la tumeur par une aiguille de biopsie sans opération chirurgicale. Ce système sera présenté en détails dans le chapitre I.

Après avoir présenté le système d'AMW, les systèmes d'exposition radiofréquences spécifiques pour l'étude des effets sanitaires des signaux de télécommunications sans fils seront décrits en détails dans la partie suivante. Ce travail étant situé à l'interface entre l'électromagnétisme et les expérimentations avec les biologistes, une partie sur les exigences de chacun sera abordée par la suite.

I.6.2. Système d'exposition aux radiofréquences

Un montage expérimental spécifique pour l'exposition des milieux biologiques aux signaux de télécommunications radiofréquences est constitué principalement de deux grandes parties : le générateur RF et le système d'exposition qui contient le milieu biologique (applicateur) (Figure 20).

Le développement des systèmes d'exposition pour des expérimentations biologiques dans le domaine des RF peut être représenté par une séquence d'étapes, selon l'approche proposée par [92]. Allant des protocoles et des exigences des biologistes sur les paramètres d'exposition, la structure EM basique la plus appropriée est choisie et conçue sur des bases théoriques. En général, le système basique doit être modifié afin de répondre aux exigences biologiques et EM. Ainsi, un processus d'adaptation et d'optimisation du système a lieu en utilisant des outils numériques. Pour connaître le niveau du champ EM induit dans le milieu biologique (culture cellulaire ou animal), la dosimétrie numérique est effectuée. Comme dernière étape, après la fabrication du système, les résultats numériques doivent être validés expérimentalement [93], [94].

Les exigences biologiques représentent un point critique et vital pour la conception d'un système d'exposition, car elles pourraient être les plus limitatives, en particulier lorsqu'un équipement et des procédures de protocole particulières sont nécessaires. En raison de la grande variété de cibles et des protocoles biologiques, un certain nombre de systèmes d'exposition différents ont été utilisés dans les expérimentations, à la fois *in vivo* et *in vitro*.

Dans ce qui suit, nous allons présenter dans un premier temps les différentes conditions EM et biologiques que doit satisfaire un système d'exposition.



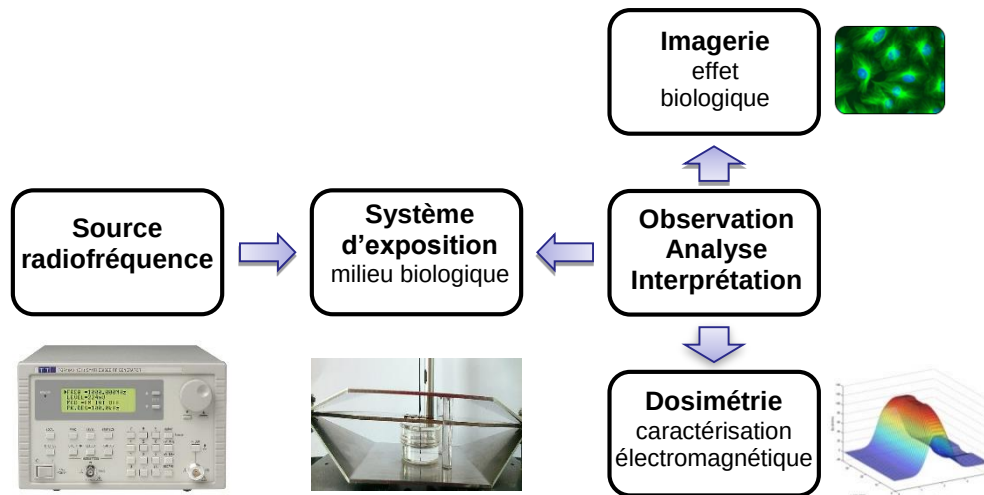


Figure 20 Schéma général d'un montage expérimental d'exposition RF.

I.6.2.1 Exigences fondamentales pour les systèmes d'exposition RF

Plusieurs auteurs ont énuméré les exigences primordiales à considérer lors du développement des systèmes d'exposition [95]–[98]. Ces exigences peuvent être classées dans une liste divisées en trois catégories : « exigences électromagnétiques », « exigences biologiques » et « autres exigences ». Cette liste peut servir comme étant une vérification pour les paramètres essentiels qui doivent être pris en compte dans l'évaluation d'une configuration particulière. Cependant, une telle liste est de nature qualitative et reste assez générale.

I.6.2.1.1. Exigences électromagnétiques

La problématique principale d'un système d'exposition réside en sa capacité à transmettre l'onde EM du générateur au milieu biologique d'une manière la plus fidèle possible sans pertes considérables. Pour assurer cette bonne transmission entre les deux parties du montage expérimental, plusieurs critères doivent être satisfaits lors de la conception du système d'exposition [93]. En voici quelques exemples :

- **Adaptation d'impédance** : Le système d'exposition doit être adapté en impédance au générateur RF et aux connectiques qui les relient (câbles de transmissions, connecteurs...). Cela signifie que le système doit avoir une impédance égale à l'impédance caractéristique typique des instruments RF (50Ω). En cas de désadaptation, l'énergie incidente n'est pas appliquée en totalité au milieu biologique ; une partie de cette énergie sera réfléchiée à l'entrée du système d'exposition ce qui peut entraîner en plus l'endommagement du générateur.



- Suivis des paramètres d'exposition : pour s'assurer du bon fonctionnement du système d'exposition et de sa stabilité, il faut que les différents paramètres d'exposition (puissances incidente et réfléchie, élévation de température, champ électrique et autres) soient suivis en temps réel le long du temps d'exposition. Des instruments et des sondes de mesure doivent être alors mis en place avec la possibilité de les contrôler facilement (en général par un ordinateur).
- Distribution homogène du champ électrique : le système d'exposition doit assurer une distribution homogène du champ, ou au moins la déviation de l'homogénéité doit être aussi faible que possible et pas plus grande que les variations de la réponse biologique.
- Sécurité humaine : le système d'exposition doit respecter les normes de puissance recommandées pour garantir la sécurité du personnel qui le manipule.

I.6.2.1.2. Exigences biologiques

Les exigences et les contraintes les plus limitant dans les systèmes d'exposition sont souvent celles imposées par le minimum d'exigences du protocole de l'expérimentation biologique elle-même [93]. Ces exigences peuvent être résumées par les points suivants :

- Environnement biologique : toutes les conditions environnementales spécifiques pour l'expérience biologique doivent être strictement respectées pour garantir la viabilité du milieu exposé. Celles-ci incluent habituellement la stérilité, la température stabilisée, des niveaux de stress bas, le contrôle de la pression atmosphérique, la concentration en dioxyde de carbone, etc. Cela exige par exemple, dans certains cas, que le système d'exposition soit placé dans un incubateur. L'incubateur à son tour doit permettre l'accès facile à l'échantillon ainsi que le passage des câbles de transmission.
- Nature de la cible : la nature (milieu cellulaire, animal entier, organe...) et les dimensions de la cible biologique ainsi que le type du récipient qui la contient affecte directement la géométrie du système. Par exemple, les milieux cellulaires sont exposés habituellement dans des boîtes de Petri, des cuvettes ou des flasques. Le système doit être alors adapté aux différentes formes de ces récipients.
- Accès au microscope : l'observation microscopique en temps réel de l'échantillon durant son exposition étant nécessaire pour suivre et interpréter les effets biologiques induits par le champ EM, le système d'exposition doit être conçu de façon qu'il soit adapté à la platine et à l'objectif du microscope.



- Nombre suffisant d'échantillons biologiques exposés : le système développé doit permettre une exposition d'un nombre suffisant d'échantillons biologiques ou d'animaux afin d'atteindre le résultat requis statistiquement significatif dans un délai raisonnable.

I.6.2.1.3. Autres exigences

Avec ces exigences électromagnétiques et biologiques, d'autres caractéristiques du système d'exposition semblent nécessaires. En voici deux exemples :

- Manipulation facile : Un système d'exposition doit être adapté aux personnes qui l'utilisent. Des programmes informatiques utilisables par tous doivent être ajoutés pour faciliter le pilotage des paramètres physiques et biologiques importantes.
- Coût raisonnable : Le coût du système doit être raisonnable. Le choix des matériaux joue un rôle essentiel dans le coût global d'un système d'exposition.

Dans ce qui suit, les systèmes d'exposition existants seront classés en plusieurs catégories en se basant sur le type de la cible biologique et la nature de l'analyse pour lequel le système a été conçu.

I.6.3. Classification des systèmes d'exposition RF

Les systèmes d'exposition développés pour l'évaluation des effets sanitaires des ondes EM sur le vivant, sont divisés en deux catégories principales : les systèmes d'exposition *in vivo* et *in vitro* [100]. Cette classification est liée au type de la cible exposée (Figure 21).

Dans les systèmes *in vivo*, les mesures sont effectuées sur des organismes vivants dans leur totale complexité (Figure 21a). Deux types d'expositions sont envisagées : « exposition localisée » (tête seule par exemple) et « exposition corps entier » (rat par exemple).

Dans les systèmes *in vitro*, les études utilisent des suspensions cellulaires (cellules biologiques dans leur milieu de culture) ou des cellules adhérentes (Figure 21b).

Dans ce qui suit, nous allons se focaliser sur les systèmes d'exposition *in vitro*. Premièrement, un bilan des systèmes *in vitro* sera présenté.



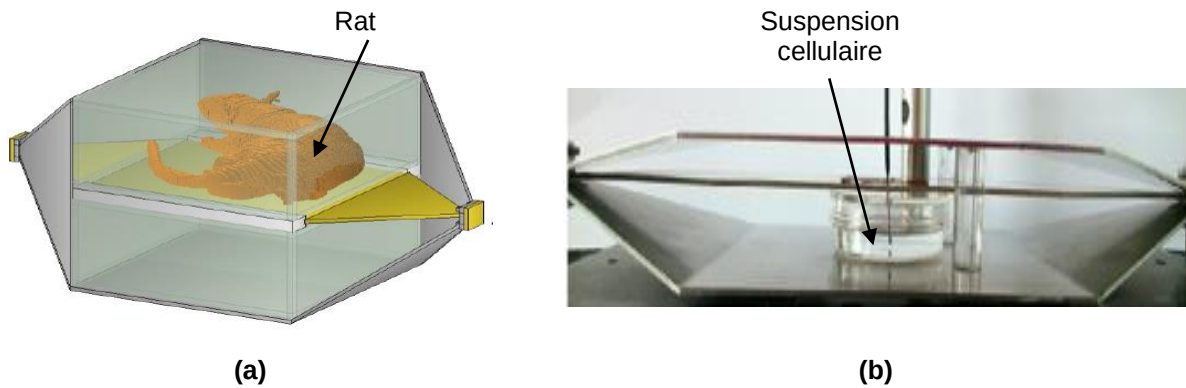


Figure 21 Les deux catégories principales d'exposition RF liées au type de la cible biologique exposée : (a) exposition *in vivo* d'un rat, (b) exposition *in vitro* d'une suspension cellulaire.

I.6.3.1 Bilan des Systèmes d'exposition *in vitro*

Pour les études *in vitro*, de nombreux systèmes d'exposition ont été développés comme le montre la publication de Paffi et al. [100]. Ces systèmes ont été repartis d'un point de vue EM en trois groupes différents : systèmes propagatifs, résonants et radiatifs. Les systèmes propagatifs sont basés sur des lignes de transmissions qui génèrent un champ électrique entre les conducteurs. Les systèmes résonants sont constitués d'une cavité dans laquelle des ondes stationnaires sont créées. Les systèmes radiatifs utilisent des antennes qui créent des rayonnements EM sur le milieu biologique exposé.

I.6.3.1.1. Systèmes propagatifs

Parmi les systèmes propagatifs, les plus utilisés par les différents groupes de recherche sont basés sur les structures standard suivantes : les cellules transverses électromagnétiques (TEM) (Figure 22) [101]–[109] et les guides d'onde rectangulaires (Figure 23) [110]–[117].

Leurs principaux avantages sont l'uniformité du champ EM qu'ils génèrent et leur polyvalence. Les cellules TEM et les guides d'onde rectangulaires ont été utilisés avec plusieurs types de récipients contenant l'échantillon biologique (Figure 24) tels que les cuvettes biologiques [101], [103], les boîtes de Petri [101], les flasques [106], [104], [107] et les multipuits [105].



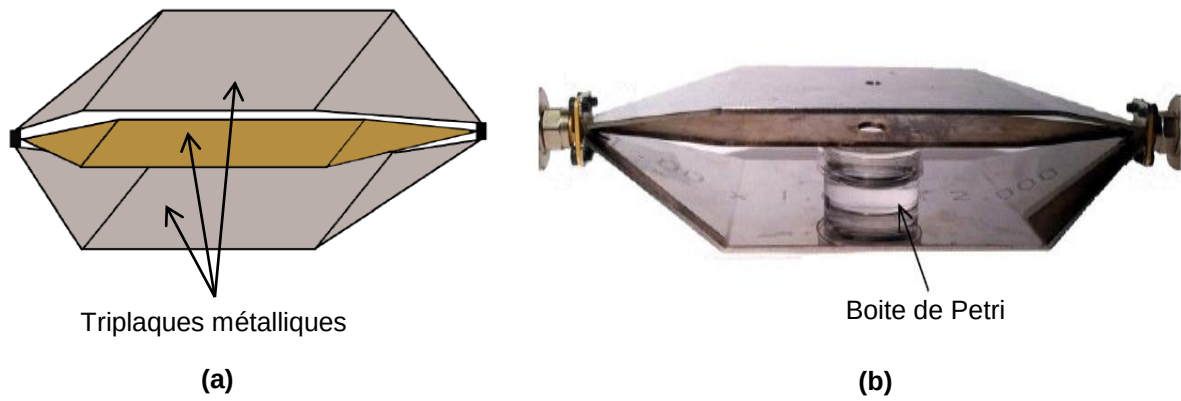


Figure 23 Système d'exposition basé sur une cellule TEM : (a) schéma d'une cellule TEM, (b) photo d'une cellule TEM contenant une boîte de Petri remplie d'un milieu biologique.

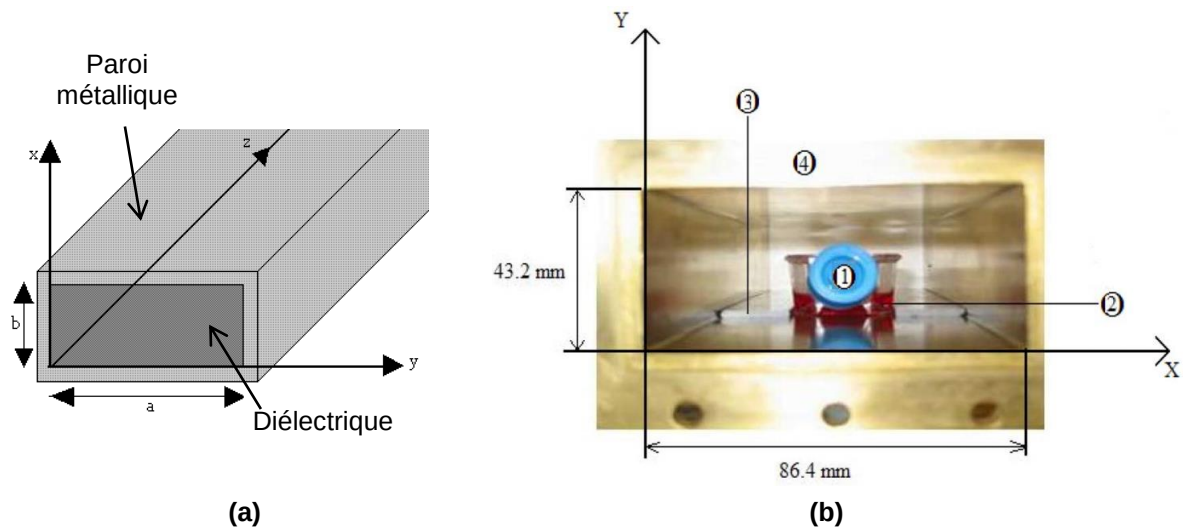


Figure 22 Système d'exposition basé sur un guide d'onde rectangulaire : (a) schéma d'un guide d'onde rectangulaire, (b) photo d'un guide d'onde rectangulaire⁽⁴⁾ contenant un flacon⁽¹⁾ rempli d'un milieu biologique⁽²⁾ [115]

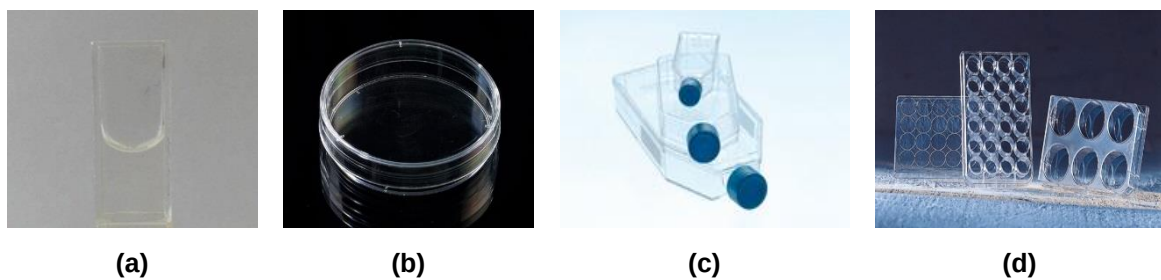


Figure 24 Récipients utilisés pour l'exposition des milieux de culture biologiques : (a) cuvettes biologiques, (b) boîte de Petri, (c) flacons, (d) multipuits.

I.6.3.1.2. Systèmes résonants

Parmi les systèmes résonants, nous pouvons retenir principalement les guides d'onde court-circuités (Figure 25) [98], [118]–[120].

Les guides d'onde court-circuités sont des structures résonnantes fermées et compactes. Elles peuvent être facilement placées dans un incubateur lorsqu'un contrôle strict de l'environnement est nécessaire pour garantir la viabilité des cellules pendant les longues expériences. Elles sont caractérisées par des dimensions réduites et par leur grande efficacité en termes de la quantité élevée de puissance absorbée, mais le positionnement de l'échantillon est critique, en raison des régions de l'uniformité du champ extrêmement localisées.

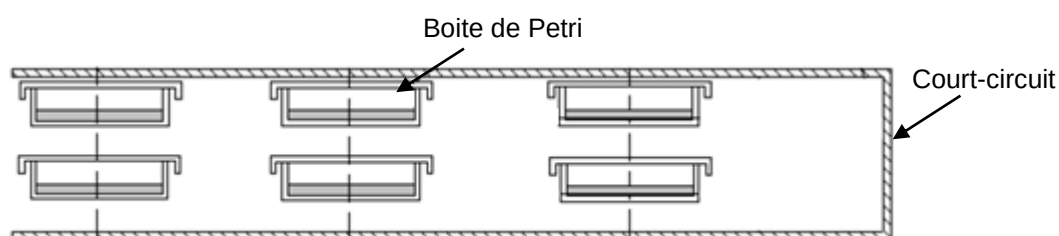


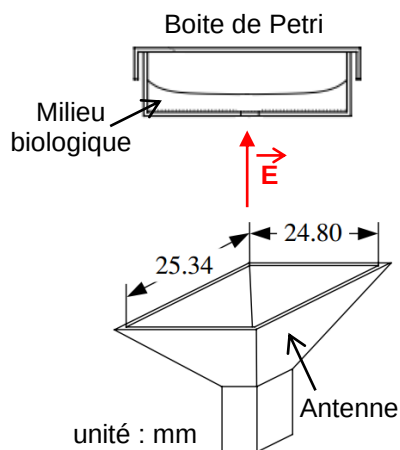
Figure 25 Système d'exposition basé sur un guide d'onde court-circuité contenant plusieurs boîtes de Petri remplies de milieu biologique [98].

I.6.3.1.3. Systèmes radiatifs

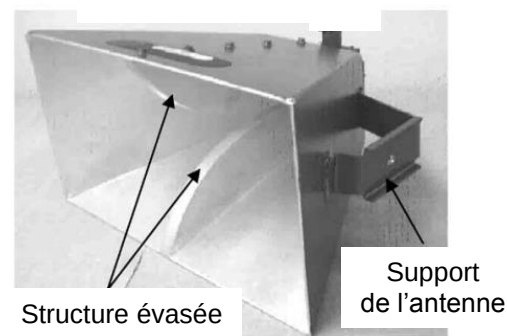
Les systèmes d'exposition radiatifs sont généralement basés sur des antennes commerciales (Figure 26) [103], [121]–[123].

Toutes les structures propagatives et résonnantes précédentes sont limitées par le nombre réduit de récipients biologiques qu'elles peuvent contenir, contrairement aux systèmes radiatifs ouverts. Ces derniers peuvent exposer un grand nombre d'échantillons biologiques [122] (jusqu'à 16 flacons simultanément) sachant qu'ils présentent une faible efficacité en puissance absorbée et ne peuvent pas être placés dans un incubateur en raison de leurs grandes dimensions. Cependant, les antennes deviennent nécessaires lorsqu'on se déplace vers des fréquences supérieures à 3 GHz, typique des nouvelles normes de la communication (WiMax entre 3.4 et 3.6 GHz, Wi-Fi à 5 GHz...).





(a)



(b)

Figure 26 Système d'exposition basé sur une antenne cornet : (a) schéma d'une antenne cornet utilisé pour exposer un milieu biologique dans une boîte de Petri, (b) photo d'une antenne cornet [121].

Depuis plus d'une décennie, la possibilité de l'observation microscopique de l'échantillon en temps réel pendant les expositions a pris une importance croissante afin d'identifier les effets biologiques cumulatifs ou réversibles possibles. Ce type d'analyse impose ainsi des contraintes supplémentaires comme l'accès facile à l'échantillon biologique et le couplage minimal avec l'outil d'acquisition. Pour répondre à ces exigences, deux solutions principales ont été présentées dans la littérature : des structures fermées [124] (cellule TEM, guide d'onde rectangulaire) avec des trous pour l'observation de l'échantillon et les systèmes ouverts [125], [126] (guide d'onde coplanaire) spécialement conçus pour avoir le champ confiné dans un petit volume autour de la surface. Cette dernière solution implique également des valeurs élevées d'efficacité.

Trois systèmes d'exposition *in vitro* permettant l'observation microscopique en temps réel des cellules biologiques durant leur exposition sont introduits par la suite. Ces systèmes ont été classés d'après Paffi et al. [100] sous le titre des systèmes d'exposition *in vitro* « temps réel ».

I.6.3.1.4. Systèmes d'exposition *in vitro* « temps réel »

Les systèmes présentés sont basés sur des guides d'onde coplanaire ou rectangulaire, et sur une cellule TEM. En tenant compte du nombre total des systèmes d'exposition qui a été développé au cours des deux dernières décennies (plus que 51 systèmes *in vitro* [127] et 33 *in vivo* [100]), il est évident qu'il existe un grand manque dans le développement des systèmes



« temps réel », indispensable pour avoir une compréhension globale et complète des effets biologiques induites par les RF.

Guide d'onde coplanaire

Le guide d'onde coplanaire noté CPW (Coplanar Waveguide) est une ligne de transmission qui a été proposé pour la première fois en 1969 par Wen [128]. C'est une structure propagative ouverte formée de trois lignes métalliques équidistantes l'une de l'autre, placées sur le même plan d'un substrat diélectrique. La ligne métallique centrale conduit le signal tandis que les deux lignes latérales servent de plans de masse. Le champ électrique est alors créé de part et d'autre de la ligne centrale.

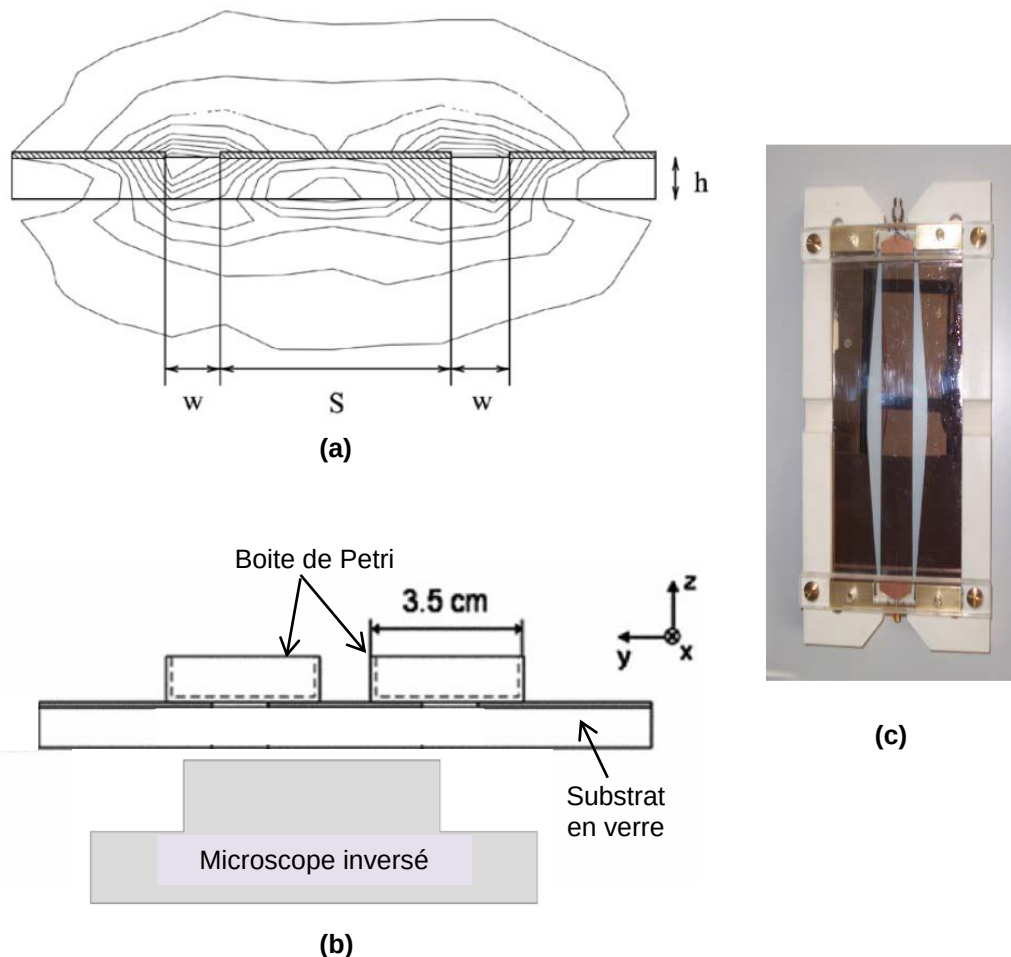


Figure 27 Guide d'onde coplanaire spécifique pour l'observation microscopique de l'échantillon en temps réel : (a) Coupe transversale du guide d'onde coplanaire avec les lignes du champ électrique. (b) Représentation schématique du guide d'onde coplanaire avec les boîtes de Petri contenant le milieu biologique, positionnée au-dessus du microscope, (c) Photo du guide d'onde coplanaire à substrat transparent développé par Paffi et al. [125].

Un système d'exposition basé sur le principe du guide d'onde coplanaire (Figure 27) spécifique pour l'observation microscopique de l'échantillon en temps réel a été développé par Paffi et al. [125], [126]. Le milieu biologique a été exposé dans une boîte de Petri déposée au-dessus des lignes métalliques et juste au-dessous est positionné l'objectif du microscope. Pour avoir une bonne visibilité du milieu, le substrat diélectrique a été fabriqué du verre ayant une haute transparence optique ($\epsilon_r = 5.5$). Le substrat joue alors le rôle d'une fenêtre transparente par laquelle la lumière émise du microscope peut illuminer le milieu biologique. Dans cette configuration le champ électrique est presque parallèle à la surface de la boîte de Petri. Les dimensions ont été optimisées pour avoir une large bande passante allant de 800 à 2000 MHz qui correspond à la gamme de fréquences typique de la deuxième et la troisième génération des systèmes de communication mobiles. Ce guide d'onde coplanaire a été exactement caractérisé à 905 MHz, 1750 MHz et 1950 MHz comme étant des fréquences représentatives du GSM 900, du GSM 1800 et des normes de l'UMTS (Universal Mobile Telecommunications System), respectivement.

Guide d'onde rectangulaire

Le guide d'onde rectangulaire est une structure de guidage constituée d'un conducteur en forme de tube creux de section rectangulaire. Un diélectrique, souvent de l'air, remplit l'intérieur du conducteur creux. Il se comporte comme étant un filtre passe haut dont la fréquence de coupure est inversement proportionnelle à ses dimensions.

Linz et al. [124] ont développé deux guides d'onde rectangulaires ayant la même structure mais des dimensions différentes pour opérer à 900 MHz et 1800 MHz (Figure 28). Ces systèmes d'exposition ont été construits avec des plaques inférieures adaptées à la platine du microscope. Le milieu biologique a été placé dans un récipient cylindrique dont le fond est constitué d'une lamelle de verre transparente. Pour permettre la visualisation microscopique en temps réel des cellules exposées, une ouverture de 10-mm de diamètre a été percée au centre de la plaque inférieure de chaque guide juste au-dessus de l'objectif du microscope. Ensuite, le fond en verre du récipient contenant le milieu biologique a été positionné au-dessus de l'ouverture (et donc au-dessus de l'objectif du microscope). Pour réduire l'inhomogénéité du champ dans les dispositifs induite par la présence des ouvertures, ces dernières ont été couvertes avec des mailles en cuivres.



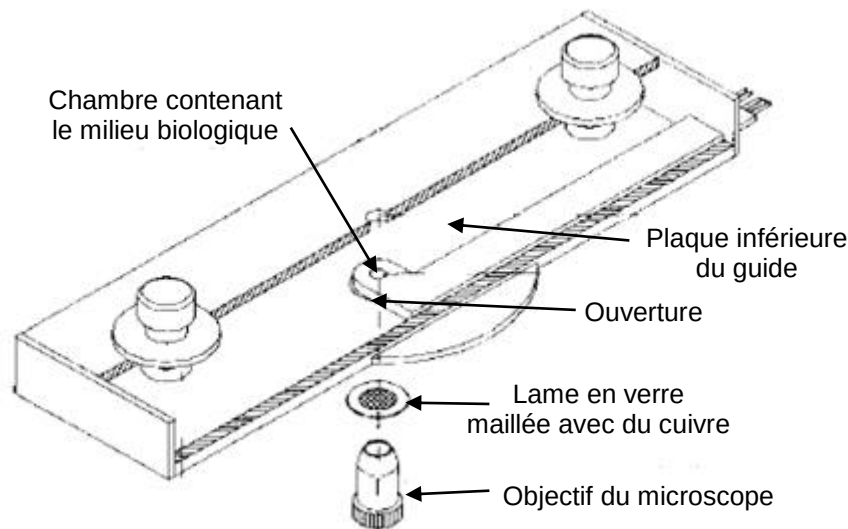


Figure 28 Schéma d'un guide d'onde rectangulaire. La plaque inférieure possède une ouverture pour permettre l'observation microscopique du milieu biologique placé dans la chambre expérimentale [124].

Cellule transverse électromagnétique

La cellule transverse électromagnétique, dont l'acronyme est la cellule TEM, a été introduite pour la première fois en 1973 par Myron L. Crawford, salarié du National Institute of Standards and Technology [129]. C'est une ligne de transmission qui permet de générer des champs électromagnétiques (EM) uniformes dans une zone définie dite "zone d'essai". Elle est constituée d'une plaque métallique centrale parallèle à deux autres plaques extérieures comme montre la Figure 29. Crawford l'avait développée allant du principe de la ligne coaxiale pour fonctionner comme un système ayant une impédance adaptée 50Ω . Ses considérations de conception étaient de maximiser l'aire de la section transversale d'essai utilisable, la limite supérieure de fréquence utile, et l'uniformité du champ EM délivré caractéristique de la cellule TEM et minimiser les désadaptations d'impédance et les ondes stationnaires. La cellule TEM a été utilisée ensuite dans de nombreuses applications. Par exemple, la cellule TEM est un dispositif standard et efficace pour mesurer les émissions électromagnétiques des circuits intégrés [130] et pour les études de l'interaction des signaux de la téléphonie mobile sur la santé [25], [131], [132].

Wolke et al. [133] ont considéré une cellule TEM cubique ayant une bande passante de 2 GHz pour des expositions à 900 MHz et 1800 MHz. La cellule TEM a été placée sur la platine du microscope (Figure 30a). Un trou de 10-mm de diamètre a été percé au centre de sa plaque



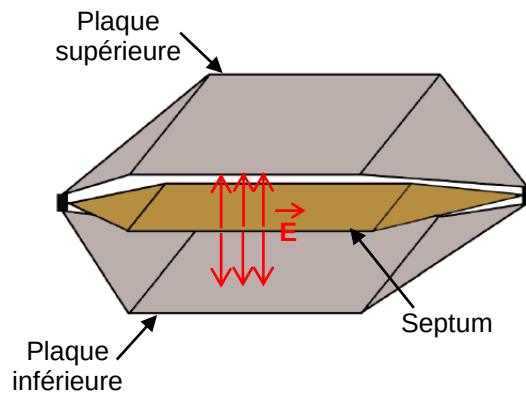


Figure 29 Structure de la cellule TEM.

inférieure au-dessus de l'objectif du microscope pour l'observation en temps réel (Figure 30b). Le milieu biologique a été exposée dans un récipient cylindrique en verre de 55-mm de diamètre, positionnée au-dessus de l'ouverture (Figure 30c). A son tour, l'ouverture a été fermée de la face inférieure par une maille de cuivre pour améliorer l'homogénéité du champ électrique dans l'ouverture. Cette même structure de la cellule TEM a été utilisée par K.W. Linz et al. [124] pour des expositions biologiques à 180 MHz et 900 MHz.

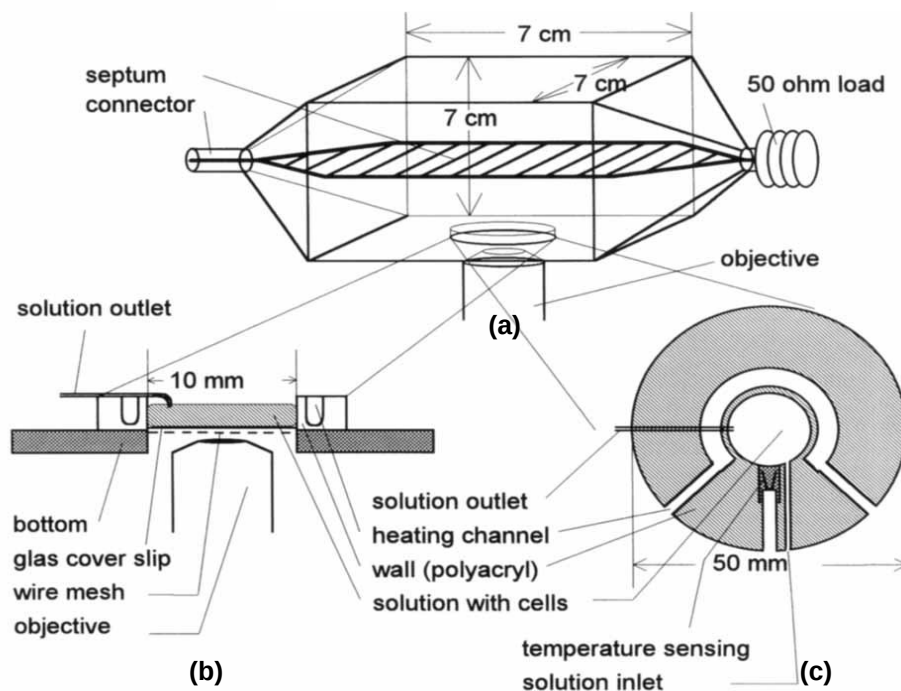


Figure 30 Structure de la cellule TEM montée sur la platine d'un microscope inversé avec la plaque métallique inférieure ouverte au centre d'un trou de 10 mm de diamètre, représentatif des dimensions de l'objectif du microscope : (a) schéma de la structure entière, (b) coupe longitudinale au niveau de l'ouverture, (c) coupe transversale au niveau du récipient cylindrique contenant le milieu biologique [133].



Pour résumer, trois systèmes d'expositions *in vitro* « temps réel » basés sur des guides d'onde coplanaire et rectangulaire, et sur une cellule TEM ont été présentés. Dans notre travail, nous allons nous appuyer sur ce dernier système pour développer une cellule TEM qui permet l'observation microscopique en temps réel du milieu biologique durant les expositions RF.

I.6.3.2 Conclusion

Pour conclure cette partie, nous avons vu que l'évaluation des effets des signaux de télécommunications sur la santé nécessite la présence des systèmes d'exposition qui répondent aux exigences des physiciens et des biologistes. Tout d'abord, nous avons présenté les différentes parties d'un montage d'exposition aux ondes RF. Puis, nous nous sommes intéressés à la partie « système d'exposition » qui contient le milieu biologique. Nous avons introduit quelques exigences biologiques et physiques à considérer en développant un système d'exposition.

Ensuite, nous avons donné un bilan des systèmes d'exposition *in vitro* existants. Cela nous a permis de mettre en évidence le manque dans la conception des systèmes spécifiques pour l'exposition « en temps réel » des milieux biologiques.

Dans ce contexte, notre but sera le développement d'un système d'exposition basé sur une cellule TEM spécifique pour évaluer en temps réel les effets sanitaires des signaux de télécommunications. Ce système sera présenté en détails dans le chapitre I.



La dernière partie de ce chapitre présentera le système d'exposition des milieux biologique aux nsPEFs.

I.6.4. Système d'exposition aux nsPEFs

L'application des champs électriques pulsés haute intensité nanoseconde (nsPEF) aux milieux biologiques nécessite des systèmes d'exposition spécifiques (Figure 31). Le système d'exposition est généralement composé de deux parties principales : le générateur et l'applicateur nsPEF. Le générateur a comme rôle de transformer la tension continue qui lui est fournie en une impulsion électrique caractérisée par sa forme, son amplitude et sa durée [134]–[143]. Une fois l'impulsion générée, il faut l'acheminer vers le milieu biologique. L'applicateur est la partie du système d'exposition qui contient le milieu biologique et permet de l'exposer aux champs électriques tout en répondant aux conditions des expériences physiques et biologiques [144].

La problématique pour l'applicateur se situe dans les formes particulières des signaux utilisés (impulsions, amplitude maximale, contenu spectral ...). Puisque les impulsions ont une durée qui varie entre quelques centaines de picosecondes et quelques dizaines de nanosecondes, le spectre correspondant présente une large bande de fréquence. Dans ces conditions, les applicateurs doivent avoir une large bande passante pour manipuler les impulsions sans perte du contenu spectral.

Il est aussi important de savoir exactement à quel champ est exposé le milieu biologique et le volume qui peut être affecté. La géométrie de l'applicateur a une influence directe sur la distribution du champ et la forme des impulsions délivrées à la cellule. Le choix de l'applicateur joue un rôle primordial dans l'étude des effets des impulsions ultracourtes et de très forte amplitude puisque la valeur du champ et la durée de l'impulsion détermine les effets et la cible. Donc le développement de ces applicateurs est lié à la définition des besoins de biologistes (type de cellule, milieux de culture, observation en temps réel des effets des nsPEFs sur les cellules vivantes...), et des paramètres de l'exposition (les niveaux des champs électromagnétiques, forme et durée d'impulsions...).

C'est sur la partie "applicateur" du système d'exposition que va se concentrer notre travail. Nous présenterons premièrement la géométrie et les caractéristiques des applicateurs présents dans la littérature pour l'exposition des milieux biologiques.



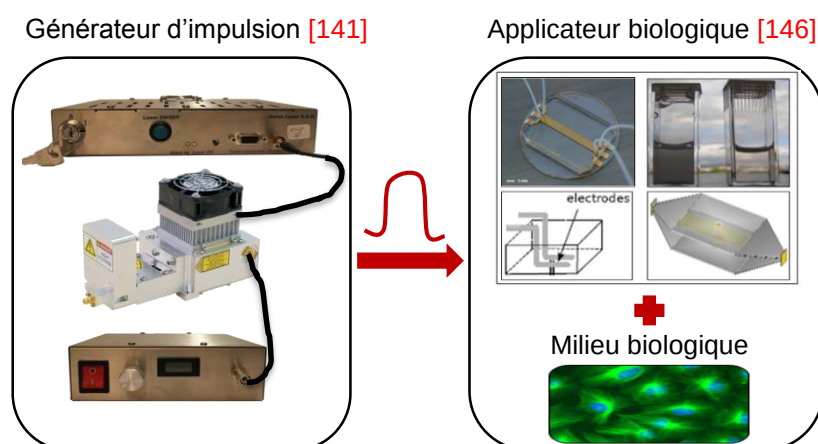


Figure 31 Schéma représentant les parties principales d'un système d'exposition aux nsPEFs.

I.6.4.1 Appareils nsPEFs

Les appareils nsPEFs sont classés en deux grandes catégories : les appareils avec contact électrodes/milieu biologique et ceux sans contact électrodes/milieu biologique. Les premiers sont basés sur le principe de la conduction électrique. Les deuxièmes sont basées sur la propagation des ondes. Une explication de ces deux principes sera donnée dans le chapitre III.

I.6.4.1.1. Les appareils avec contact électrodes/milieu biologique

Dans cette partie concernant les appareils avec contact électrodes/milieu biologiques, nous distinguons les appareils spécifiques pour l'exposition d'un grand nombre de cellules (suspension cellulaire ou cellules adhérentes) de ceux développés pour exposer un petit nombre de cellules.

Appareils pour exposer un grand nombre de cellules

Cuvette biologique

Parmi les appareils existants, la cuvette biologique [136], [139], [145], [146] est l'appareil le plus utilisé dans les systèmes d'exposition par conduction (Figure 32). Elle permet l'exposition aux impulsions électriques nanosecondes d'un grand nombre de cellules biologiques dans leur milieu de culture. Elle consiste en une chambre en plexiglas contenant deux électrodes métalliques en contact direct avec le milieu biologique (exposition par conduction) qui remplacent des faces opposées de la cuvette. Les électrodes sont séparées typiquement par une distance de 1, 2 ou 4-mm. Plus de détails sur les caractéristiques de la cuvette biologique seront présentés ultérieurement (chapitre III) en détaillant les travaux de



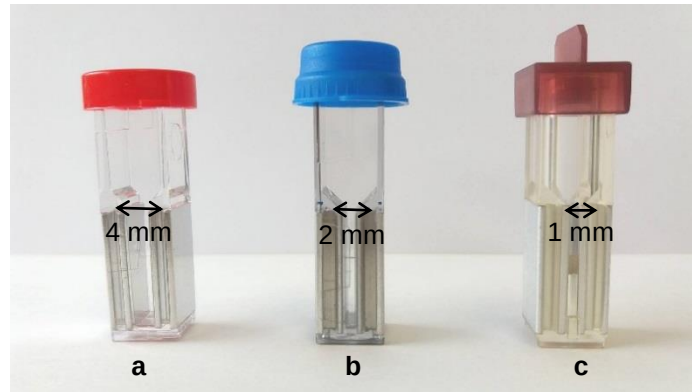


Figure 32 Cuvettes d'électroporation standards de distance inter-électrodes de 1,2 et 4 mm.

Kenaan et al. [139], puisque nous nous sommes basés sur cet applicateur pour concevoir une nouvelle configuration avec des performances améliorées.

Système à aiguilles pour l'exposition d'une suspension cellulaire

Chen et al. [147] ont présenté trois configurations basées sur un câble coaxial coupé à une extrémité pour exposer des cellules biologiques dans leur milieu de culture (Figure 33). La première configuration est constituée du câble coaxial avec le conducteur interne prolongé avec une aiguille. La deuxième comporte cinq aiguilles, une soudée au conducteur interne et quatre au conducteur externe du câble. Les quatre aiguilles périphériques sont placées d'une manière symétrique de part et d'autre de l'aiguille centrale. La distance entre l'aiguille interne et chaque aiguille externe est de 1.7 mm. Cette distance représente l'épaisseur du téflon du câble. La dernière configuration est formée du bout du câble coaxial seul sans aucune aiguille. Les aiguilles utilisées sont en acier d'un diamètre de 200 μm et d'une longueur de 5 mm.

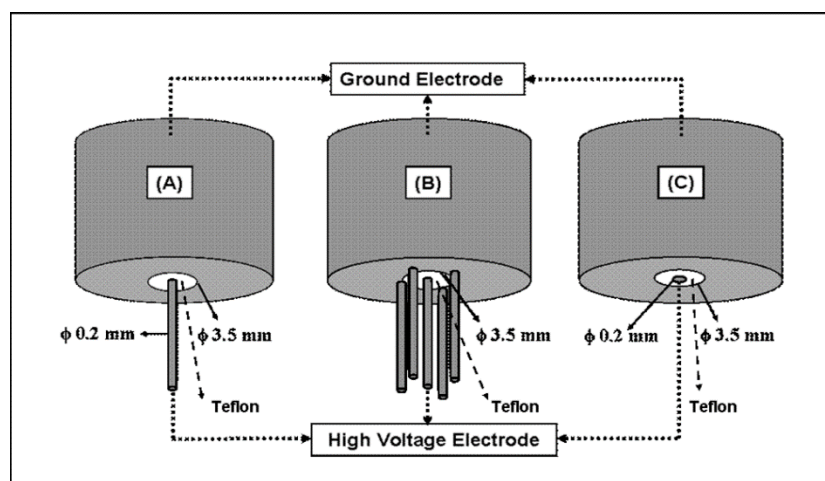


Figure 33 Trois configurations d'un applicateur coaxial pour des expositions aux nsPEFs : 1- Applicateur coaxial à une aiguille, 2- applicateur coaxial à cinq aiguilles et 3- applicateur coaxial sans aiguille [147].



Les trois systèmes ont été plongés dans une boîte de Petri contenant le milieu biologique et testé avec une impulsion de durée 15 ns et d'amplitude 10 kV. Les résultats ont montré que pour toutes les configurations le champ électrique est maximal au centre et décroît à moins de 10 MV/m à un rayon de 400 μm du conducteur interne. Cependant, la configuration sans aiguilles est capable de générer le champ le plus intense au centre de la zone exposée alors que la configuration à cinq aiguilles électrodes a l'avantage de générer le champ le plus homogène.

Applicateurs pour exposer un petit nombre de cellules

Les applicateurs dédiés pour exposer un petit nombre de cellules (quelques dizaines de cellules ou une cellule) sont désignés par « microsystèmes », en raison de leur distance inter-électrodes micrométrique. Les microsystèmes ont été développés pour fournir des champs électriques de forte intensité (1 à 10 MV/m).

Microsystème à aiguilles pour l'exposition d'une seule cellule

Pakhamov et al. [148] ont mis en place un système à deux aiguilles en tungstène spécifique pour l'exposition d'une cellule individuelle sur une lamelle en verre (Figure 34). Les électrodes ont un diamètre de 125 μm et sont séparées d'une distance de 310 μm . Les électrodes sont positionnées de part et d'autre de la cellule sous microscope à l'aide d'un micromanipulateur. Elles sont directement liées à un générateur délivrant des impulsions rectangulaires de durée 60 ns. Il a été montré que pour une tension incidente de 1 kV, ce système est capable de délivrer un champ électrique d'amplitude 2.4 MV/m.

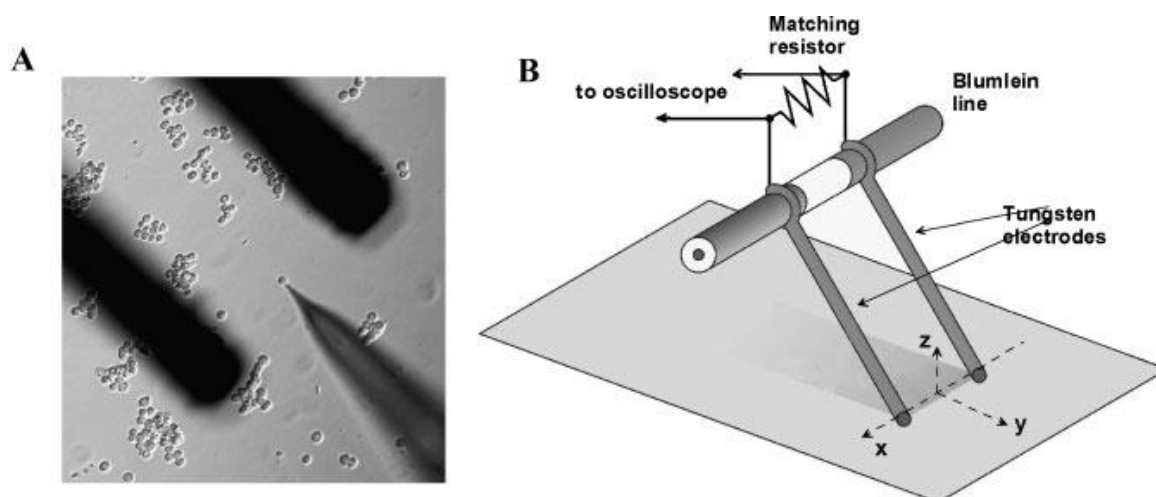


Figure 34 Microsystème pour l'exposition d'une cellule. (A) Image microscopique du positionnement des électrodes et de la micropipette par rapport à la cellule exposée. (B) Schéma du système [148].



Microchambre à électrodes filaires

Wu et al. [149] ont développé un autre type d'applicateur nsPEF basé sur une chambre à électrodes filaires (Figure 35). Cet applicateur a été conçu pour l'exposition des suspensions cellulaires avec observation en temps réel sur la platine du microscope. Il consiste en un microcanal formé entre deux électrodes filaires en tungstène plaquées or, de 100 μm de diamètre. Les électrodes ont été pliées à angle droit et placées à une distance de 200 μm centre à centre, dans 8 chambres en verre. Un micromanipulateur permet un positionnement précis et un déplacement facile et rapide des électrodes d'une cellule à une autre dans la même chambre, ou d'une chambre à une autre. Par comparaison au système conçu précédemment [150], ce dispositif d'exposition mobile combinée avec un micromanipulateur automatisé fournit un moyen plus flexible pour étudier la réponse des cellules ayant une certaine forme et taille, et permet de changer l'orientation du champ électrique.

La microchambre de ce système d'exposition présente une impédance élevée (environ 300 Ω) par rapport à une charge classique 50 Ω . Afin de fournir un maximum d'énergie au milieu biologique, les électrodes filaires ont été soudées à un connecteur BNC avec une résistance 50 Ω placée en parallèle avec les câbles de transmission et le générateur.

Le comportement fréquentiel de ce dispositif a été étudié. La bande passante correspondante à un coefficient de réflexion inférieur à -10 dB est de l'ordre de 300 MHz. Par conséquent, cet applicateur est adapté pour délivrer des impulsions aussi courtes que 2,5 ns. L'étude de la distribution du champ indique une bonne homogénéité entre les deux électrodes, avec un champ électrique autour de 10 MV/m.

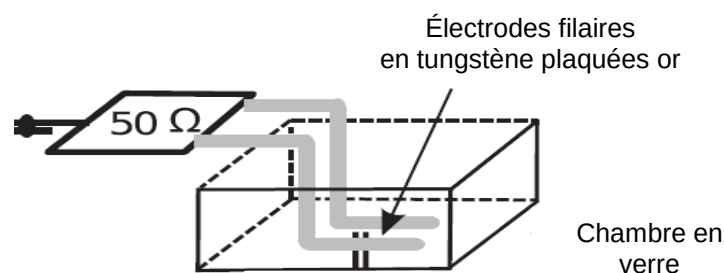


Figure 35 Schéma de la microchambre à électrodes filaires parallèles [149].

Système microfluidique

Dalmay et al. [151] ont développé un dispositif miniaturisé, appelé « biochip », spécifiquement optimisé pour l'exposition des cellules vivantes aux nsPEFs. Ce système a été



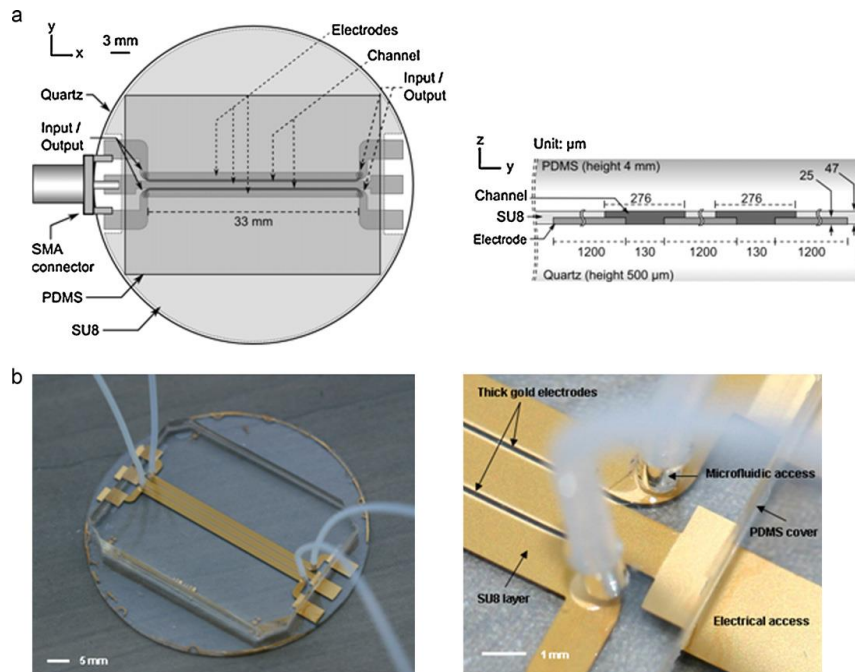


Figure 36 (a) Schéma du système microfluidique, (b) Photo du système fabriqué et zoom sur l'entrée [151].

désigné par « microfluidique » puisqu'il est basé sur des écoulements de liquides (culture cellulaire) dans des canaux de taille micrométrique. Il suffit qu'une dimension du canal soit de l'ordre du micromètre ou de la dizaine de micromètres pour que l'on parle de microfluidique (voir la différence entre nanofluidique, microfluidique, millifluidique). Comme montre la Figure 36, ce dispositif est composé d'un canal microfluidique de 50 μm de hauteur dans lequel les cellules en suspension dans leur milieu biologique sont injectées. Le canal est formé entre des électrodes en or biocompatible, d'épaisseur typique de 25 μm et de longueur 30 mm. Les électrodes espacées par une faible distance de 150 μm permettent l'application d'un champ électrique intense. Ce dispositif permet aussi la visualisation en temps réel des cellules durant leur exposition sous microscope à fluorescence grâce à la transparence du fond du canal formé du quartz.

La caractérisation électrique supportée par des mesures et des simulations numériques dans le domaine fréquentiel, ont montré que le « biochip » possède une bande passante de 110 MHz et une impédance de 50 Ω. Le comportement temporel de cet applicateur a été aussi étudié avec deux types de nsPEFs de durée 3 ns et 10 ns. Les résultats ont indiqué que l'amplitude et la durée des impulsions générées et appliquées présentent un bon niveau de cohérence, illustrant l'adaptation de cet applicateur à ces types d'impulsions. Pour une tension incidente de 6 kV, un champ électrique d'amplitude 4.5 MV/m a été délivré au milieu. En plus, l'étude de l'évolution temporelle et spatiale du champ électrique à l'intérieur du canal et les tests biologiques ont



montré que ce système permet un traitement continu et homogène de cellules quelle que soit leur localisation dans le canal microfluidique et conserve la viabilité des cellules sans contamination.

I.6.4.1.2. Les applicateurs sans contact électrodes/milieu biologique

Dans cette partie, nous présenterons deux applicateurs sans contact électrodes/milieu biologique : un applicateur rayonnant basé sur une antenne large bande et un applicateur propagatif basé sur une cellule TEM ouverte.

Antenne ultra-large bande

Altunc et al. ont développé un applicateur basé sur une antenne de focalisation large bande IRA (Impulse-Radiating Antenna) [152], [153] pour exposer une cible biologique aux nsPEFs sans l'utilisation d'électrodes invasives (Figure 37). Cette antenne IRA comporte deux parties principales : une ligne de transmission de forme conique appelée bras d'alimentation et une composante optique de focalisation qui est un réflecteur. Ce système fonctionne comme suivant. Il présente deux points focaux. L'onde est rayonnée du premier point focal vers le réflecteur, qui la réfléchit à son tour et la focalise sur le deuxième point focal où est localisée la cible.

Le comportement temporel de l'antenne a été testé avec une impulsion de durée 100 ps et d'amplitude 100 kV pour exposer une cible ayant une permittivité diélectrique de 81. Puisque la permittivité de la cible est relativement grande par rapport à celle de l'air qui l'entoure (égale à 1), une lentille de focalisation a été ajoutée pour minimiser les fortes réflexions à l'interface air/cible, due à ce saut d'impédance. Elle a comme rôle de réduire la taille du faisceau et de le rendre plus étroit et directif vers la cible ce qui fournit un champ plus intense. Les résultats ont montré que le champ reste fortement atténué dans la cible avec une intensité de 17 V/m [152].

Il a été démontré aussi que la lentille agit comme un filtre passe-bande puisqu'elle possède une bande passante allant de 0.4 GHz jusqu'à 3.4 GHz. Le filtrage des composantes fréquentielles supérieures à 3.4 GHz est dû aux pertes diélectriques survenues dans le matériau de la lentille, alors que le filtrage des composantes inférieures à 0.4 GHz est lié à la géométrie de la lentille. Cela indique que cette antenne IRA n'est pas adaptée aux impulsions lentes ou rectangulaires qui possèdent un contenu spectral situé aux basses fréquences.



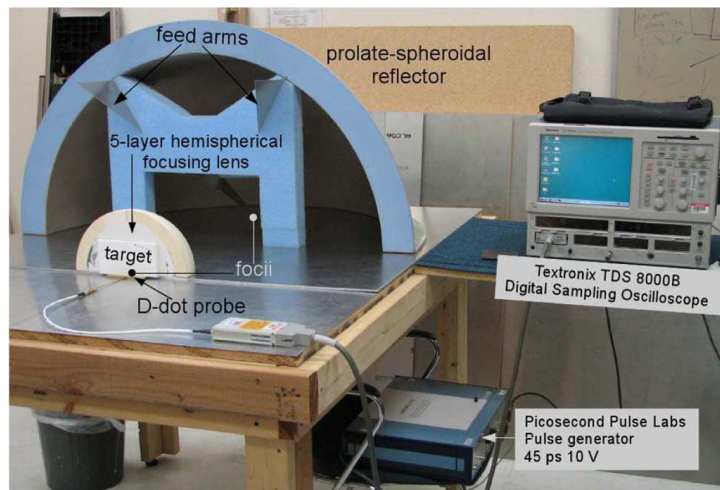


Figure 37 Photo du montage expérimental comportant l'antenne IRA [152].

Cellule TEM ouverte

Kohler et al. [154] ont développé une cellule TEM ouverte contenant une boîte de Petri pour exposer des cellules en suspension (Figure 38). La boîte de Petri a été positionnée entre la plaque métallique interne et la plaque inférieure de la cellule TEM. Il a été démontré que la bande passante de ce système s'étend jusqu'à 3 GHz.

Deux impulsions monopolaire et bipolaire de durée 1.2 ns et d'amplitude 1.6 kV ont été délivrées à la cellule TEM. Les résultats temporels obtenus par mesures et simulations ont montré que l'impulsion réfléchie à l'entrée de la cellule TEM est négligeable. Par conséquent, ce dispositif est bien adapté pour fournir des champs électriques pulsés haute intensité de durée ultra-courte de 1.2 ns et d'amplitude de 0.1 MV/m au moins. Il est aussi à noter que cette configuration est adaptée pour l'imagerie en temps réel des cellules biologiques en montant la cellule TEM sur une platine du microscope, grâce à une ouverture percée au centre de la plaque inférieure au-dessous de la boîte de Petri en plexiglas transparent.

Plus de détails sur les avantages et les limitations de la cellule TEM seront donnés dans le chapitre IV lors de la caractérisation d'un applicateur sans contact basé sur une cellule TEM contenant une cuvette en plastique.



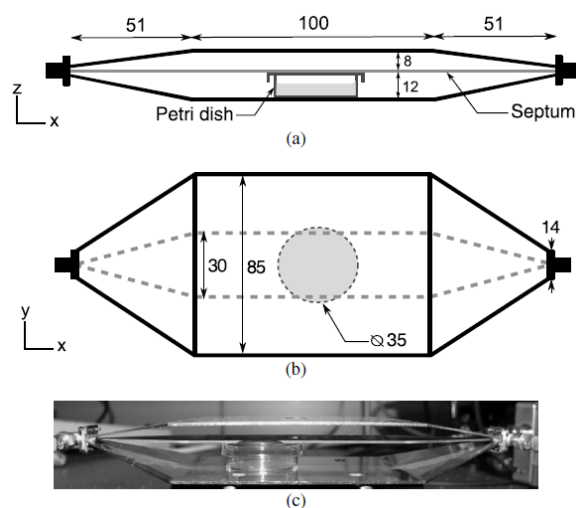


Figure 38 Schéma et photo de la boîte de Petri placée dans la cellule TEM: (a) vue de côté; (b) vue de dessus (dimensions en mm); (c) vue de côté [154].

I.6.4.2 Conclusion

Pour conclure cette partie, nous avons présenté les parties principales qui composent un système d'exposition des milieux biologiques aux nsPEFs. Nous nous sommes ensuite focalisés sur la partie applicateur contenant le milieu à exposer. Nous avons décrit brièvement les différents types d'applicateurs existants divisés en deux catégories : les applicateurs avec contact électrodes/milieu biologique et les applicateurs sans contact électrodes/milieu biologique.

Dans ce cadre de l'étude, notre but sera le développement et la caractérisation électromagnétique de différents applicateurs pour l'étude des effets biologiques des nsPEFs (chapitre III et IV). Nous chercherons à étudier les performances des applicateurs par des simulations et des mesures pour différents types d'impulsions haute tension.



I.7. Conclusion du chapitre

Dans ce premier chapitre, nous avons proposé une présentation générale de l'étude. Nous avons rappelé l'intérêt croissant qui est suscité pour l'interaction des champs EM avec les milieux biologiques. Premièrement, nous avons présenté les signaux micro-ondes qui peuvent être employés dans le domaine biomédical pour leurs effets thermiques à l'échelle des tissus, notamment dans l'ablation thermique micro-ondes des tumeurs cancéreuses. Deuxièmement, nous nous sommes intéressées aux effets sanitaires potentiels des signaux de télécommunications sans fil. Troisièmement, nous avons abordées l'exploitation des effets athermiques des impulsions électriques nanosecondes de haute intensité dans des applications thérapeutiques puissantes telle que l'électrochimiothérapie.

Pour chacune de ces trois catégories de signaux nous avons présenté une description non exhaustive des parties principales d'un système d'exposition : le générateur du signal et l'applicateur contenant le milieu biologique. Nous nous sommes focalisés sur la partie applicateur qui joue un rôle primordial dans l'étude des effets des ondes électromagnétiques sur les milieux biologiques.

Concernant l'ablation par des micro-ondes (AMW), nous avons présenté les différentes structures d'antennes d'AMW existantes sous deux catégories : les antennes d'AMW à travers la peau ou une opération chirurgicale et les antennes d'AMW par voie endoscopique. Cela nous a permis de constater un manque dans la conception dans antennes spécifiques pour l'AMW par voie endoscopique.

Pour l'étude des effets sanitaires des signaux de télécommunications sans fil, nous avons donné un bilan des systèmes d'exposition *in vitro* existants. Cela nous a permis de mettre en évidence le manque dans la conception des systèmes spécifiques pour l'exposition « en temps réel » des milieux biologiques.

La dernière partie du chapitre a porté sur les nsPEFs. Nous avons décrit brièvement les différents types d'applicateurs existants divisés en deux catégories : les applicateurs avec contact électrodes/milieu biologique et les applicateurs sans contact électrodes/milieu biologique.

Dans le cadre de l'étude présentée dans ce chapitre, mes travaux de thèse ont pour but de développer et caractériser une antenne spécifiques pour l'AMW des tumeurs par voie endoscopique (chapitre II), un applicateur spécifique pour étudier l'effet sanitaire des signaux de télécommunications « en temps réel » (chapitre II), des applicateurs nsPEFs avec contact



électrodes/milieu biologique (chapitre III) et des applicateurs nsPEFs sans contact
électrodes/milieu biologique (chapitre IV).





Chapitre II :

Systèmes d'exposition : applications en ablation MW et RF temps réel





II.1. Introduction

Comme illustré dans le premier chapitre, plusieurs expérimentations bioélectromagnétiques ont été effectuées aux fréquences micro-ondes pour évaluer leurs effets sanitaires ainsi que leurs applications thérapeutiques possibles. Nous avons aussi présenté les systèmes d'exposition nécessaires pour réaliser ces études qui doivent également répondre aux besoins des biologistes et des médecins.

Mon travail de thèse consiste essentiellement à développer et caractériser des systèmes d'exposition utilisés pour ces expérimentations bioélectromagnétiques. Plus précisément, ce chapitre est composé de deux parties. La première partie sera consacrée à la conception et la caractérisation d'un dispositif spécifique pour l'ablation thermique micro-ondes à 2.45 GHz par voie endoscopique des tumeurs cancéreuses. La deuxième partie se focalise sur l'étude d'un applicateur modifié dont le but est de permettre aux biologistes la visualisation microscopique en temps réel de l'échantillon biologique durant son exposition aux fréquences utilisées par les systèmes de télécommunications sans fil.

Les matériels et méthodes pour les expériences et la modélisation numérique des deux dispositifs ainsi que les résultats et les analyses électromagnétiques en termes d'adaptation et du débit d'absorption spécifique seront détaillés par la suite.



II.2. Caractérisation expérimentale et numérique d'un dispositif spécifique pour l'ablation micro-onde à 2.45 GHz

Le travail de cette partie se focalise sur la conception et la caractérisation électromagnétique d'un dispositif, basé sur la géométrie d'une antenne triaxiale, spécifique pour l'ablation micro-onde *in vivo* des tumeurs cancéreuses par voie endoscopique. Ce travail a été effectué dans le cadre d'une collaboration avec l'Equipe de Recherche Médicale Appliquée (ERMA) du centre hospitalier et universitaire de Limoges (CHU Limoges), les médecins Jérémie Jacques, Catherine Yardin et Sylvaine Fontanier.

Une caractérisation électromagnétique de cet applicateur a été effectuée pour évaluer ses performances. Le débit d'absorption spécifique (DAS) a été étudié pour déterminer la géométrie de la zone exposée. L'antenne est optimisée pour une adaptation à 2.45 GHz. Nous avons choisi une fréquence de 2.45 GHz au lieu de 915 MHz parce qu'il a été montré dans la littérature qu'à 2.45 GHz l'ablation est plus efficace (plus prévisible et plus rapide) puisque cette fréquence est plus proche à la fréquence de relaxation de l'eau [33], [34].

II.2.1. Caractéristiques d'une antenne micro-onde

Nous rappelons que l'antenne micro-onde (MW) est la partie du système d'ablation micro-onde (AMW) insérée dans la tumeur et qui permet de l'exposer à des micro-ondes pour avoir un échauffement thermique. Les caractéristiques principales à considérer en développant une antenne d'AMW sont les suivantes :

- Adaptation d'impédance antenne/tissu biologique pour transférer le maximum d'énergie à la tumeur.
- Minimisation du diamètre de l'antenne pour permettre une ablation peu invasive sans endommager les structures voisines.
- Minimisation de l'échauffement arrière de l'antenne et l'endommagement du générateur MW par la puissance réfléchie par la tumeur et éviter ainsi l'endommagement des tissus sains adjacents au chemin d'insertion de l'antenne.

Comme nous avons déjà vu dans le premier chapitre, plusieurs dispositifs d'ablation micro-ondes ont été développés précédemment. Ces dispositifs sont basés sur différents types d'antennes monopolaire, dipolaires, triaxiales et autres [26]. En revanche, la plus petite antenne qui a été développée possède un diamètre externe de 1.5-mm supérieure aux diamètres des



sondes endoscopiques utilisées dans le domaine médical. Cela rend ces antennes limitées à l'ablation par voie percutané ou par des opérations chirurgicales.

Pour dépasser cette limitation, nous avons pensé à développer un dispositif d'AMW basée sur une antenne triaxiale. L'originalité de ce dispositif réside en ses dimensions miniaturisées et la possibilité de l'insérer directement dans la tumeur par une aiguille de biopsie sans avoir recours à une opération chirurgicale.

II.2.2. Géométrie de l'antenne triaxiale

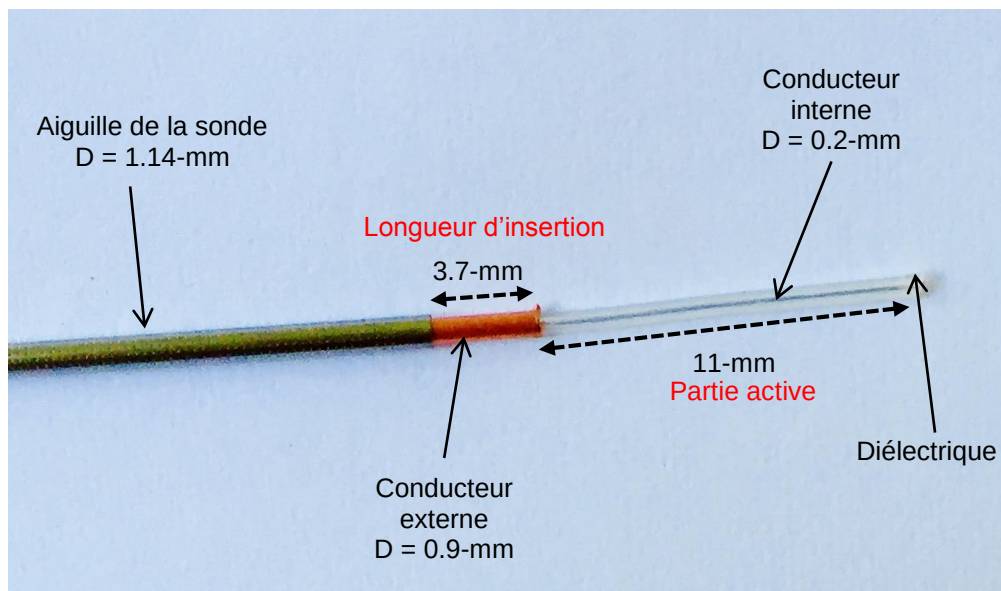
La géométrie et les dimensions de l'antenne triaxiale adaptée à cette application sont présentées sur la [Figure 39a](#). Elle est obtenue par l'insertion d'un câble coaxial semi-rigide standard (UT-34-M, Micro-Coax, Pottstown, PA) de diamètre 0.95-mm dans une aiguille de biopsie de diamètre 1.14-mm (19-gauge) ([Figure 39b](#)).

Le conducteur externe du câble coaxial utilisé est en cuivre, tandis que le conducteur interne est constitué d'un fil en cuivre argenté. La partie diélectrique du câble entourant le conducteur interne est fabriquée du polytétrafluoroéthylène à faible perte (PTFE). Les diamètres du conducteur externe, du diélectrique et du conducteur interne sont, respectivement, de 0.95 mm, 0.61 mm et 0.2 mm. Ce câble a une impédance caractéristique de 50Ω et il peut supporter et transmettre jusqu'à 34-W en puissance moyenne incidente. L'aiguille de biopsie est fabriquée en acier inoxydable. Elle est couverte d'une couche de polymère biocompatible, le Parylène "C" d'épaisseur $10 \mu\text{m}$ pour réduire le coefficient de frottement à la surface de l'aiguille.

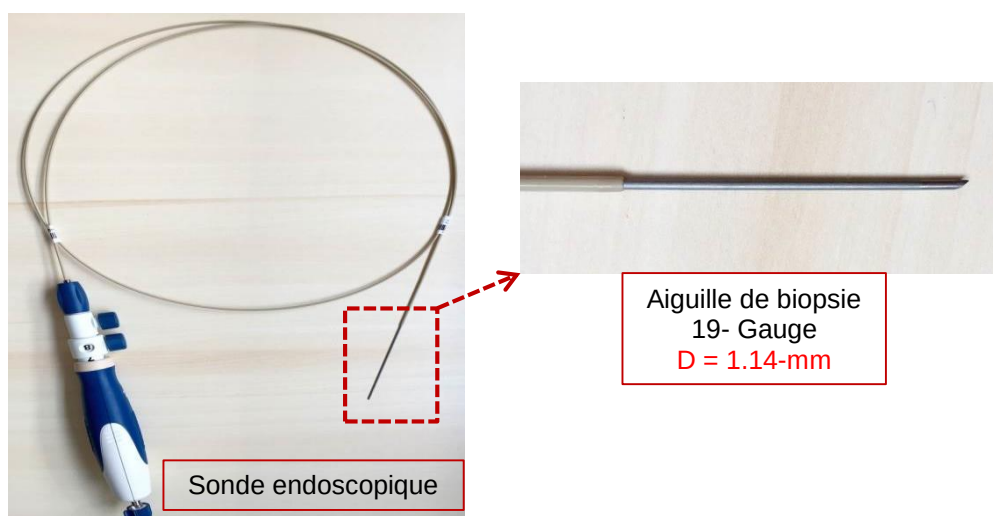
L'élément rayonnant de l'antenne (dipôle $\lambda/2$, avec λ la longueur d'onde à la fréquence du travail), également connu sous le nom de la partie active de l'antenne, est formé par une portion du conducteur interne entourée par le diélectrique (PTFE). La partie active de l'antenne et la distance entre l'aiguille et l'extrémité du conducteur externe, appelée longueur d'insertion, sont optimisées pour minimiser les pertes dans les tissus biologiques. Elles sont égales à $(2n+1) \lambda/4$ à la fréquence considérée, avec n entier. L'avantage de l'aiguille est à la fois de protéger l'antenne lors de son introduction dans le corps et de minimiser l'échauffement arrière qui endommage le câble.

Cette antenne a été conçue pour rayonner à une fréquence de 2.45 GHz dans un liquide équivalent ayant les propriétés diélectriques d'un tissu tumoral du foie : permittivité diélectrique de 45.6, conductivité électrique de 1.94 S/m et densité volumique de 1050 kg/m^3 [\[155\]](#).





(a)



(b)

Figure 39 Géométrie et dimensions de l'antenne triaxiale d'ablation micro-onde. Photos de l'antenne triaxiale (a) et de la sonde endoscopique (b).

II.2.3. Caractérisation électromagnétique de l'antenne triaxiale

Afin de déterminer les performances fréquentielles du système d'ablation basé sur l'antenne triaxiale, une caractérisation expérimentale et numérique en termes de coefficient de



réflexion et de débit d'absorption spécifique a été effectuée. La modélisation numérique de l'antenne a été faite à l'aide d'un logiciel de simulation électromagnétique tridimensionnelle Microwave Studio, développé par la société CST. Dans ce qui suit, et avant de détailler les différentes étapes de caractérisation, nous donnons une brève description du principe de fonctionnement de ce logiciel.

II.2.3.1 Logiciel de simulation numérique

CST est un logiciel riche en fonctionnalités pour l'analyse électromagnétique et la conception dans la gamme de fréquences micro-ondes. C'est un calculateur de champ électromagnétique pour les structures en 3D basé sur la méthode numérique des intégrales finies dans le domaine temporel (FIT) [182]. Son principe de fonctionnement consiste à décomposer la structure à étudier en des formes de mailles élémentaires. Ce maillage doit être plus fin là où la géométrie présente des discontinuités. La seconde étape consiste à définir les conditions aux limites. Ces conditions aux limites sont nécessaires pour initialiser la valeur du champ électrique ou magnétique à des endroits particuliers de la structure. Ces conditions peuvent être de nature variée, avec par exemple des conditions sur des surfaces de type parfaitement électrique ou magnétique. Ensuite la structure finale à traiter doit contenir des informations concernant les constantes physiques des différents matériaux et les sources d'excitations. Enfin, les équations de Maxwell sous formes intégrales sont résolues en leur attribuant une forme linéaire sur chacune des faces des mailles qui construisent la structure. Puis, chaque forme linéaire des équations de Maxwell est mise en forme matricielle permettant d'avoir une réponse soit en régime transitoire soit en régime harmonique fréquentiel.

II.2.3.2 Modélisation numérique de l'antenne triaxiale

L'antenne triaxiale a été modélisée avec les dimensions données Figure 40. Les parties métalliques ont été considérées comme des conducteurs parfaits. La permittivité du téflon est égale à 2.1. La source d'alimentation a été modélisée par un port type guide d'onde présentant une impédance de 50- Ω . Pour comparer avec les mesures expérimentales effectuées dans le liquide équivalent, le milieu biologique a été modélisé comme étant une zone rectangulaire homogène de dimensions 6x6x4.5 cm. Les propriétés diélectriques du milieu biologique modélisées sont celle d'un tissu tumoral du foie présentées précédemment. L'antenne triaxiale a été simulée dans le domaine fréquentiel avec une onde continue à 2.45 GHz ayant une puissance de 1 W. La source d'alimentation a été modélisée par un port type guide d'onde présentant une impédance de 50- Ω placée à l'entrée du câble. Pour le signal d'excitation, une



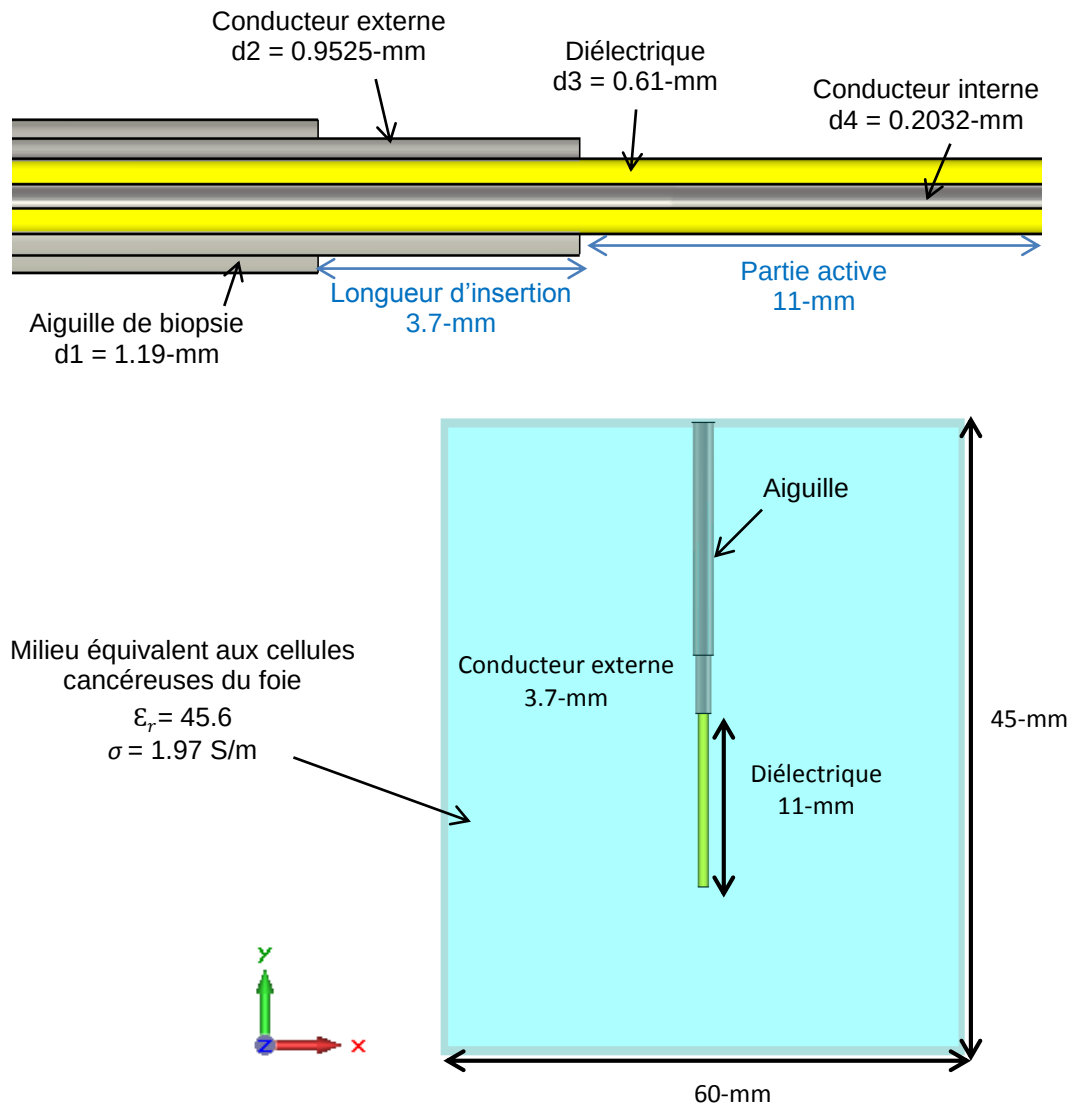


Figure 40 Antenne triaxiale modélisée et simulée.

impulsion bipolaire a été appliquée au port d'entrée. Le maillage est produit d'une manière automatique, ce qui assure un bon compromis entre la précision et le temps de simulation. Due aux différentes dimensions de la structure simulée et pour plus de précision, l'échantillon biologique a été maillé localement avec un maillage uniforme (Δx , Δy , Δz) hexaédrique de 250 μm alors que les différentes parties de l'antenne ont été maillées avec un maillage très fin de 50 μm .

II.2.3.3 Caractérisation fréquentielle

II.2.3.3.1. Coefficient de réflexion S_{11}

Les paramètres classiques de la caractérisation de la bande passante fréquentielle d'une structure sont les paramètres [S] : le coefficient de réflexion (S_{11}) et le coefficient de



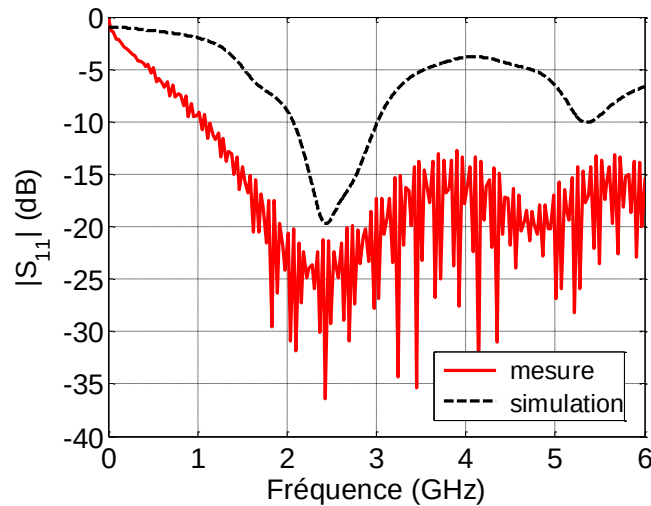


Figure 41 Coefficient de réflexion à l'entrée de l'antenne triaxiale immergée dans le liquide équivalent obtenu par mesure et simulation.

transmission (S_{21}), qui traduisent respectivement la partie d'énergie réfléchie et celle transmise par la structure. Ils sont exprimés en dB, ce qui signifie que plus le module du S_{11} est faible (ou grand en valeur absolue) et le module du S_{21} est grand (0 en dB ou 1 en linéaire), meilleure est l'adaptation et la transmission.

Pour étudier l'adaptation de l'antenne triaxiale à 2.45 GHz, le coefficient de réflexion a été mesuré et extrait de la simulation numérique à l'entrée de l'antenne plongeant dans un récipient contenant le liquide équivalent. Les mesures ont été effectuées sur une plage de fréquence allant jusqu'à 6 GHz en connectant l'antenne à un analyseur de réseau vectoriel (HP 8753, Agilent) calibré (plan de calibration au niveau de l'entrée de la cellule TEM) présentant une impédance d'entrée de 50 ohm. La Figure 41 montre que l'antenne résonne à 2.45 GHz avec un module du coefficient de réflexion S_{11} inférieur à -20 dB. Cette adaptation à 2.45 GHz a été obtenue pour une partie active de longueur 11 mm et une longueur d'insertion de 3.7 mm dans le tissu équivalent homogène. Les résultats de mesure et de simulation sont comparables. Des fortes variations ont été observées en mesure, due aux pertes en puissance à cause du faible diamètre du câble de l'antenne. Une différence des niveaux du S_{11} a été obtenue due aux atténuations supplémentaires en mesure en raison de la longueur réelle du câble de 2 m qui n'a pas été prise en compte dans la simulation.

II.2.3.3.2. Débit d'absorption spécifique DAS

La seconde étape de caractérisation consiste à déterminer la géométrie et la largeur de la zone d'ablation en évaluant le DAS.



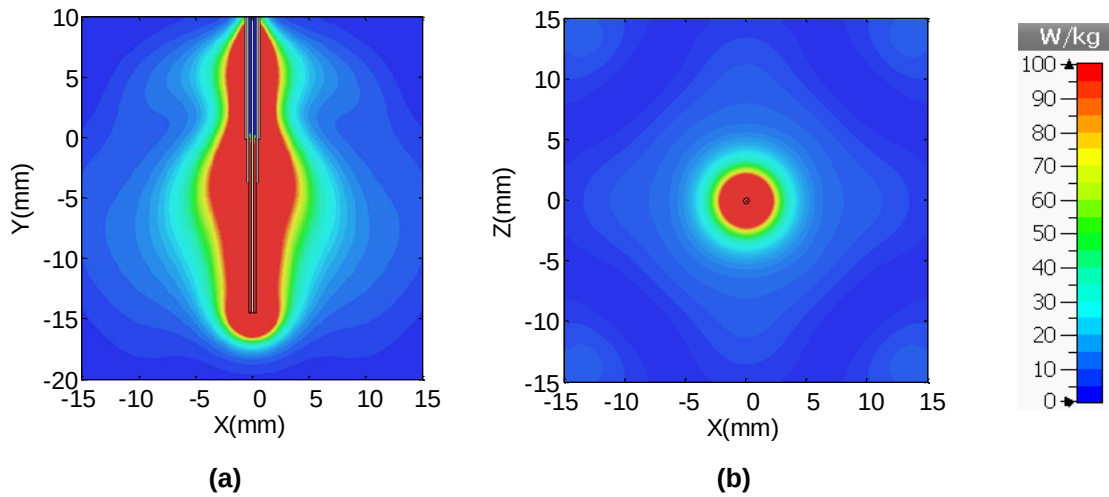


Figure 42 Distribution spatiale du DAS à 2.45 GHz pour l'antenne triaxiale immergée dans le liquide équivalent : a) coupe longitudinale le long de l'axe principal de l'antenne, b) coupe transversale au bout de la partie active de l'antenne.

Evaluation numérique du DAS : distribution spatiale

CST Microwave Studio permet d'effectuer directement des calculs dosimétriques, soit sous la forme de la puissance absorbée, ou sous la forme de DAS moyen ou DAS maximal dans l'échantillon biologique exposé.

Le DAS moyen est calculé en divisant la puissance totale absorbée dans l'échantillon biologique (diélectrique) P_a par la masse totale de l'échantillon m comme suivant :

$$DAS = \frac{P_a}{m} \text{ (W/kg)} \quad \text{équation II-1}$$

Le DAS maximal indique le DAS calculé dans un point de la solution, donné comme une valeur numérique par élément de volume sans moyennage massique ou volumique. Cette fonction, appelée DAS local, est de grand intérêt. Elle assure une visualisation de la distribution spatiale du DAS dans toute la solution qui ne peut pas être déterminée par les mesures. L'exactitude du DAS calculé dépend surtout de l'erreur de discrétisation, l'erreur d'approximation et du choix de l'algorithme utilisé pour le calcul du DAS. La distribution spatiale du DAS a été évaluée numériquement pour l'antenne triaxiale plongeant dans le liquide équivalent au tissu du foie pour une puissance incidente de 1-W et à une fréquence de 2.45 GHz.

La Figure 42 montre le résultat de distribution du DAS obtenue par simulation suivant deux plans de coupe : le plan xOy parallèle à l'axe de l'antenne à $z = 0$ (au milieu de l'épaisseur de l'antenne), et le plan xOz à travers la pointe de la partie active de l'antenne ($y = -15$ mm). La



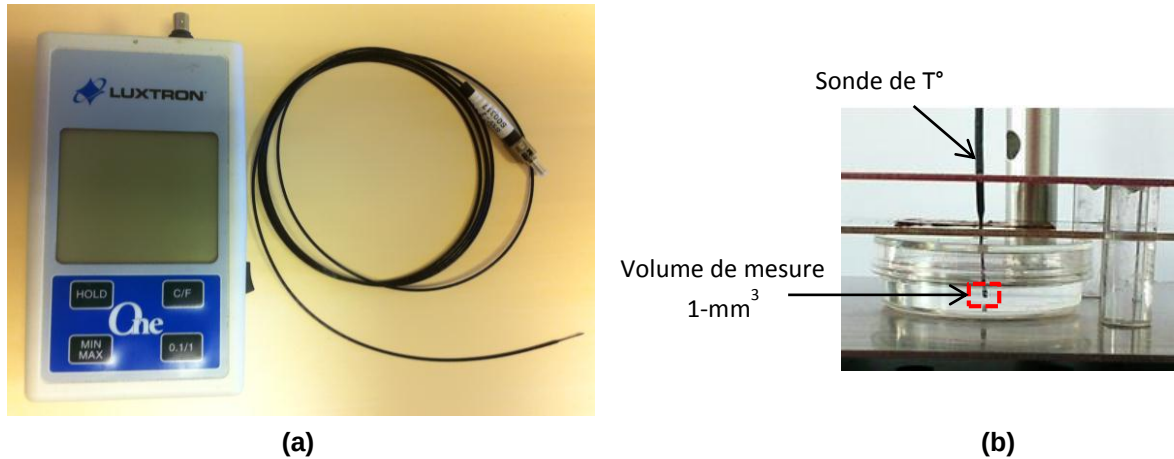


Figure 43 La sonde fluoro-optique accompagnée d'un boîtier pour les mesures de température (Luxtron One, Lumasense Technologies, CA, USA) (a) et le volume de mesure de la sonde (b).

la distribution du DAS donne des informations sur la capacité de ce modèle d'antenne micro-ondes à confiner le champ électromagnétique à proximité de sa partie active. Comme nous pouvons observer sur la Figure 42a, la distribution du DAS a une forme allongée le long de l'axe de l'antenne et symétrique autour d'elle. La distribution du DAS est confinée entre la position de l'aiguille de biopsie et la pointe de l'antenne, et le pic a eu lieu au niveau de la position de base de l'antenne (à savoir, l'extrémité du conducteur extérieur à $y = -3.7$ mm). La zone exposée à un DAS supérieur à 50 W/kg (niveau pouvant induire un chauffage) est d'environ 1-cm de large (Figure 42b).

Evaluation expérimentale du DAS

Pour valider et compléter les simulations numériques, le DAS a été évalué expérimentalement par des mesures d'élévation de température. Les mesures de température ont été effectuées à l'aide d'une sonde fluoro-optique non perturbante au niveau de l'environnement électromagnétique, accompagnée d'un boîtier de mesure (Luxtron One, Lumasense Technologies, CA, USA) (Figure 43a). Le boîtier est connecté à un ordinateur par l'intermédiaire d'un câble USB et contrôlé par un programme informatique spécifiquement conçu pour ces mesures afin d'optimiser et d'automatiser la mesure de température. Les données de température sont enregistrées au rythme de 4 points par seconde. La sonde Luxtron est placée à proximité de la partie active de l'antenne plongeant dans la solution (Figure 44). Le volume de mesure de la sonde Luxtron est de 1 mm³ (Figure 43b). Le DAS a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$DAS = C \left. \frac{\partial T}{\partial t} \right|_{t=t_0} \quad \text{équation II-2}$$



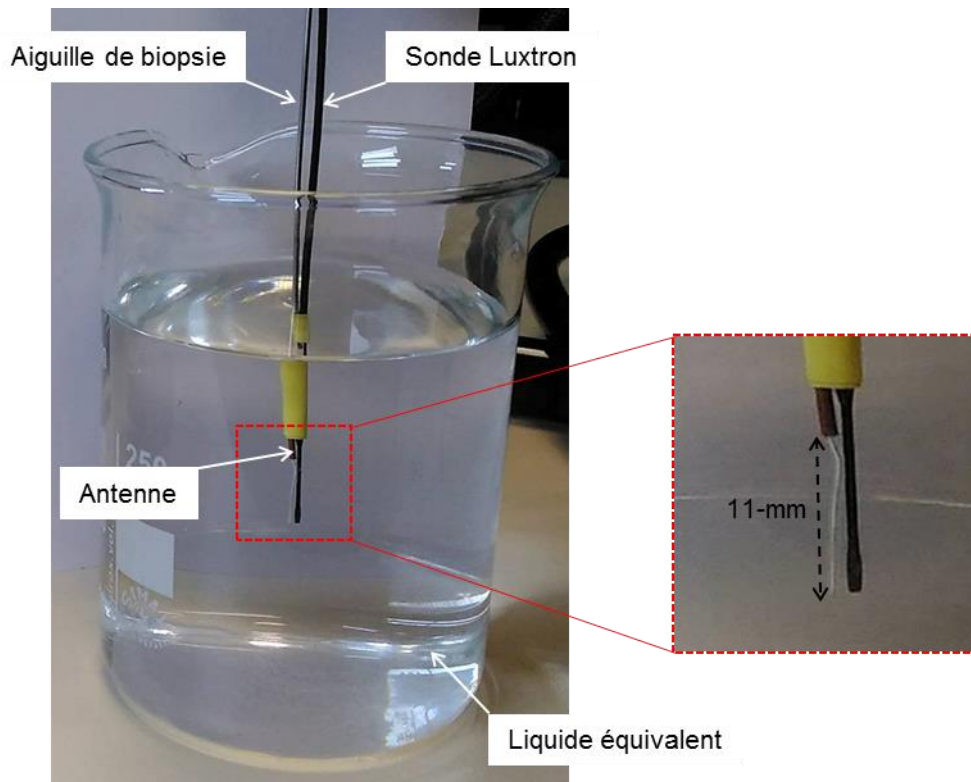


Figure 44 Photo de l'antenne triaxiale plongeant dans le liquide équivalent avec la sonde de mesure de température placée à proximité de la partie active de l'antenne pour mesurer le DAS à 2.45 GHz.

où C est la capacité thermique massique du milieu considéré, $4186 \text{ J}/(\text{kg} \cdot \text{K})$ et $\partial T/\partial t$ correspond à la pente initiale du taux d'augmentation de la température en fonction du temps.

Les résultats de mesures montrent que les valeurs du DAS expérimentales (Figure 45) sont conformes aux simulations. Une valeur du DAS très élevée de $220 \text{ W/kg/W}_{\text{inc}}$ (normalisée par 1 W de puissance incidente) a été obtenue par les mesures au bout de la partie active de l'antenne.

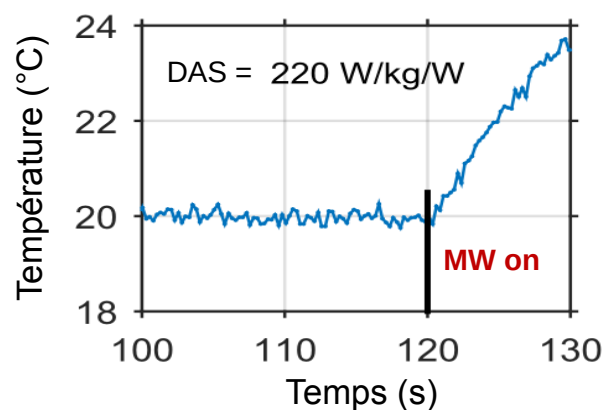


Figure 45 DAS expérimental à 2.45 GHz calculé à partir des mesures d'élévation de température obtenues par la sonde Luxtron placée au bout de la partie active de l'antenne.



II.2.4. Conclusion

Dans cette partie, une antenne triaxiale a été développée pour l'exposition *in vivo* des tumeurs cancéreuses à 2.45 GHz. Une caractérisation expérimentale et numérique a été conduite dans un liquide ayant les propriétés diélectriques d'un tissu cancéreux du foie.

Les résultats de la caractérisation fréquentielle ont montré que l'antenne résonne à 2.45 GHz, pour une insertion de 15 mm dans le liquide équivalent. La distribution du DAS a été aussi évaluée. Il a été démontré que l'antenne est capable de confiner le champ électrique autour de sa partie active. La zone exposée est d'environ 1-cm de large.

Le travail sur cette antenne doit être approfondi. Comme perspective, nous chercherons également à effectuer une dosimétrie *in situ* dans un milieu inhomogène représentatif du tissu cancéreux à traiter. Une autre étape importante, consistera à insérer l'antenne dans un modèle de tube digestif pour évaluer la limitation de ce câble en termes de flexibilité. Le câble de l'antenne étant semi-rigide, il est possible que sa distorsion dans le tube digestif (Figure 46) ne soit pas pratique et affecte ses performances électromagnétiques. Le développement d'un câble flexible ayant un diamètre assez réduit peut être une bonne solution (indisponible dans les câbles flexibles commercialisés présents à ce jours).

Dans la partie suivante de ce chapitre, nous présenterons la conception et la caractérisation électromagnétique d'une cellule TEM modifiée pour permettre la visualisation microscopique en temps réel d'un échantillon biologique exposé aux signaux de télécommunications sans fils.

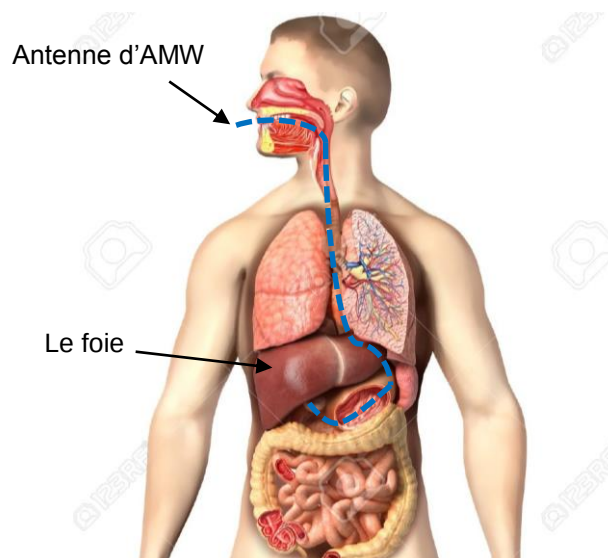


Figure 46 Trajet d'insertion de l'antenne d'AMW dans le foie par voie endoscopique.





II.3. Caractérisation expérimentale et numérique d'un système pour l'exposition en temps réel

II.3.1. Problématique d'exposition en temps réel

Comme illustré dans le premier chapitre, différents systèmes d'exposition ont été développés pour étudier les effets sanitaires des ondes EM [127], [156], [157]. Pour l'investigation en temps réel, quelques systèmes ont également été conçus pour permettre la surveillance de l'échantillon en utilisant l'imagerie microscopique. Pour tenir compte de l'objectif du microscope inversé, ces systèmes ont été adaptés par l'addition d'une ouverture qui permet l'accès au système par l'intermédiaire d'un objectif de microscope. À l'inverse de la microscopie optique classique où la lumière arrive sur l'échantillon par le bas et où l'observation se fait par le dessus, pour le microscope inversé la source de lumière est placée au-dessus de l'échantillon et l'objectif en dessous [158]. Cependant, une telle ouverture pour le microscope peut perturber de façon significative le champ électrique induit à l'intérieur de l'échantillon et ainsi modifier les performances du système d'exposition.

Pour les études *in vitro* sur les effets biologiques des RF induits à l'échelle microscopique, la cellule transverse électromagnétique (TEM) est un dispositif d'exposition couramment utilisé [129], [132], [159]–[161]. Une cellule TEM avec une ouverture dans le centre de la plaque inférieure a été proposée pour l'observation microscopique en temps réel des cellules exposées [162]. Le diamètre de l'ouverture est comparable à celui de l'objectif du microscope. En raison de sa grande taille, l'effet de l'ouverture sur la distribution du champ électrique à l'intérieur de l'échantillon exposé doit être évalué avec précision.

Dans cette partie, nous proposons de fermer l'ouverture avec un matériau conducteur optiquement transparent. Nous avons choisi l'oxyde d'indium-étain (ITO) comme il est l'un des meilleurs candidats parmi les oxydes conducteurs transparents [163].

Après avoir présenté le système modifié, l'objectif de ce travail est d'analyser l'impact de l'ouverture par rapport à son diamètre et la fréquence des ondes électromagnétiques, et d'évaluer le rôle de la couche d'ITO sur l'énergie absorbée par un échantillon biologique exposé à un champ EM.

II.3.2. Présentation de la cellule TEM

La géométrie et les dimensions de la cellule TEM ouverte contenant une boîte de Petri étudiée dans ce travail sont présentées dans la Figure 47. Nous avons déjà utilisé cette cellule



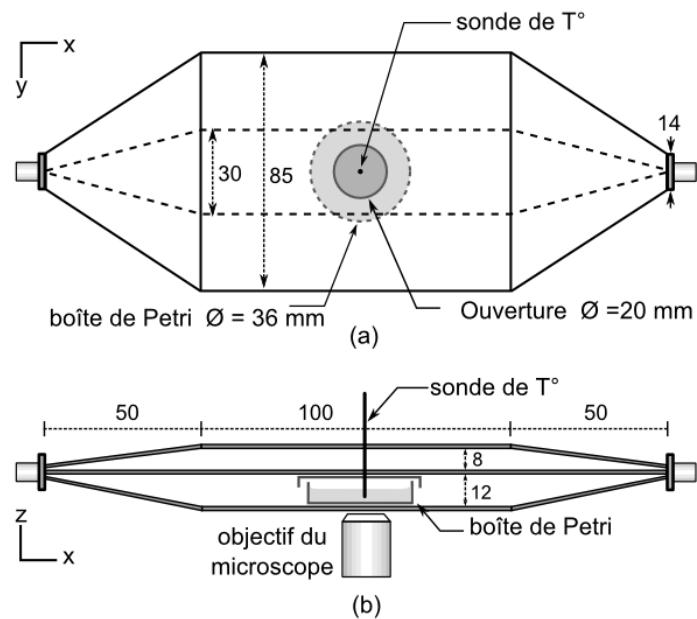


Figure 47 Cellule TEM contenant une boîte de Petri: (a) vue de dessous, (b) vue de côté. Dimensions en mm.

TEM comme système d'exposition des cellules vivantes aux micro-ondes [131], [132], [164]–[166] et aux champs électrique pulsés de durée nanoseconde [154], [162], [167]. La structure est constituée d'un guide d'onde rectangulaire ouvert de 20-mm de hauteur. La cellule TEM comporte une plaque conductrice centrale de 200-mm de longueur et de 30-mm de largeur appelée septum. Le septum est parallèle à deux parois métalliques de largeur 85-mm, reliées à la masse. Le septum est en cuivre pour assurer une bonne conductivité tandis que les parois extérieures sont en acier inoxydable. Les transitions d'entrée et de sortie de la cellule TEM sont coniques pour l'adaptation d'impédance.

L'avantage principal de ce type de cellule TEM, où la hauteur est relativement faible par rapport à la largeur du septum est sa capacité à générer un champ électrique et magnétique uniforme (mode TEM) sur la largeur et la hauteur de la cellule TEM [166]. Le positionnement d'une boîte de Petri en plastique de 36-mm de diamètre à l'intérieur de la cellule TEM entre le septum et la paroi métallique inférieure permet d'exploiter cette uniformité de champ. Une petite ouverture est percée au centre de la paroi supérieure de la cellule TEM et du septum pour pouvoir introduire des sondes qui mesurent l'évolution de la température au cours de l'exposition aux champs EM. Plus généralement, ceci permet au biologiste d'avoir un accès pratique au milieu exposé. En raison de la taille de l'objectif du microscope, une ouverture de 20-mm de diamètre est aussi percée au centre de la paroi inférieure pour visualiser en temps réel l'échantillon exposé et faciliter la compréhension des effets biologiques induits.



Cette structure présente originalité importante. Elle permet d'exposer les cellules dans leur milieu de culture à des champs EM sans qu'il y ait contact direct entre les électrodes et le milieu biologique. La boîte de Petri permet ainsi d'éviter d'éventuels réactions électrochimiques dont les électrodes sont le siège.

Après avoir présenté la cellule TEM considérée dans notre travail, les principales caractéristiques de l'ITO choisi en tant que matériau conducteur transparent pour fermer l'ouverture dans la plaque inférieure seront décrites dans la partie suivante.

II.3.3. Caractéristiques de l'ITO

L'oxyde d'indium-étain (ou oxyde d'indium dopé à l'étain ou ITO pour l'appellation anglaise : Indium tin oxide) est un mélange d'oxyde d'indium(III) (In_2O_3) et d'oxyde d'étain (IV) (SnO_2), dont la proportion massique typique est de 90 % du premier et 10 % du second [168]. Sous forme de poudre, l'ITO est de couleur jaune-vert. Lorsqu'il est déposé sur du verre ou du plastique transparent comme un film mince d'épaisseur maximale de 1- μm , il est transparent, incolore, et fonctionne comme un conducteur électrique. La caractéristique principale de ce composé est donc sa combinaison de conductivité électrique et de transparence optique.

L'ITO reste le choix de l'industrie en raison de ses propriétés idéales, de sa durabilité et de sa stabilité qui lui permettent d'être utilisé dans la fabrication des écrans plats des télévisions et des ordinateurs, dans les écrans tactiles des Smartphones, tablettes, GPS et autres dispositifs électroniques. L'ITO entre aussi dans la fabrication des panneaux solaires [169], des cellules électrochromiques [170] et dans la plupart des dispositifs optoélectroniques [171], ainsi que dans le développement d'antennes transparentes pour la communication sans fil [172]–[176].

II.3.4. Modification de la cellule TEM

Pour éviter les considérables perturbations du champ électrique induites dans l'échantillon biologique par l'ouverture de la plaque inférieure de la cellule TEM, tout en gardant la possibilité d'observation en temps réel au-dessus de l'objectif du microscope, nous avons pensé à exploiter les deux propriétés spécifiques de l'ITO (la conductivité et la transparence) pour fermer cette ouverture (Figure 48).

Pour de bonnes propriétés de conduction électrique de la couche d'ITO à des fréquences micro-ondes, l'épaisseur du matériau doit être suffisante. Typiquement, des épaisseurs de quelques centaines de nm, correspondante à un rapport épaisseur de peau/épaisseur de la couche d'ITO acceptable (2%), sont utilisées [177]. Il a été montré dans la littérature qu'une



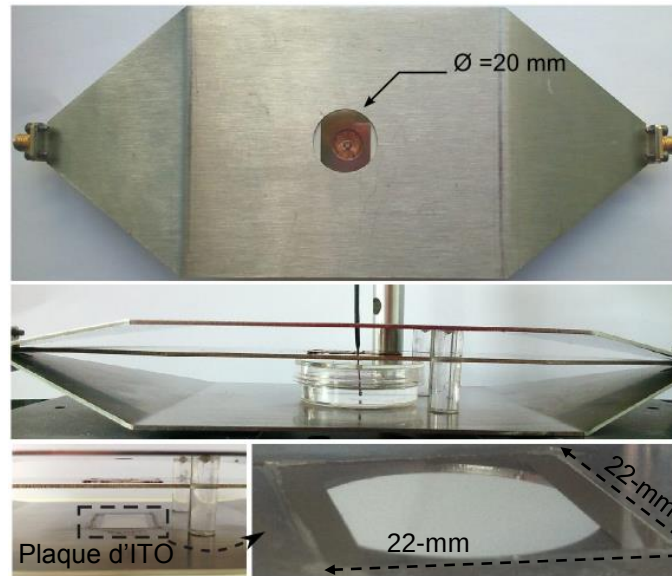


Figure 48 Photos de la cellule TEM et de la couche d'ITO placée dans la plaque inférieure de la cellule TEM (Vue de dessous, vue de côté et ouverture fermée avec la couche d'ITO. Dimensions en mm [178].

transparence optique de 90% a été atteinte pour une épaisseur de la couche d'ITO d'environ 370 nm [177]. Cette transparence diminue à 70% lorsque l'épaisseur augmente à 1100 nm. Avec une transparence optique inférieure à 70% l'observation microscopique des cellules biologiques devient plus difficile. Dans notre cas, une épaisseur de 700 nm a été choisie pour assurer un bon comportement conducteur. Avec cette épaisseur de la couche d'ITO, une transparence optique de 85% a été atteinte. La couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur est déposée sur une plaque de verre de 22-mm² avec une épaisseur de 170- μ m (Brand Indium-Tin-Oxide Coated cover slips, 06473B-AB, SPI Supplies, USA). Cette épaisseur correspond à la distance classique de travail de l'objectif du microscope pour avoir une haute résolution.

II.3.5. Caractérisation électromagnétique de la cellule TEM modifiée

II.3.5.1 Adaptation de la cellule TEM

II.3.5.1.1. Mesures des paramètres S_{ij}

Les coefficients de réflexion et de transmission de la cellule TEM sont mesurés sur une plage de fréquence allant de 30 kHz à 3 GHz. Ils sont obtenus en connectant l'entrée et la sortie de la cellule TEM à l'analyseur de réseau vectoriel (Figure 49).



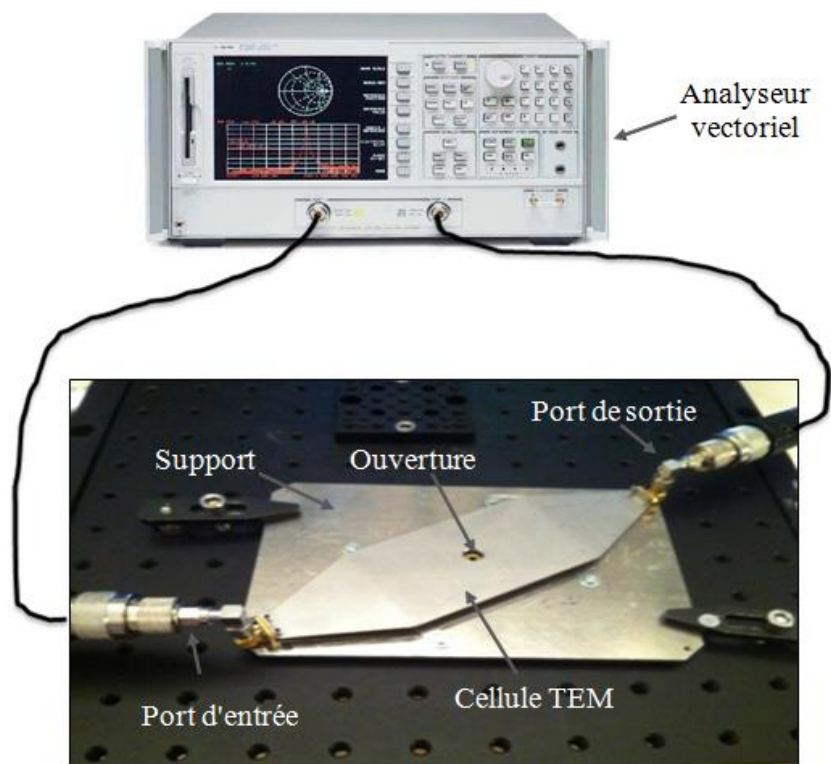


Figure 49 Montage expérimental de mesures des paramètres S.

Différentes configurations de la cellule TEM ont été mesurées pour étudier l'influence de l'ouverture dans la plaque inférieure de la cellule TEM, de la couche d'ITO et du milieu biologique sur l'adaptation du dispositif d'exposition.

En premier temps, pour étudier l'influence de l'ouverture et de l'ITO sur l'adaptation de la cellule TEM, trois différentes structures ont été mesurées pour la cellule TEM :

- contenant la boîte de Petri en plastique vide de 35-mm de diamètre, placée entre le septum et sa plaque inférieure.
- avec une ouverture de 20-mm de diamètre percée au centre de sa plaque inférieure au-dessus de la boîte de Petri vide.
- avec l'ouverture dans la plaque inférieure fermée par la couche d'ITO ([Figure 48](#)).

Les résultats obtenus pour ces mêmes configurations de la cellule TEM mais avec le milieu biologique seront présentés juste après.



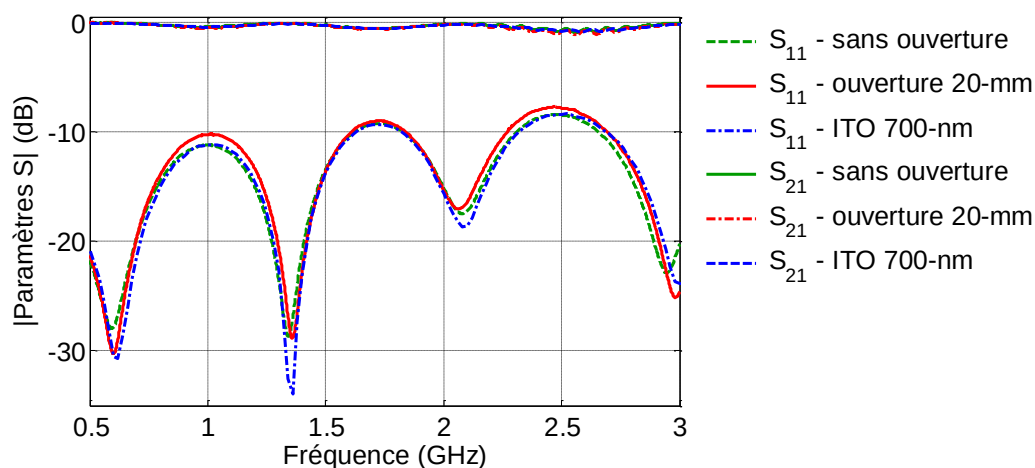


Figure 50 Mesures des coefficients de réflexion (S_{11}) et de transmission (S_{21}) de trois configurations de la cellule TEM contenant la boîte de Petri vide : la cellule TEM sans ouverture dans la plaque inférieure, avec une ouverture de 20-mm de diamètre, avec l'ouverture fermée par une lame en verre couverte avec une couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur.

Les modules des coefficients de réflexion et de transmission mesurés à l'entrée de la cellule TEM sont présentés à la Figure 50. Les résultats sont comparés pour les trois configurations différentes présentées précédemment sans le milieu biologique dans la boîte de Petri. Comme nous observons, pour les trois cas, les courbes sont presque confondues. Le coefficient de réflexion est inférieur à -10 dB sur une bande de fréquence allant de 0.5 à 3 GHz et le coefficient de transmission est compris entre -1 dB et 0 dB jusqu'à 3 GHz. Cela signifie qu'il y a au moins un facteur 10 entre la puissance réfléchie et celle incidente dans le système d'exposition, indiquant une bonne adaptation de la cellule TEM dans ses trois configurations. Ce résultat conforte alors le fait que la présence de l'ouverture et de l'ITO dans la plaque inférieure modifie très légèrement les paramètres de transmission et de réflexion de la cellule TEM gardant ainsi une très bonne adaptation d'impédance de la cellule TEM jusqu'à 3 GHz.

A noter que les résonances périodiques observées sont dues aux transitions entre les connecteurs et la cellule TEM. En effet, les minimums et maximums peuvent être associés à la longueur de la ligne de transmission et sont dues à la légère désadaptation entre les plaques de cellules TEM et les connecteurs coaxiaux. En considérant la longueur de 22-cm de la cellule TEM y compris les connecteurs, la fréquence équivalente à un dipôle demi-onde se situe autour de 650 MHz. Cette valeur de fréquence et ses harmoniques sont cohérents avec les minimums et les maximums des paramètres S_{11} sur la Figure 50.

De plus, pour s'assurer que le champ électrique est uniforme et perpendiculaire aux plaques de la cellule TEM dans la zone de test, c'est-à-dire que seul le mode TEM se propage,



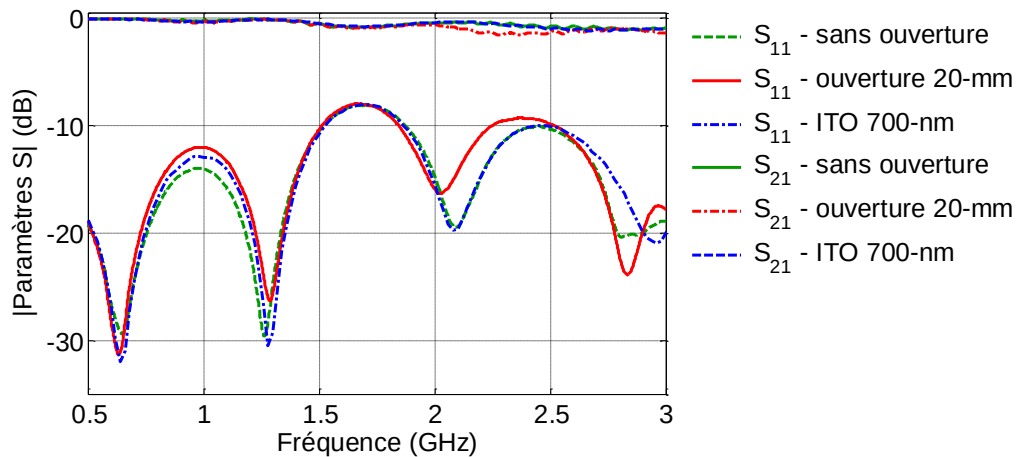


Figure 51 Mesures des coefficients de réflexion (S_{11}) et de transmission (S_{21}) de trois configurations de la cellule TEM contenant la boîte de Petri remplie de 3-ml de solution biologique: la cellule TEM sans ouverture dans la plaque inférieure, avec une ouverture de 20-mm de diamètre, avec l'ouverture fermée par une lame en verre couverte avec une couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur.

les fréquences de coupure des modes d'ordre supérieur ont été évaluées pour la structure conçue. Différentes méthodes sont proposées dans la littérature. Pour la cellule TEM proposée, la fréquence de coupure du premier mode de propagation d'ordre supérieur peut être extrapolée d'après les résultats proposés par Tsitsos et al et Yang et al [179], [180]. Compte tenu du rapport entre la largeur du septum de 30-mm et la hauteur de la cellule TEM de 21-mm, une fréquence de coupure autour de 6 GHz est obtenue. Cette valeur correspond à une structure symétrique, mais elle est suffisamment élevée pour conserver l'adaptation de la cellule TEM utilisée jusqu'à 3 GHz.

L'influence de la présence du milieu biologique sur la bande passante de la cellule TEM a été évaluée. Les mesures ont été faites pour les trois configurations présentées précédemment mais avec la boîte de Petri remplie de 3 ml de solution saline de conductivité électrique 2.55 S/m et de permittivité diélectrique relative 76. Les caractéristiques électriques (σ , ϵ_r) de la solution ont été obtenues par mesure à l'aide d'une sonde diélectrique (85070E Dielectric Probe Kit, Agilent, USA) à température ambiante et à une fréquence de 1.8 GHz. La solution saline représente un milieu de culture typique de cellules biologiques en suspensions.

La Figure 51 montre les résultats de mesure pour la cellule TEM sans l'ouverture, avec l'ouverture de 20-mm de diamètre et avec l'ouverture fermée par la couche d'ITO. Dans les trois cas la boîte de Petri est remplie par la solution saline. Comme observé dans la Figure 51, par comparaison avec les paramètres S de la Figure 50, la présence du milieu biologique a légèrement modifié le coefficient de réflexion dans les trois configurations sans changer



l'adaptation de la cellule TEM. D'après la [Figure 51](#), pour la cellule TEM fermée et celle avec la couche d'ITO, les coefficients de réflexions sont presque identiques et moins perturbés par la présence du milieu biologique. Dans le cas de la cellule TEM avec l'ouverture dans la plaque inférieure une faible élévation du paramètre S_{11} est observée aux hautes fréquences par rapport aux deux autres cas (sans ouverture et avec l'ouverture fermée par l'ITO). Cela peut être dû aux légères différences de fabrication entre les trois cellules TEM utilisées.

Pour résumer, la cellule TEM vide ou remplie par la solution saline, sans ou avec l'ouverture dans la plaque inférieure et avec l'ouverture fermée par la couche d'ITO présente une bande passante d'environ 3 GHz. Cela indique que la présence de l'ouverture et de l'ITO ainsi que le milieu biologique n'affectent pas l'adaptation de la cellule TEM. La cellule TEM n'induit pas des distorsions spectrales importantes du signal incident au moins jusqu'à 3 GHz. La cellule TEM est donc adaptée pour étudier les effets sanitaires possibles des signaux de télécommunications sans fil ayant des fréquences allant jusqu'à 3 GHz (GSM, Wi-Fi, Bluetooth...).

II.3.5.1.2. Impédance d'entrée

L'impédance à l'entrée de la cellule TEM appelée Z_e peut être déduite du coefficient de réflexion par l'équation suivante :

$$Z_e = Z_0 \frac{1 + S_{11}}{1 - S_{11}} \quad \text{équation II-3}$$

Où Z_0 est l'impédance caractéristique du générateur et des câbles coaxiales égale à 50Ω et S_{11} le coefficient de réflexion à l'entrée de la cellule TEM.

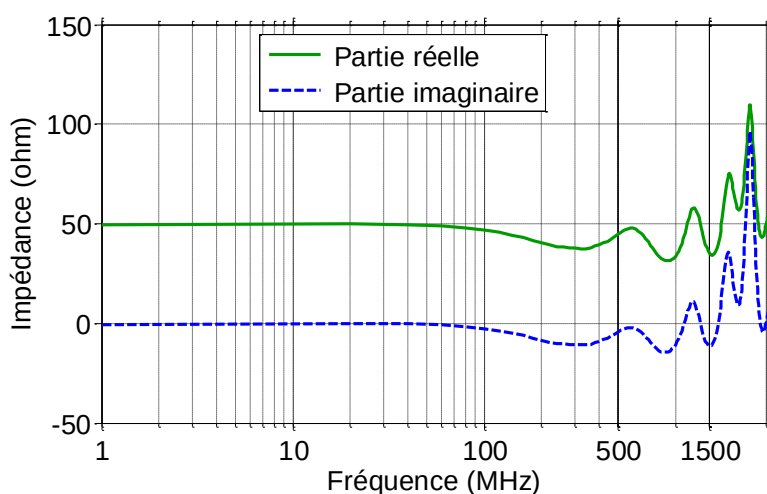


Figure 52 Partie réelle et imaginaire de l'impédance d'entrée de la cellule TEM avec la boîte de Petri remplie de solution en fonction de la fréquence.

La [Figure 52](#) présente les parties réelle et imaginaire de l'impédance d'entrée mesurée en fonction de la fréquence pour la cellule TEM avec la boîte de Petri remplie de solution. Comme nous pouvons observer, l'impédance montre un comportement résistif autour de $50\ \Omega$ jusqu'à environ 1.5 GHz. La variation des propriétés électromagnétiques (conductivité électrique et permittivité) de la solution est faible sur cette plage de fréquences [\[181\]](#). La présence du milieu biologique n'affecte pas l'adaptation du dispositif. Aux hautes fréquences, des oscillations de l'impédance apparaissent dues aux transitions entre les connecteurs et la cellule TEM comme déjà indiqué précédemment.

L'adaptation de la cellule TEM étant validée en fonction de la présence de l'ouverture de 20-mm de diamètre ainsi que la couche d'ITO et le milieu biologique, une étude paramétrique de l'influence de la taille de l'ouverture et de la couche d'ITO sur la distribution du champ et de la quantité d'énergie absorbée dans le milieu à différentes fréquences est nécessaire. Le débit d'absorption spécifique (DAS) est le paramètre significatif de la distribution du champ électrique et de l'énergie dans le milieu biologique. Le DAS sera évalué numériquement et expérimentalement dans la suite en fonction de plusieurs variables.

II.3.6. Débit d'absorption spécifique (DAS)

II.3.6.1 Evaluation numérique du DAS

Afin de comprendre le comportement des cellules biologiques soumises à des champs électromagnétiques et s'assurer que le système modifié pour permettre l'observation en temps réel fonctionne correctement, une approche numérique est nécessaire en s'appuyant sur la modélisation et la simulation numérique. Avant de présenter les différentes simulations effectuées, nous donnons une brève description du principe de fonctionnement de ce logiciel.

II.3.6.1.1. Modélisation de la cellule TEM

Pour évaluer l'influence de l'ouverture et de la couche d'ITO dans la plaque inférieure de la cellule TEM sur les performances du dispositif, différentes configurations de la cellule TEM contenant la boîte de Petri remplie de 3-ml de solution saline, ont été modélisées et étudiées :

- Une configuration sans ouverture dans la plaque inférieure ([Figure 53a](#)).
- Plusieurs configurations où le diamètre de l'ouverture varie de 2-mm à 20-mm ([Figure 53b](#)).



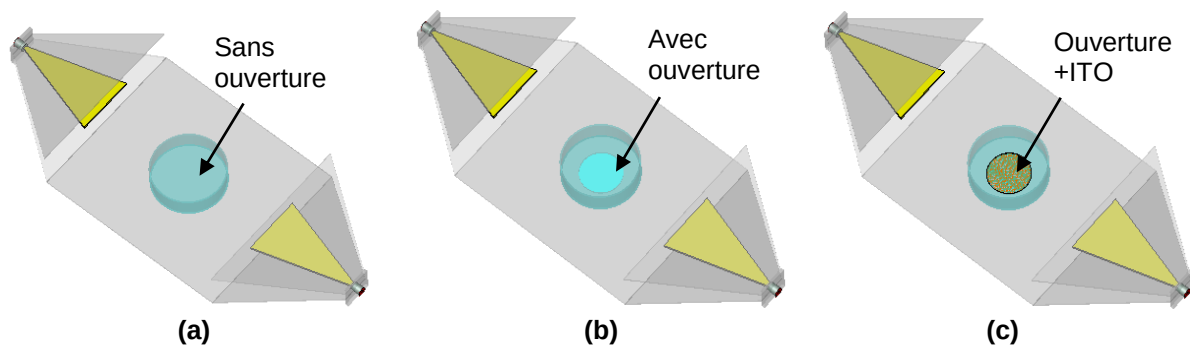


Figure 53 Cellule TEM modélisée : (a) sans ouverture dans la plaque inférieure, (b) avec une ouverture de 20-mm de diamètre, (c) avec l'ouverture dans la plaque inférieure fermée par une lame en verre couverte avec une couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur.

- Une configuration dans laquelle l'ouverture de 20-mm de diamètre a été fermée avec une couche d'ITO d'épaisseur 700-nm (Figure 53c).

La partie fabrication et réalisation sera détaillée ultérieurement lors de la présentation des mesures de DAS.

Chaque structure a été simulée et les résultats ont été extraits sur une bande de fréquence allant de 0.5 à 3 GHz, pour une puissance incidente de 1 W. Toutes les dimensions de modélisation sont présentées en Figure 54. La permittivité du Plexiglas de la boîte de Petri a été fixé à 2.5. Les propriétés diélectriques de la solution sont les suivantes : une conductivité de 2.5 S/m, une permittivité relative de 76 et une densité de masse volumique de 1000 kg/m³. Les parties métalliques ont été considérées comme des conducteurs électriques parfaits. La couche d'ITO a une conductivité de 1.3×10^6 S/m. La cellule TEM est conçue dans la direction horizontale (Figure 54) ; son grand axe est orienté le long de l'axe Ox, étant centrée dans l'origine du système des coordonnées, et sa hauteur est suivant l'axe Oy. Cela signifie que le vecteur de champ électrique est orienté dans la direction y et l'onde électromagnétique se propage suivant l'axe des x.

La source d'alimentation et la charge d'adaptation sont modélisées par des ports guide d'onde ayant une impédance de 50 Ω placées à l'entrée et à la sortie de la cellule TEM au bout des connecteurs SMA. L'échantillon biologique a été maillé localement avec un maillage uniforme (Δx , Δy , Δz) hexaédrique de 250 μm . Lorsque la couche d'ITO a été incluse, un maillage non-uniforme très fin Δy de 0.35 μm (égale à la moitié de l'épaisseur totale de la couche d'ITO de 700-nm) a été utilisé assurant une meilleure résolution.



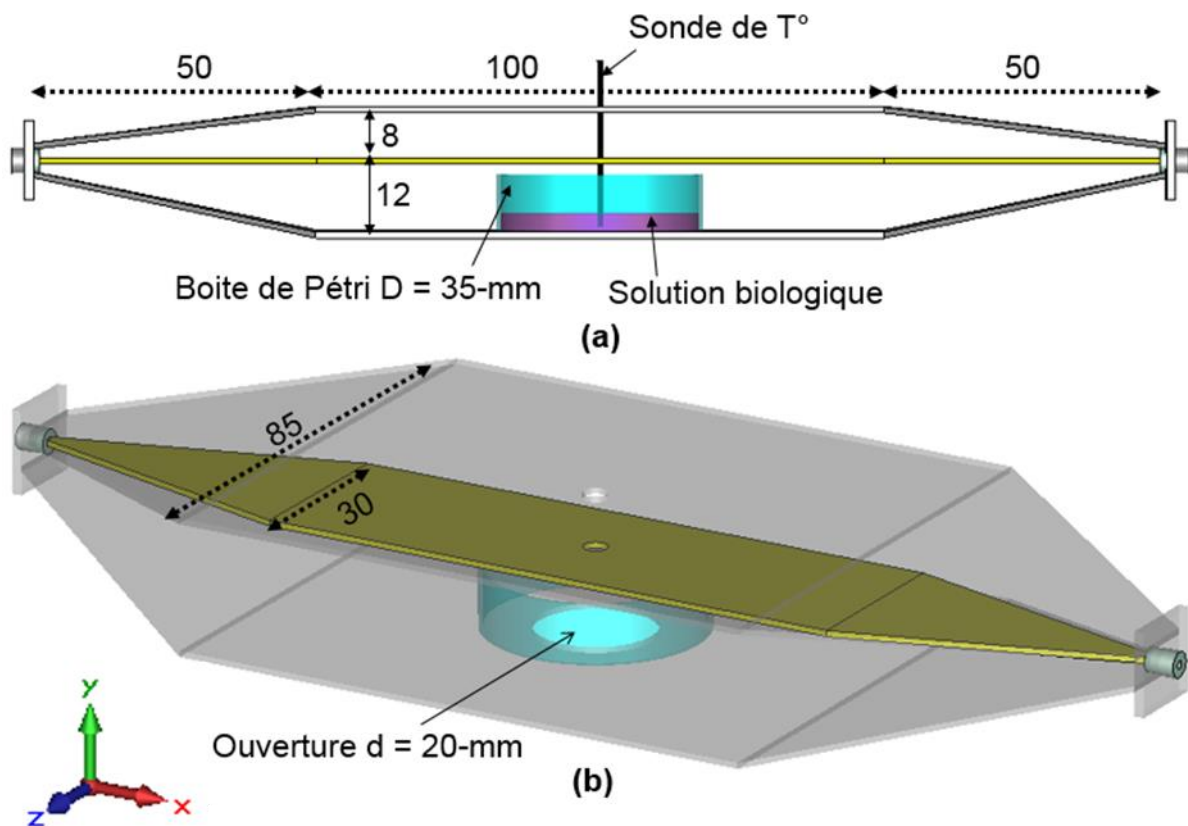


Figure 54 Dimensions de la cellule TEM modélisée par le logiciel CST : (a) vue de côté, (b) vue de dessus.

II.3.6.1.2. Influence de l'ouverture et de l'ITO sur le DAS

Dans un premier temps, une étude numérique de l'influence de la présence d'une ouverture et de la couche d'ITO dans la plaque inférieure de la cellule TEM sur la distribution spatiale du DAS et le DAS local dans le milieu biologique a été réalisée par différentes simulations.

Pour ces études, trois différentes configurations ont été simulées : la cellule TEM sans ouverture, avec une ouverture inférieure de 20-mm de diamètre et avec l'ouverture fermée par la couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur. Ce diamètre a été choisi pour correspondre aux dimensions de l'objectif du microscope.

Dans les trois cas, une boîte de Petri en plastique remplie de 3-ml de solution biologique est positionnée entre le septum et la plaque inférieure, au milieu de cette dernière. Autrement dit, la boîte de Petri est juste au-dessus de l'ouverture ou de la plaque d'ITO dans les deux derniers cas respectivement.



Distribution spatiale du DAS

Ces trois configurations ont été modélisées et simulées de la manière la plus réaliste possible comme décrit dans le paragraphe précédent. La distribution spatiale du DAS dans le milieu biologique a été obtenue pour une puissance incidente de 1-W. Le signal d'excitation est une onde CW avec une fréquence choisie de 1.8 GHz, typique de la fréquence porteuse du DCS (Digital Communication System), connu sous le nom de GSM-1800 (Global System for Mobile Communications). Nous avons choisi cette fréquence de travail puisqu'elle a été déjà utilisée dans de précédentes études effectuées au sein du laboratoire [131].

La Figure 55 montre la distribution du SAR à 1.8 GHz suivant deux coupes horizontale et verticale situées respectivement au fond et au milieu de l'échantillon biologique. La connaissance de la distribution de SAR est essentielle dans les études microdosimétriques des effets biochimiques au niveau cellulaire et subcellulaire. En comparant les résultats des deux dernières configurations avec celui de la cellule TEM sans ouverture, nous remarquons que la distribution du DAS est la même dans le cas de la cellule TEM fermée (Figure 55a) et celui de la cellule TEM avec l'ouverture couverte par la couche d'ITO (Figure 55c). Un très bon niveau d'homogénéité du DAS est obtenu. Tandis que pour la cellule TEM avec l'ouverture de 20-mm de diamètre, des niveaux élevés de DAS sont observés au-dessus de l'ouverture (Figure 55b). L'ouverture modifie de manière significative la distribution du DAS avec une augmentation d'hétérogénéité. Cela est dû au fort couplage du champ électrique au bord de l'ouverture.

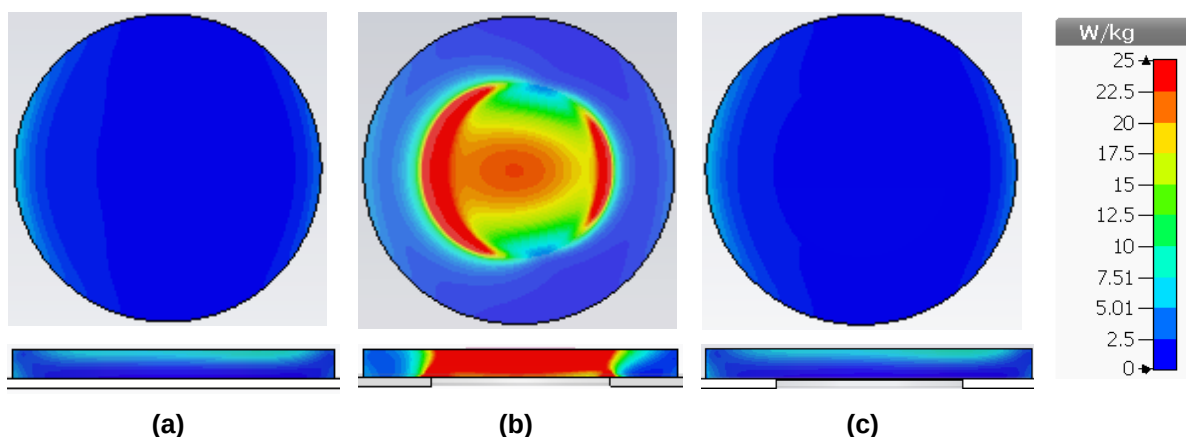


Figure 55 Distribution du DAS à travers la couche inférieure et une coupe verticale de l'échantillon biologique pour trois configurations différentes: (a) Cellule TEM sans ouverture, (b) cellule TEM avec une ouverture de 20-mm de diamètre dans la plaque inférieure 20 mm, (c) l'ouverture inférieure de 20-mm de diamètre fermée par une lame en verre couverte avec une couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur.

Un résultat biologique observé sur les cellules situées juste au-dessus de l'objectif du microscope ne peut pas être alors généralisé sur toutes les cellules du milieu exposé. La cellule TEM fermée par la couche d'ITO se comporte alors comme la cellule TEM sans ouverture en évitant les perturbations induites par l'ouverture.

DAS local

Des calculs dosimétriques numériques ont été aussi effectués pour obtenir le DAS local au centre du fond de la boîte de Petri. Le volume élémentaire choisi en simulation pour calculer le DAS locale est de 1 mm^3 . Ce volume correspond au volume de mesure au niveau de la sonde Luxtron utilisée pour mesurer le DAS (Figure 43b), ce qui permet d'obtenir quelque chose de comparable en simulation et mesure (le DAS mesuré sera présenté dans la partie qui suit les résultats du DAS numérique).

Tableau II-1 DAS localisé simulé pour 3 configurations à 1.8 GHz

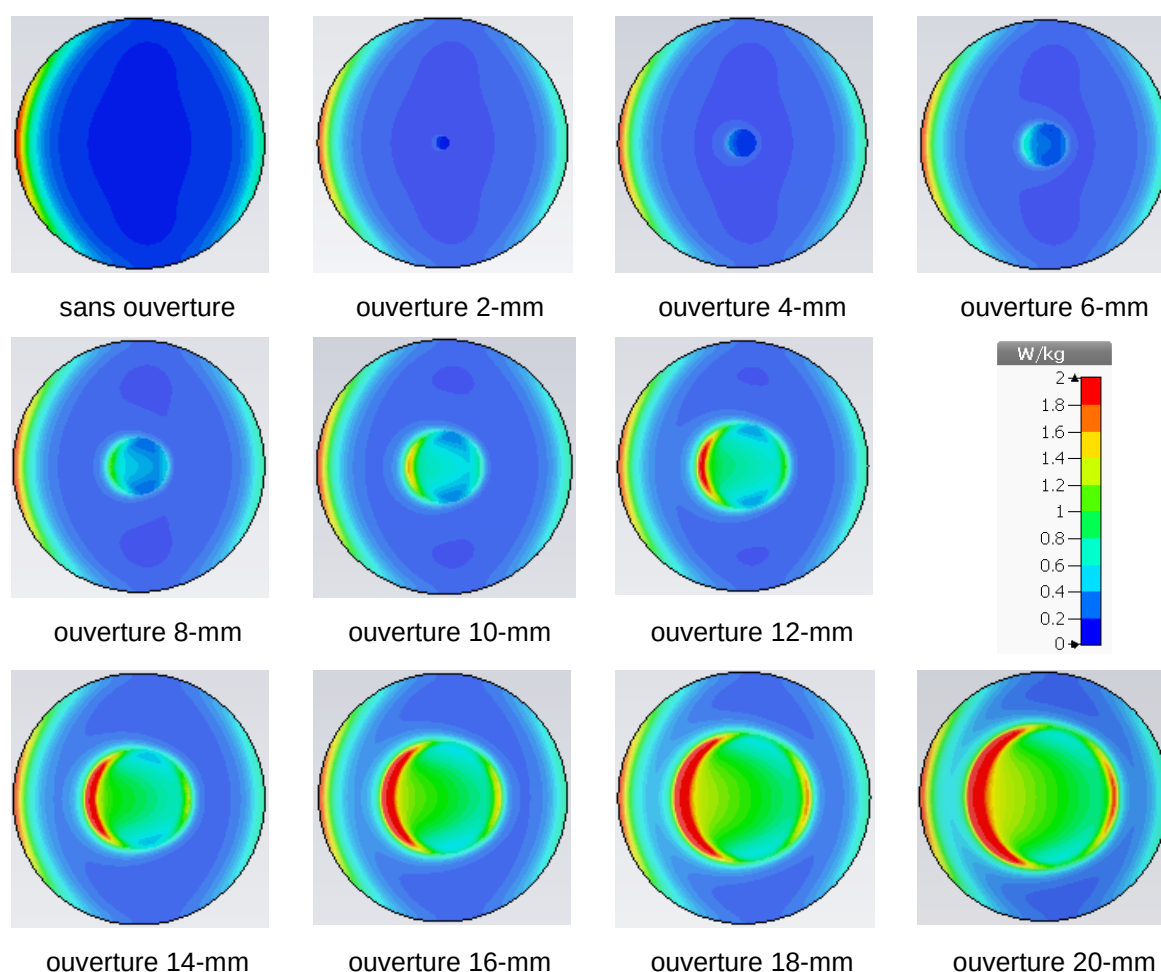
Cellule TEM	DAS (W/kg/W _{inc})
	Simulation
Sans ouverture	1.10
Avec une ouverture de 20-mm de diamètre fermée par la couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur	1.05
Avec une ouverture de 20-mm de diamètre	21.8

Les valeurs du DAS local des trois configurations différentes sont présentées dans le [Tableau II-1](#). Un bon accord a été observé entre les valeurs du DAS obtenues dans la cellule TEM sans l'ouverture et avec l'ouverture fermée par la couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur. Les valeurs du DAS local correspondant à ces deux dernières configurations sont respectivement 1.1 W/kg et 1.05 W/kg. Cela confirme la continuité électrique dans l'ouverture de la cellule TEM fermée par la couche d'ITO. Pour la cellule TEM avec l'ouverture de 20-mm de diamètre, une augmentation significative de la valeur du DAS local (21.8 W/kg) a été observée par rapport aux deux autres configurations. Ceci indique que la présence de l'ouverture circulaire affecte fortement le DAS local dans le centre de la solution biologique. La comparaison avec le DAS local mesuré sera faite ultérieurement.



Après avoir mis en évidence l'effet de la présence de l'ouverture sur l'homogénéité de l'exposition des cellules biologiques aux champs EM, ainsi que l'efficacité de l'ouverture en ITO pour garder des bonnes performances du dispositif, une étude paramétrique en fonction de la taille de l'ouverture et de la fréquence du signal d'excitation a été réalisée numériquement.

Pour plus d'information concernant l'influence de la taille de l'ouverture inférieure sur la puissance absorbée dans le milieu biologique, la distribution du DAS a été évaluée dans la solution pour différents diamètres d'ouverture et en fonction de la fréquence.



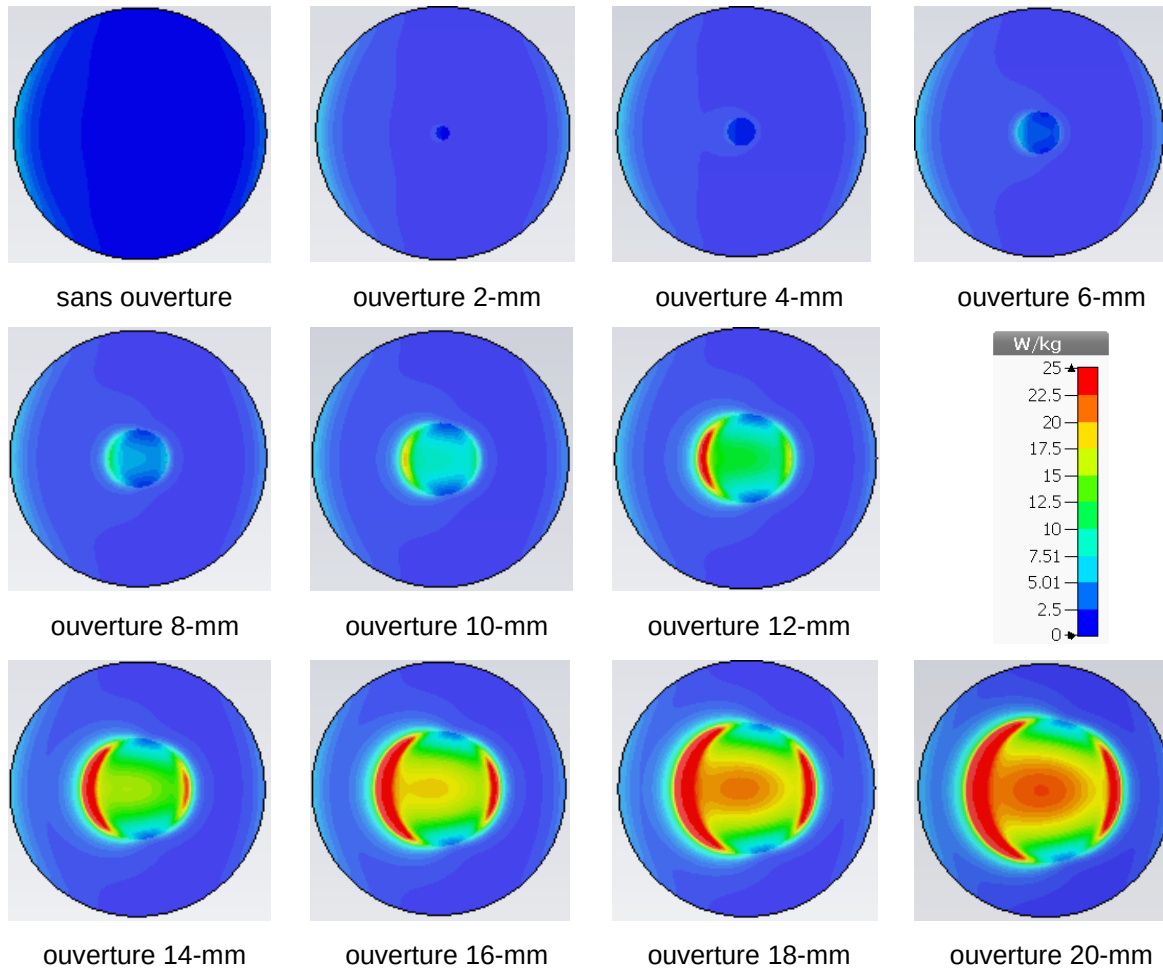


Figure 58 Distribution du DAS à 1.8 GHz à travers la couche inférieure de l'échantillon biologique obtenue pour différentes tailles de l'ouverture percée dans la plaque inférieure de la cellule TEM sans la couche d'ITO.

En ce qui concerne l'hétérogénéité en fonction de la taille de l'ouverture, comme on le voit dans les [Figure 56 - 58](#) et pour les trois fréquences différentes (0.9, 1.4 et 1.8 GHz), pour des ouvertures de diamètre inférieure à 8 mm l'inhomogénéité du DAS dans la solution biologique est acceptable ce qui indique que le champ électrique focalisé sur le bord de l'ouverture est faible. Au contraire, lorsqu'on augmente la dimension de l'ouverture au-delà de 8 mm, la variabilité du DAS augmente. Ceci indique que le champ électrique focalisé au bord de l'ouverture a augmentée induisant ainsi une inhomogénéité plus élevée du DAS dans la région située au-dessus de l'ouverture.

En se concentrant sur les niveaux des valeurs du DAS en fonction de la fréquence, qui traduisent les niveaux d'exposition vus par la solution, nous remarquons que pour une fréquence de 0.9 GHz ([Figure 56](#)), malgré l'hétérogénéité induite par les différentes tailles de l'ouverture,



un DAS maximal de 2 W/kg peut être obtenu pour un diamètre d'ouverture de 20-mm. Les cellules exposées à ce DAS maximal sont celles situées juste au-dessus du bord de l'ouverture. Cela indique que l'écart entre la valeur minimale du DAS à laquelle certaines cellules sont exposées et la valeur maximale ne dépasse pas 2 W/kg. Lorsque la fréquence augmente cette différence devient de plus en plus importante. Comme nous observons à 1.4 GHz (Figure 57), l'écart entre le DAS maximal obtenu dans la cellule TEM sans ouverture et celle avec une ouverture de 20-mm devient non négligeable et peut atteindre plus que 6 W/kg. A 1.8 GHz (Figure 58), les niveaux de DAS deviennent très élevés et peuvent atteindre 25 W/kg. En résumé, plus la fréquence est élevée, plus l'influence des différentes tailles d'ouverture augmente et les perturbations induites sont importantes.

En outre, le DAS moyenné dans le volume total en fonction de la fréquence et pour différentes tailles d'ouverture (diamètre variant de 0 à 20 mm avec un pas de 4 mm) a été calculé et représenté dans la Figure 59. Les propriétés diélectriques de la solution introduites dans CST sont celles mesurées à 1.8 GHz puisque ce logiciel prend en compte leurs variations en fonction de la fréquence. Dans tous les cas simulés, la valeur du DAS augmente avec la taille de l'ouverture et la fréquence jusqu'à 2 GHz (Figure 59). Au-dessus de 2 GHz, des résonances apparaissent à certaines fréquences pour toutes les configurations. Ces fréquences peuvent être liées aux fréquences de résonances du résonateur diélectrique cylindrique représentant la solution dans la boîte de Petri. Une variation importante du DAS est observée. Cette variation diffère d'une configuration à une autre, ce qui confirme l'effet non négligeable de la taille de l'ouverture sur la valeur du DAS en raison du couplage induit.

Pour la cellule TEM sans ouverture, la résonance du DAS obtenue par simulation s'est produite à 2.7 GHz. Une approximation analytique de la structure a été évaluée pour déterminer cette fréquence de résonance. Comme précisé auparavant, l'échantillon biologique placé dans la boîte de Petri est assimilable à un résonateur diélectrique cylindrique avec la plaque métallique inférieure de la cellule TEM étant considérée comme un court-circuit électrique. Les conditions de continuité aux autres interfaces de l'échantillon peuvent être approchées à un court-circuit magnétique dû au passage d'une haute permittivité diélectrique relative, $\epsilon_{r1} = 76$ pour l'échantillon liquide, à une faible permittivité diélectrique relative ($\epsilon_{r2} = 2.5$ pour la boîte de Petri et $\epsilon_{r3} = 1$ pour le vide).



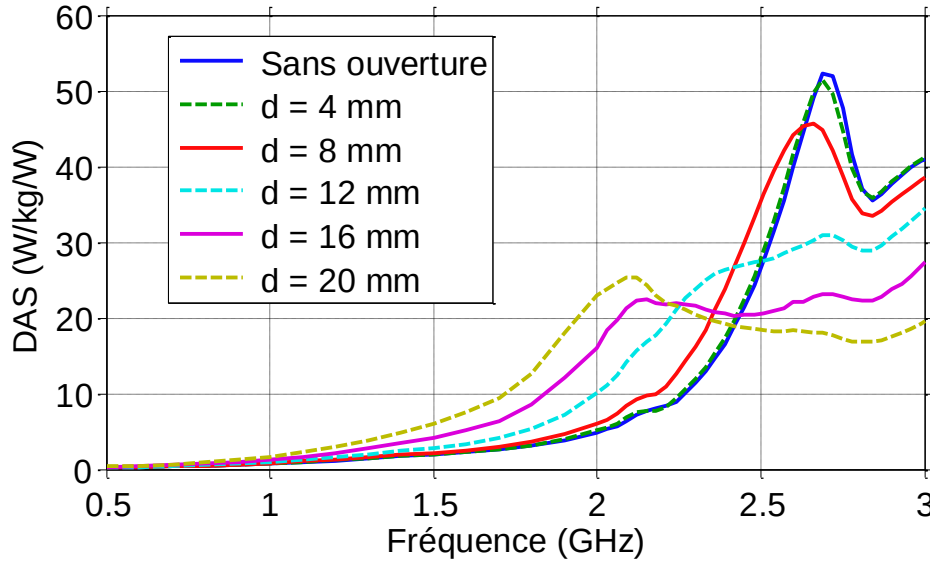


Figure 59 DAS moyenné sur le volume entier de la solution biologique en fonction de la fréquence pour différentes tailles d'ouverture (diamètre de 0, 4, 8, 12, 16 et 20 mm).

Les fréquences de résonance sont donc données par l'équation suivante :

$$f_{TE_{nm}} = \frac{c}{2\pi \sqrt{\epsilon_r \mu_r}} \sqrt{\left(\frac{\chi_{nm}}{a}\right)^2 + \left(\frac{\pi}{2h}\right)^2} \quad \text{équation II-4}$$

Où $h = 3.1$ mm et $a = 17.5$ mm représentent respectivement la hauteur et le rayon de l'échantillon biologique, χ_{nm} correspond à la $n^{\text{ième}}$ zéro de la fonction de Bessel d'ordre n , $c = 3 \times 10^8$ m/s est la vitesse de la lumière et $\epsilon_r = 76$ la permittivité relative de l'échantillon biologique.

La première fréquence de résonance théorique correspondant au mode TE_{01} est de 2.85 GHz. Les fréquences de résonance obtenues par approximation analytique et par simulation (Figure 59) sont donc du même ordre de grandeur.

II.3.6.2 Evaluation expérimental du DAS

Pour valider et compléter les simulations numériques, une évaluation expérimentale du DAS local à partir des mesures de l'élévation de température dans la solution biologique a été effectuée pour différentes configurations de la cellule TEM. Les résultats sont comparés à ceux obtenus par la simulation numérique.



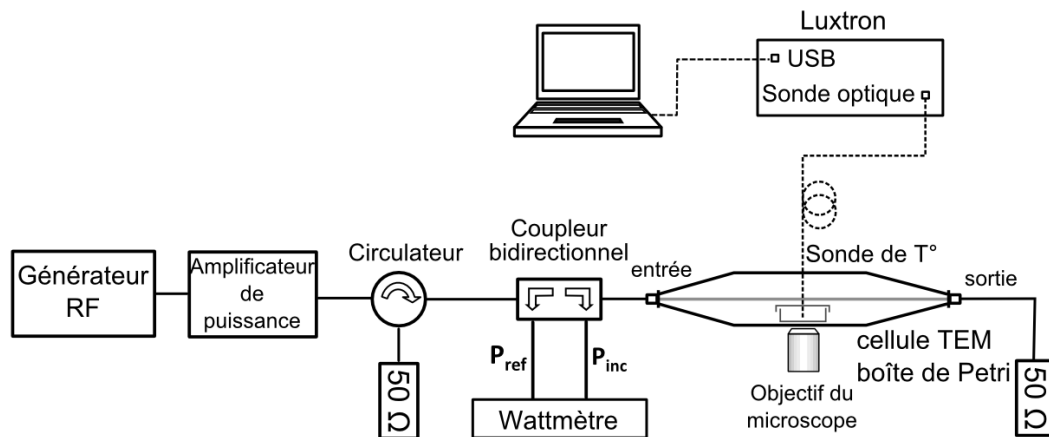


Figure 60 Montage expérimental développé pour les mesures de température (en utilisant la sonde Luxtron).

II.3.6.2.1. Montage expérimental de mesure du DAS

La Figure 60 montre un schéma du montage expérimental pour les mesures de DAS. La cellule TEM contient la boîte de Petri remplie de 3-ml de la solution saline. Les champs électromagnétiques de type CW de fréquence et de puissance ajustables ont été délivrés par un générateur de signal (HP8648B, Hewlett-Packard, USA) suivi d'un amplificateur de puissance de gain 40 dB (M.19.40.50. 850-1950.44.25, Nuclétudes, France). Un circulateur a été placé en sortie de l'amplificateur pour protéger des possibles réflexions. Une charge 50 Ω est placée en sortie de la cellule TEM pour assurer l'adaptation d'impédance. Le wattmètre, couplé à un coupleur bidirectionnel permet de mesurer les puissances incidente et réfléchie à l'entrée de la cellule TEM. Les mesures de température ont été effectuées à différentes positions dans la solution à l'aide de la sonde Luxtron. Avant l'exposition aux champs EM, un délai de 30 minutes était nécessaire pour garantir la stabilité de la température. Les mesures sont conduites dans les trois configurations de la cellule TEM étudiées précédemment.

Dans ce qui suit nous allons premièrement donner une brève explication de la procédure d'adhésion de la couche d'ITO à la plaque métallique inférieure de la cellule TEM.

II.3.6.2.2. Préparation de la cellule TEM avec la couche d'ITO

La plaque d'ITO utilisée pour fermer l'ouverture de 20-mm de diamètre est présentée dans la Figure 61. La couche d'ITO est caractérisée en termes de résistance carrée désignée par le symbole $R_{\square}$, exprimée en ohms par carré ($\Omega/\square$). La résistance carrée de cette couche d'ITO est de 8-12 $\Omega/\square$. Deux barres en argent sont imprimées aux deux bords opposés de la lame de verre, du côté de la couche d'ITO, pour assurer un bon contact électrique dans des applications où l'ITO doit être connecté électriquement à un dispositif donné comme dans notre cas. Chaque



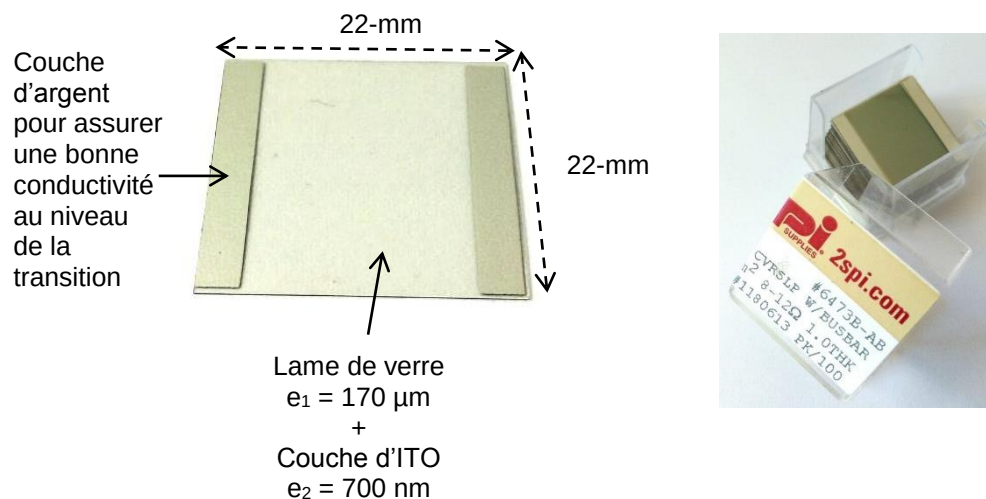


Figure 61 Les dimensions et la géométrie de la plaque d'ITO.

barre en argent a une largeur de 4 mm avec une résistance carrée inférieure à $0.2 \Omega/\square$ qui assure une meilleure conductivité électrique que l'ITO.

Différentes étapes ont été nécessaires pour coller la plaque d'ITO à la cellule TEM et pour s'assurer de la stabilité de son comportement électrique suite à l'élévation de la température lors de l'exposition RF du milieu biologique.

Au niveau de la fabrication, un carré ayant une surface de 22-mm^2 et une hauteur de $170\text{-}\mu\text{m}$ est gravé au centre de la plaque inférieure de la cellule TEM au-dessus de l'ouverture. La plaque d'ITO est déposée dans le carré gravé pour fermer l'ouverture. Elle est fixée à la plaque inférieure de la cellule TEM par une colle à base de l'époxy électriquement conductrice pour garantir l'absence de l'air au niveau du contact et assurer ainsi une bonne continuité électrique entre les barres en argent et la cellule TEM. La cellule TEM est ensuite placée dans un four à une température de 120°C pour cuire l'époxy. La cuisson de l'époxy est nécessaire pour la durcir et pour la rendre plus résistante aux changements thermiques lors des mesures de température. La colle à base d'époxy est préparée en mélangeant manuellement deux composants. Cette opération de mélange conduit à l'emprisonnement de bulles d'air dans l'époxy. L'apport de chaleur à l'époxy par cuisson permet de la dégazer et d'extraire les bulles d'air. Cela est indispensable pour optimiser les performances de conductivité de la colle époxy et améliorer l'homogénéité du joint de colle.

Dans un premier temps, l'époxy a été cuit à 120°C pour une durée d'une heure avant de commencer les mesures de température. Ensuite deux séries de mesures d'élévation de température ont été faites à deux temps différents après la cuisson. La [Figure 62](#) montre les



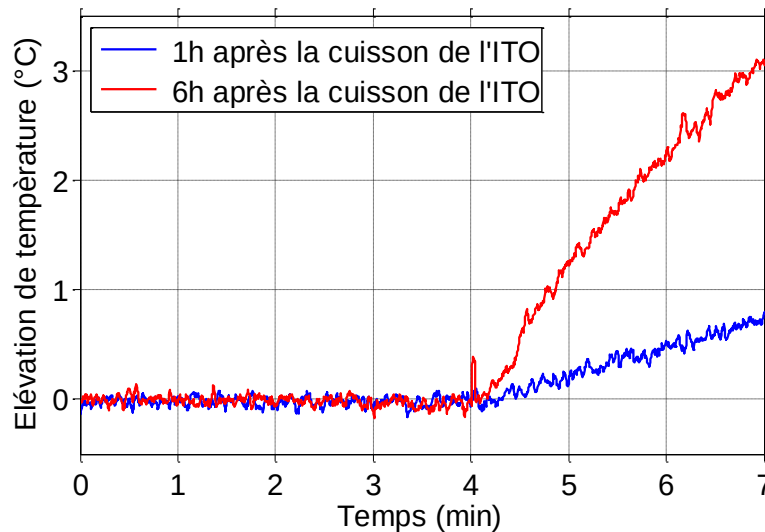


Figure 62 Les résultats de mesures de température pour l'exposition de 3-ml de la solution saline à une fréquence de 1.8 GHz et une puissance incidente $P_{inc} = 25$ W dans la cellule TEM avec l'ouverture de diamètre 20-mm fermée par la plaque d'ITO cuite une heure dans le four à 120°C. Mesures faites une heure et six heures après la cuisson.

résultats d'élévation de température obtenus pour une exposition de 3-ml de la solution saline contenu dans la boîte de Petri à un champ électromagnétique continu de fréquence 1.8 GHz et de puissance incidente $P_{inc} = 25$ W. La première série de mesure a été faite une heure après la cuisson de la cellule TEM dans le four. La deuxième série de mesure a été faite six heures après la cuisson de la cellule TEM avec les mêmes conditions d'exposition. Dans la [Figure 62](#) nous ne présentons qu'une seule mesure de chaque série puisque nous avons obtenu la même élévation de température pour les différentes mesures d'une même série. La comparaison des résultats de mesure des deux séries présentées dans la [Figure 62](#) montre deux élévations de températures différentes.

Pour une exposition de 3-min, une élévation de température de 0.7°C est obtenue dans la première mesure effectuée une heure après la cuisson tandis qu'une élévation de température de 3.1°C est obtenue six heures après la cuisson. Cela indique que la plaque d'ITO n'est pas vue de la même manière dans les deux cas. L'élévation de la température dans la solution en fonction du temps, c'est-à-dire la pente ($\partial T / \partial t$), est beaucoup plus élevée après six heures qu'une heure après la cuisson.

Le DAS a été calculé sur un intervalle de 30 secondes au début de l'exposition RF. Les valeurs de DAS sont présentées dans le [Tableau II-2](#). Nous avons fait 6 mesures pour chaque cas. Pour ces mesures primaires, l'écart-type a été calculé sur le nombre de mesures de chaque série sans prendre en compte l'incertitude de l'évaluation du DAS puisque nous nous



intéressons dans cette étude à la répétabilité du résultat dans chaque série de mesure. Comme le DAS est une quantité linéaire par rapport à la puissance incidente, il est pratique d'exprimer le DAS normalisé par unité de puissance incidente ($W/kg/W_{inc}$).

Tableau II-2 DAS localisé mesuré à 1.8 GHz pour la cellule TEM avec l'ouverture de 20-mm de diamètre fermée par la couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur, cuite une heure à une température de 120°C.

Temps des mesures	DAS ($W/kg/W_{inc}$)
	Mesures
Une heure après la cuisson	1.14 ± 0.25
Six heures après la cuisson	2.95 ± 0.22

En comparant les résultats figurant dans le [Tableau II-2](#), nous remarquons que le DAS mesuré six heures après la cuisson est presque le triple de celui obtenu par les mesures effectuées une heure après la cuisson. Cette élévation du DAS indique un changement dans le comportement de la cellule TEM. La cellule TEM n'est plus considérée comme une cellule TEM sans ouverture dans la plaque inférieure.

Deux hypothèses ont été supposées pour expliquer ce changement. La première hypothèse est la possibilité d'un changement dans les propriétés électriques de l'ITO données par la résistance carrée suite à l'exposition RF. La deuxième hypothèse que nous avons supposée est un problème d'instabilité au niveau du contact de la plaque d'ITO avec la plaque inférieure de la cellule TEM assuré par l'époxy métallique lors de l'exposition RF de la solution saline. Une mauvaise adhésion de l'ITO à la plaque inférieure de la cellule TEM conduit à la discontinuité du champ électrique au niveau du contact et le champ transmis à la solution saline n'est plus alors le même. Cela peut être dû à la durée de cuisson insuffisante de l'époxy.

Dans ce qui suit nous allons présenter les procédures effectuées pour étudier les deux hypothèses supposées ci-dessus.

Mesure de la résistance carrée de la couche d'ITO

Pour voir si l'exposition RF de l'ITO et l'élévation de sa température affecte ses propriétés électriques, la résistance carrée de la couche d'ITO collée à la cellule TEM et déjà utilisée pour l'exposition RF a été mesurée et comparée à celle d'une plaque d'ITO non exposée.



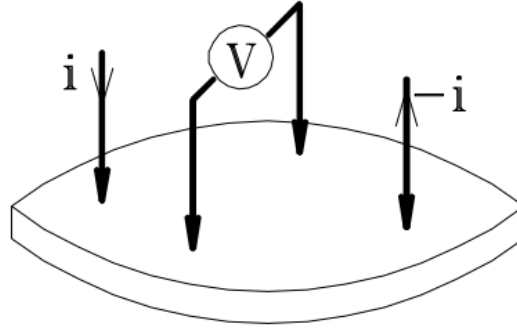


Figure 63 Méthode de mesure de la résistance carrée $R_{\square}$, exprimée en ohms par carré ($\Omega/\square$).

Lors de cette étude, la résistance carrée a été mesurée par la méthode des quatre pointes alignées et équidistantes de Valdès (avec une erreur de $1 \Omega/\square$). Cette méthode consiste à injecter un courant (I) à travers les deux pointes extérieures et à mesurer la différence de potentiel (V) entre les deux autres pointes (Figure 63).

La résistance carrée $R_{\square}$ est donnée par la relation suivante :

$$R_{\square} = \frac{\rho}{d} = \frac{1}{\sigma \times d} = \frac{U}{0.22 \times I} \quad (\Omega/\square) \quad \text{équation II-8}$$

Où ρ (Ω) est la résistivité, σ (S/m) est la conductivité et d (m) est l'épaisseur de la couche.

Le résultat de ces mesures montre que les deux couches d'ITO possèdent la même résistance carrée de l'ordre de $7.5 \Omega/\square$. Cette valeur de la résistance carrée est compatible avec celle donnée par les données commerciales de $8-12 \Omega/\square$. Ce qui prouve que les caractéristiques électriques de l'ITO restent stables et invariantes après son utilisation pour l'exposition RF de la solution saline. L'augmentation du DAS dans la solution après six heures de la cuisson n'est pas à priori due à un changement dans les propriétés de la couche d'ITO.

Recuisson de la cellule TEM avec la couche d'ITO

Pour vérifier la deuxième hypothèse, la même cellule TEM avec la même plaque d'ITO fixée avec l'époxy conductrice a été recuite dans le four à 120°C pour une durée plus longue de 12 heures. Des mesures d'élévation de température avec les mêmes conditions d'exposition ($f = 1.8 \text{ GHz}$, $P_{\text{inc}} = 25 \text{ W}$) ont été réalisées sur une durée de deux semaines après la cuisson.



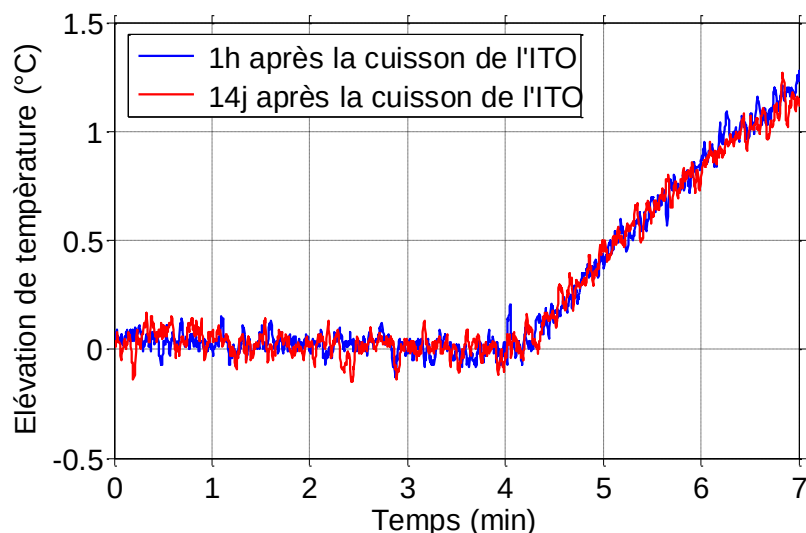


Figure 64 Les résultats de mesures de température pour l'exposition de 3-ml de la solution saline à une fréquence de 1.8 GHz et une puissance incidente $P_{inc} = 25 \text{ W}$ dans la cellule TEM avec l'ouverture de diamètre 20-mm fermée par la plaque d'ITO cuite 12 heures dans le four à 120°C. Mesures faites sur une durée de 14 jours après la cuisson.

La Figure 64 montre les résultats d'élévation de température dans la solution saline exposée à une fréquence de 1.8 GHz après une heure et 14 jours de la cuisson de 12 heures de la cellule TEM avec la couche d'ITO. Comme nous observons, les deux courbes de température sont confondues. La même élévation de température de 1.1°C est obtenue dans la solution saline pour une exposition de 3-min une heure et 14 jours après la cuisson. Cela indique que le comportement de la cellule TEM avec l'ouverture fermée par la couche d'ITO reste stable au cours du temps ce qui est indispensable pour la reproductibilité des résultats. La cuisson de l'époxy pendant une heure était alors insuffisante pour la dégazer totalement et assurer un contact parfait de l'ITO avec la plaque inférieure de la cellule TEM.

Tableau II-3 DAS localisé mesuré à 1.8 GHz pour la cellule TEM avec l'ouverture de 20-mm de diamètre fermée par la couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur cuite une heure à une température de 120°C.

Temps des mesures	DAS (W/kg/Winc)
	Mesures
Une heure après la cuisson	1.11 ± 0.2
14 jours après la cuisson	1.06 ± 0.17



Le DAS a été calculé à partir des courbes de mesures de température effectuées après une heure et 14 jours de la cuisson. Les valeurs de DAS obtenues et exprimées en $\text{W/kg/W}_{\text{inc}}$ sont présentées dans le [Tableau II-3](#). Des DAS de $1.11 \pm 0.2 \text{ W/kg/W}_{\text{inc}}$ et de $1.06 \pm 0.17 \text{ W/kg/W}_{\text{inc}}$ sont obtenus respectivement après une heure et 14 jours de la cuisson. La valeur du DAS est restée constante sur une durée de deux semaines indiquant ainsi la stabilité du comportement électrique de la cellule TEM avec la plaque d'ITO pendant les expositions RF.

II.3.6.3 Dosimétrie expérimentale

II.3.6.3.1. DAS Local

Des mesures d'élévation de température ont été effectuées au centre de la boîte de Petri contenant 3-ml de solution saline à une fréquence de 1.8 GHz pour les trois configurations différentes de la cellule TEM : sans ouverture dans la plaque inférieure, avec une ouverture de 20-mm de diamètre et avec l'ouverture fermée par la couche d'ITO. La puissance incidente a été réglée à 25 W et plusieurs mesures ont été réalisées pour chaque configuration. Les données de température sont représentées graphiquement dans la [Figure 65](#).

Le générateur RF a été allumé après 20 min d'acquisition (1 min seulement est représentée sur la [Figure 65](#)) pour s'assurer de la stabilisation de la température de la solution à la température ambiante de la chambre. Nous avons fait plus que 20 mesures pour chacune des trois configurations différentes pour confirmer la répétabilité des résultats.

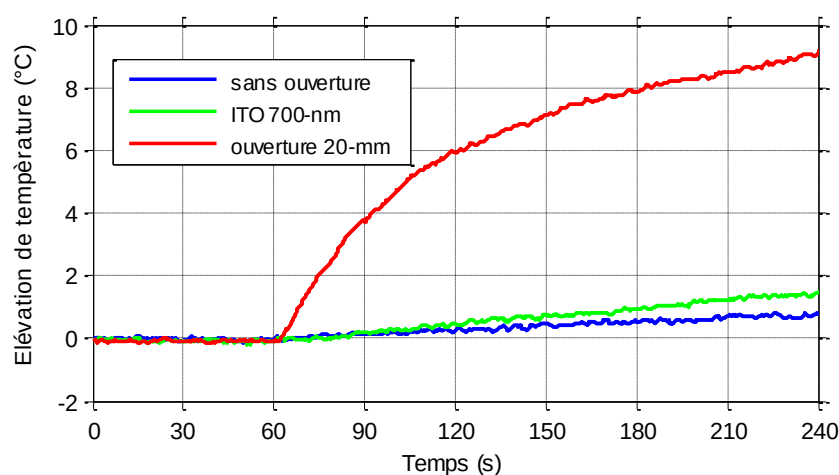


Figure 65 Mesures de température obtenues par la sonde Luxtron pour trois configurations différentes: cellule TEM sans ouverture dans la plaque inférieure (courbe bleue); cellule TEM avec une ouverture de 20-mm de diamètre (courbe rouge); ouverture fermée avec une couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur (courbe verte).



Le calcul de l'écart-type prend également en compte l'incertitude de l'évaluation du DAS en fonction du temps pour plus de précision. Nous avons utilisé une régression exponentielle des mesures de température pour calculer la dérivée de la forme exponentielle à la phase initiale ($t = 0$ s, RF on). La dérivée varie légèrement en fonction des paramètres choisis, notamment l'intervalle de temps pour le calcul de la régression. Dans notre cas, nous avons modifié l'intervalle de temps de 30 s à 120 s. Cela a permis de définir un écart-type sur les mesures. La régression exponentielle a été obtenue en utilisant une optimisation non linéaire et sans contrainte (derivative-free method, `fminsearch` matlab® optimization function).

Tableau II-4 DAS localisé mesuré et simulé pour 3 configurations à 1.8 GHz.

Cellule TEM	DAS (W/kg/W _{inc})	
	Mesures*	Simulation
Sans ouverture	1.17 ± 0.14	1.10
Avec une ouverture de 20-mm de diamètre fermée par la couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur	1.10 ± 0.13	1.05
Avec une ouverture de 20-mm de diamètre	23.6 ± 0.6	21.8

Les valeurs du DAS local associées aux mesures et l'écart type calculé à partir de la température sont résumées dans le [Tableau II-4](#) et comparées avec les valeurs obtenues par les simulations numériques. Le DAS est normalisé par unité de puissance incidente (W/ kg/W_{inc}). En comparant les résultats de mesures des différentes configurations nous observons que les mêmes valeurs du DAS sont mesurées dans la cellule TEM sans l'ouverture et avec l'ouverture fermée par la couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur (respectivement 1.17 ± 0.14 W/ kg/W_{inc} et 1.10 ± 0.13 W/kg/W_{inc}). Ces valeurs du DAS normalisées montrent aussi un excellent accord avec les simulations numériques, ce qui confirme l'efficacité de la fermeture de l'ouverture par la plaque d'ITO pour maintenir la continuité électrique dans l'ouverture. Pour la cellule TEM avec l'ouverture de 20-mm de diamètre, une même élévation forte de la valeur du DAS local a été observée en mesure et en simulation (respectivement 23.6 ± 0.6 W/ kg/W_{inc} et 21.8 W/ kg/W_{inc}) par rapport aux deux autres configurations de la cellule TEM. Le DAS dans la solution



est donc fortement perturbé due au couplage et à la discontinuité du champ électrique induite par la présence de l'ouverture.

Après avoir confirmé les valeurs numériques de DAS par des mesures d'élévation de température, des mesures de température supplémentaires ont été faites en déplaçant la sonde fluoroptique dans le milieu biologique pour étudier l'homogénéité du DAS dans la solution en présence de la couche d'ITO.

II.3.6.3.2. Evaluation de l'homogénéité du DAS

La Figure 66 montre les différents endroits de mesure de température dans la solution saline pour étudier l'homogénéité de la distribution du DAS. La cellule TEM utilisée est celle avec l'ouverture de 20-mm de diamètre fermée par la couche d'ITO. Une ouverture de 10-mm de diamètre est percée au milieu de septum. Cette ouverture est ensuite fermée par un ruban adhésif métallique en cuivre pour éviter l'effet de la présence de l'ouverture sur le champ électrique. Le ruban adhésif étant mince, il peut être percé facilement dans différents endroits pour introduire la sonde de mesure de température dans la solution. Cela permet de balayer la position de la sonde pour mesurer le DAS local dans plusieurs endroits de la solution.

Le DAS a été mesuré dans cinq endroits différents dans la solution biologique comme montre la Figure 66. La solution saline est exposée à une puissance de 25 W. La fréquence du signal est de 1.8 GHz. Six mesures d'élévation de température ont été effectuées à chaque position de la sonde. Le DAS a été calculé et exprimé en $W/kg/W_{inc}$ dans le tableau ci-dessous (Tableau II-5).

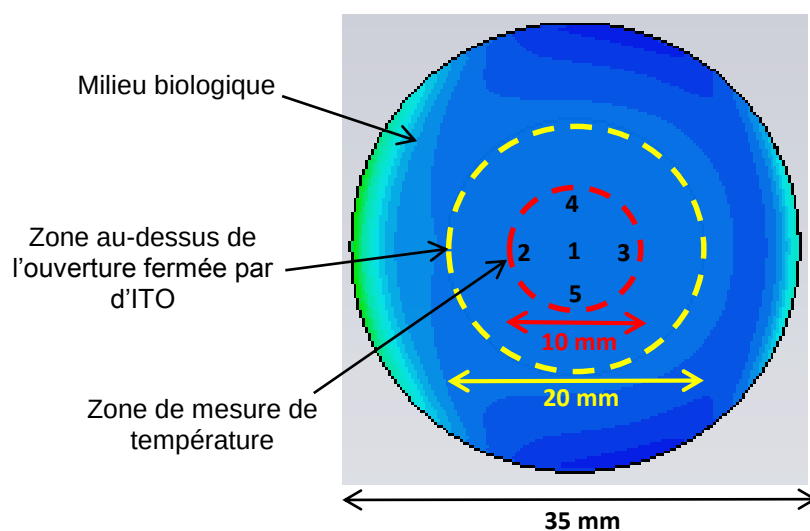


Figure 66 Emplacement des points de mesure de température avec la Luxtron.



Tableau II-5 DAS localisé mesuré à 1.8 GHz pour la cellule TEM avec l'ouverture de 20-mm de diamètre fermée par la couche d'ITO de 700-nm d'épaisseur cuite une heure à une température de 120°C.

Points de mesure	DAS (W/kg/Winc)
	Mesures
Point 1	1.10 ± 0.13
Point 2	1.13 ± 0.38
Point 3	1.06 ± 0.19
Point 4	1.18 ± 0.28
Point 5	1.01 ± 0.26

Comme nous observons dans le [Tableau II-5](#), la même valeur du DAS est obtenue dans les cinq endroits de mesure. Cela indique un très bon niveau d'homogénéité de la distribution du DAS dans la solution et confirme ainsi les résultats de simulations numériques dans les cellules TEM sans ouverture et avec l'ouverture fermée par l'ITO ([Figure 55a](#) et [Figure 55b](#)). Les cellules biologiques sont alors exposées à la même quantité d'énergie quel que soit leur emplacement dans la boîte de Petri.

Pour résumer, des simulations numériques et des mesures de DAS ont été effectuées pour montrer le rôle important que joue la couche d'ITO du point de vue électromagnétique. Dans le paragraphe suivant nous allons tester la visualisation des cellules biologiques dans la boîte de Petri sous l'objectif du microscope à travers la couche d'ITO.

II.3.7. Transparence optique de l'ITO

II.3.7.1 Préparation de l'échantillon biologique et microscopie à fluorescence

La lignée cellulaire de glioblastome humain U87MG (un type de cancer du cerveau) a été utilisée dans ces expériences. Les cellules ont été cultivées dans un milieu de culture complet (MEM supplémenté avec 10% de sérum de veau fœtal, de la glutamine, 100 µg/ml de pénicilline et 100 pg/ml de streptomycine ; Invitrogen) dans un incubateur à 37°C avec 5% de CO₂. Les cellules ont étéensemencées dans des boîtes de Petri contenant une lamelle en verre revêtue de poly-D-lysine (Fluorodish, WPI-Europe), à une densité de 1-2 x 10⁵ cellules par ml et laissées adhérer et croître pendant 48 heures avant les expériences. Les cellules ont été transfectées avec le vecteur CellLight[®] tubuline-GFP (Invitrogen) 18 heures avant les expériences et ensuite



marquées avec un ester méthyletétraméthylrhodamine (TMRM, Invitrogen) et du Hoechst-33342 (Invitrogen), pour visualiser les microtubules, les mitochondries et les noyaux, respectivement. Les milieux de culture et les colorants ont été enlevés et remplacés par 3 ml de solution saline HEPES (Live cell Imaging Solution, Invitrogen), afin de maintenir les conditions physiologiques en ce qui concerne l'osmolarité, le pH et le potentiel membranaire.

L'illumination par épifluorescence des cellules a été accomplie grâce à une source de lumière UV/visible/NIR (Spectra 7, Lumencor), couplée au microscope (DMI6000, Leica) par une fibre de quartz de 1 mm. La lumière dans l'ultraviolet (390/18), cyan (475/28) et vert (549/15) des canaux a été utilisée pour exciter le Hoechst-33342, la GFP et le TMRM, respectivement. La lumière émise a été séparée de l'excitation avec un diviseur de faisceau dichroïque (89100BS, Chroma) et sélectionnée par des filtres d'émission contrôlés par une roue à filtres (MAC 6000, Ludl). Les images ont été capturées par une caméra haute résolution pour microscopie (EMCCD Evolve 512, Roper) de résolution 512 x 512 pixels. Les cellules ont été illuminées sur de courtes durées (50 ms) pour minimiser le photo-blanchiment. Le bruit de fond des images a été corrigé avec une région d'intérêt ne contenant pas de cellules.

II.3.7.2 Imagerie cellulaire par microscopie à fluorescence en temps réel

Les images de cellules vivantes fluorescentes ont été acquises à haute résolution à travers l'ouverture couverte d'ITO et le fond de la boîte de Petri située dans la cellule TEM. Les cellules ont été marquées à l'aide de trois fluorophores couramment utilisés (Hoechst, GFP et TMRM) pour démontrer le potentiel de cette configuration dans des expériences d'imagerie en temps réel des cellules vivantes. La combinaison de la couche de verre mince d'ITO avec la lame de plastique de la boîte de Petri augmente le trajet optique et impose par conséquent une limitation sur le choix de l'objectif. Néanmoins, l'utilisation d'objectifs ayant une grande distance de travail évite cette limitation, permettant la visualisation à haute résolution des compartiments sous-cellulaires et des organites ([Figure 67](#)).



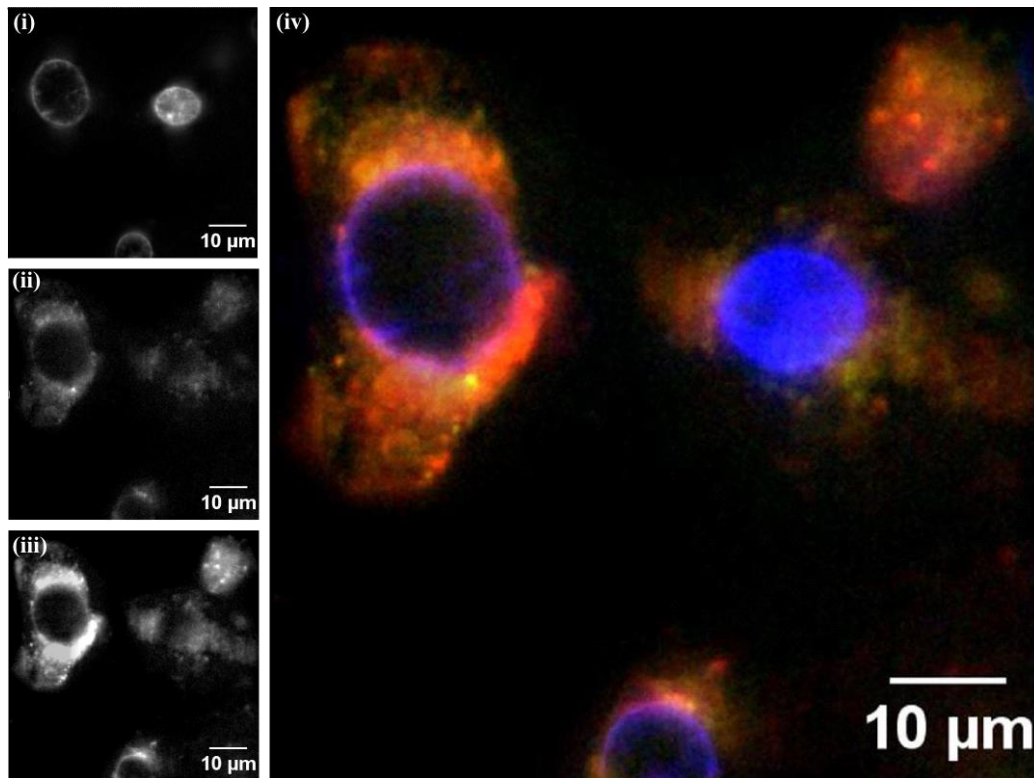


Figure 67 Cellules U87 observées en fluorescence multimodale à travers l'ouverture ITO de la cellule TEM. Les cellules ont été marquées avec des fluorophores pour discriminer i, le noyau (Hoechst-33342), ii, les microtubules (tubuline couplée à la GFP), iii, les mitochondries (TMRM), iv, une image combinée des trois canaux de fluorescence. Les images ont été capturées avec un objectif LEICA HCX 40x à distance de travail élevée (N.A. 0.75).

II.3.8. Conclusion

Dans cette partie, une cellule TEM modifiée a été proposée pour permettre l'observation en temps réel des cellules biologiques durant leur exposition aux micro-ondes. Une ouverture de 20-mm de diamètre a été percée dans la plaque inférieure de la cellule TEM et fermée avec une couche d'ITO d'épaisseur 700-nm, un matériau spécifique avec à la fois une bonne conductivité électrique et une transparence optique. Cet applicateur permet l'exposition des cellules dans leur milieu de culture sans aucun contact avec les électrodes.

Pour déterminer les meilleures conditions d'exposition et mettre en évidence l'importance de la fermeture de l'ouverture par la couche d'ITO du point de vue électromagnétique, une caractérisation électromagnétique de la cellule TEM a été effectuée. La bande passante de la cellule TEM contenant une boîte de Petri remplie d'une solution biologique, correspondante à un coefficient de réflexion inférieur à -10 dB est de l'ordre de 3 GHz.



L'évaluation du débit d'absorption spécifique dans la solution biologique a montré un bon niveau de cohérence entre les valeurs du DAS évaluées par des mesures de température et les résultats numériques obtenues à l'aide du logiciel commercial CST. La cellule TEM sans ouverture et avec l'ouverture fermée avec la couche d'ITO de 700 nm a présenté les mêmes valeurs du DAS et une bonne homogénéité de la distribution du DAS. La cellule TEM avec l'ouverture de 20-mm de diamètre dans la plaque inférieure présente des valeurs beaucoup plus élevées du DAS et une forte hétérogénéité du DAS dans le milieu biologique contenu dans la boîte de Petri placée au-dessus de l'ouverture. Pour une puissance d'entrée de 1-W, les valeurs du DAS obtenues à une fréquence de 1.8 GHz dans l'échantillon exposé dans la cellule TEM avec l'ouverture de diamètre 20-mm fermée ou non fermée par la couche d'ITO ont été de 21.6 W/kg et 1.1 W/kg, respectivement.

Enfin, une imagerie de cellules vivantes par microscopie à fluorescence a été réalisée en temps réel à travers l'ouverture couverte d'ITO et le fond de la boîte de Petri située dans la cellule TEM pour tester la transparence optique de l'ITO sous l'objectif du microscope. Des images de cellules vivantes fluorescentes ont été acquises à haute résolution permettant une visualisation claire des compartiments sous-cellulaires et des organites.



II.4. Conclusion du chapitre

Dans ce chapitre, nous avons proposé deux applicateurs spécifiques pour l'ablation micro-onde des tumeurs cancéreuses du foie et l'étude des effets sanitaires des signaux de télécommunications sans fils, respectivement.

L'applicateur d'AMW est basé sur une antenne triaxiale conçue pour effectuer des ablations à 2.45 GHz. Son originalité réside en ses dimensions miniaturisées et la possibilité de l'insérer dans le foie par voie endoscopique. Une caractérisation expérimentale et numérique a été conduite dans un liquide ayant les propriétés diélectriques d'un tissu cancéreux du foie. Pour cette antenne un DAS supérieur à $50 \text{ W/kg/W}_{\text{inc}}$ a montré une zone exposée de 1-cm de diamètre.

Le deuxième applicateur est basé sur une cellule TEM avec une ouverture fermée par un matériau transparent conducteur l'Indium tin oxyde (ITO). Cette cellule TEM permet l'observation microscopique en temps réel du milieu biologique exposé à travers son ouverture fermée par l'ITO. L'influence de la présence de l'ouverture et de la couche d'ITO sur le DAS dans le milieu exposé a été évaluée. Les valeurs du DAS obtenues à 1.8 GHz dans le milieu exposé dans la cellule TEM avec l'ouverture fermée ou non par l'ITO étaient de $1.1 \text{ W/kg/W}_{\text{inc}}$ et $23.6 \text{ W/kg/W}_{\text{inc}}$, respectivement. Une excellence homogénéité du DAS a été obtenue dans le milieu en présence de l'ITO. Des images de cellules vivantes exposées fluorescentes ont été acquises à haute résolution à travers l'ouverture fermée par l'ITO, confirmant ainsi l'efficacité de ce système pour avoir une visualisation claire des compartiments sous-cellulaires et des organites.

Dans le chapitre suivant (chapitre III), nous allons nous concentrer sur les applicateurs spécifiques pour l'exposition des milieux biologiques aux champs électriques pulsés nanoseconde de haute intensité. Nous allons proposer et caractériser deux applicateurs nsPEFs sans contact électrodes/milieu biologique.



Chapitre III :

Les applicateurs d'impulsions avec contact électrodes/milieu biologique





III.1. Introduction

Dans le premier chapitre, nous avons présenté les effets des champs électriques impulsionnels sur le milieu biologique. Ces effets dépendent des paramètres de l'impulsion appliquée aux cellules biologiques (durée, amplitude, forme temporelle...). L'utilisation des impulsions de haute intensité ($> 100 \text{ kV/m}$) et de durée ultracourte de l'ordre de quelques nanosecondes, induit des effets sur les structures intracellulaires intéressantes pour des applications médicales. Cependant, ce type de signaux exige des applicateurs spécifiques ayant une large bande passante capables d'exposer le milieu biologique sans déformation de ces impulsions.

Ce chapitre sera consacré à l'étude de différents applicateurs spécifiques à l'exposition des milieux biologiques aux champs électriques pulsés haute intensité nanoseconde (nsPEFs). Après la présentation des différents critères auxquels un applicateur nsPEFs doit obéir, nous présenterons deux applicateurs avec contact électrodes/milieu biologique. La caractérisation électromagnétique de ces dispositifs sera faite dans le domaine fréquentiel (Paramètres S, adaptation d'impédance...) et dans le domaine temporel (réponse des applicateurs aux impulsions de différentes durées, formes et amplitudes...). La phase de caractérisation sert à comprendre le comportement des applicateurs, leurs bandes passantes de fonctionnements et les phénomènes qui déterminent leurs réponses aux impulsions appliquées. Enfin, une validation de ces dispositifs par des expérimentations biologiques sera présentée.

Ce chapitre mettra en évidence l'importance du développement des applicateurs sans contact électrodes/milieu biologique (ou applicateurs isolés) pour transmettre des impulsions ultracourtes. À l'issue de cette synthèse, nous allons proposer dans le chapitre III trois applicateurs isolés dont deux sont nouveaux, basés sur la modification de deux applicateurs classiques avec contact.

III.2. Caractéristiques d'un applicateur biologique nsPEFs

Nous rappelons que l'applicateur biologique est la partie du système d'exposition qui contient l'échantillon biologique et qui permet de l'exposer à l'impulsion électrique délivrée par le générateur. Un applicateur nsPEFs doit satisfaire les caractéristiques physiques et biologiques suivantes :



- adaptation en impédance avec le générateur pour éviter la réflexion d'énergie,
- large bande passante fréquentielle pour transmettre fidèlement des impulsions électriques courtes qui possèdent un large contenu spectral,
- capacité de supporter et de transmettre de très hautes tensions (de l'ordre de kV)
- biocompatibilité des matériaux qui le compose pour éviter les réactions électrochimiques avec le milieu biologique,
- possibilité de visualiser l'échantillon biologique en temps réel sous l'objectif du microscope pendant son exposition aux nsPEFs,
- possibilité d'exposer des cellules biologiques en quantité suffisante pour les investigations par les biologiques (analyse statistique).

Les applicateurs biologiques peuvent être divisés en deux grandes catégories selon la configuration de l'ensemble électrodes-milieu biologique. Lorsque le milieu biologique est placé en contact direct avec les électrodes de l'applicateur, ce dernier est classifié comme étant « un applicateur avec contact ». Tandis que lorsque le milieu biologique est exposé dans un support diélectrique placé à l'intérieur de l'applicateur sans aucun contact entre le milieu biologique et les électrodes, l'applicateur est nommé « un applicateur sans contact ou applicateur isolé ».

Typiquement, l'application d'un champ électrique à un milieu biologique, consiste à placer deux plaques métalliques planes, dont l'une est liée à la source de tension et l'autre à la masse, d'une manière parallèle de part et d'autre du milieu biologique. La structure constituée de la paire d'électrodes séparées par le milieu biologique, considéré du point de vue électromagnétique à la fois comme étant un milieu conducteur et diélectrique, forme une ligne de transmission qui permet de transmettre une impulsion de tension entre deux points de potentiels différents. Cette ligne de transmission peut être simplifiée et modélisée électriquement par une conductance G (S) et une capacité C (F) en parallèle, comme montre la [Figure 68](#). En première approximation, C et G peuvent être déterminées par les équations suivantes :

$$C = S \frac{\epsilon_0 \epsilon_r}{d} \quad \text{équation III-1}$$

$$G = S \frac{\sigma}{d} \quad \text{équation III-2}$$



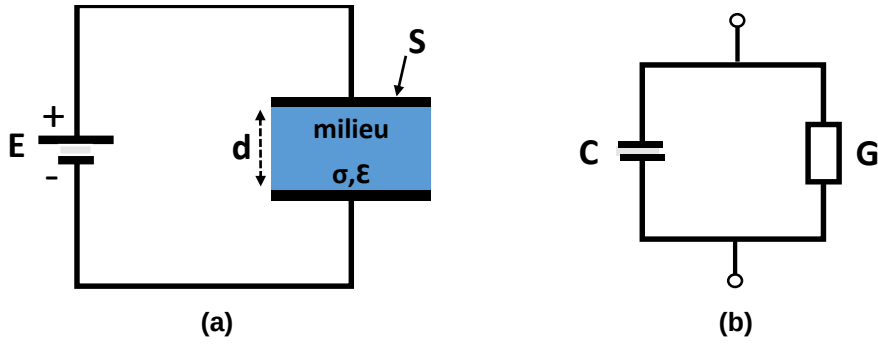


Figure 68 (a) milieu biologique diélectrique entre deux plaques métalliques. (b) circuit équivalent du point de vue électrique.

où $S \text{ (m}^2\text{)}$ est la surface des électrodes planaires en contact avec le milieu biologique, $d \text{ (m)}$ la distance entre les électrodes, $\epsilon_0 = 8.8542 \times 10^{-12} \text{ (F/m)}$ la permittivité du vide, $\sigma \text{ (S/m)}$ la conductivité électrique du milieu et ϵ_r sa permittivité diélectrique relative. L'impédance équivalente $Z_e \text{ (}\Omega\text{)}$ de l'ensemble électrodes-milieu biologique, ou autrement dit de l'applicateur contenant le milieu biologique, est égale à l'impédance équivalente de C et G placées en parallèle. Elle est donnée par l'équation suivante :

$$Z_e = \frac{d}{S(\sigma + j \cdot 2\pi\epsilon_0\epsilon_r \cdot f)} \quad \text{équation III-3}$$

où f est la fréquence du travail en Hz.

L'impédance équivalente est donc fonction des dimensions des électrodes de l'applicateur et des propriétés électromagnétiques du milieu biologique qu'il contient, σ et ϵ_r . Ces deux derniers possèdent à leur tour un comportement dépendant de la fréquence. Lorsque le spectre fréquentiel de l'impulsion électrique appliquée au milieu biologique se situe aux basses fréquences, les pertes par conduction sont beaucoup plus importantes que les pertes diélectriques. Le comportement conducteur du milieu biologique dû à la conductivité électrique σ domine. Tandis que lorsque le spectre de l'impulsion est situé aux hautes fréquences, c'est le comportement diélectrique du milieu dû à la permittivité relative ϵ_r qui prend le dessus.

Dans les applicateurs avec contact, l'exposition du milieu biologique au champ électrique est basée sur le phénomène de la conduction électrique dépendant de σ . Ce phénomène domine aux basses fréquences lorsque le comportement capacitif est négligeable



($\sigma \gg 2\pi\epsilon_0\epsilon_r f$). L'impédance équivalente du système peut être considérée purement résistive et indépendante de la fréquence $Z_e = d/S\sigma$.

Aux hautes fréquences, le comportement capacitif du condensateur formé par la double interface électrode/milieu biologique diélectrique/électrode, devient important et domine le comportement résistif ($2\pi\epsilon_0\epsilon_r f > \sigma$). L'impédance équivalente devient fortement dépendante de la fréquence et de ϵ_r . Sa partie imaginaire n'est plus nulle. L'impédance équivalente de l'applicateur contenant le milieu biologique ne peut plus être adaptée à 50 Ω qui est l'impédance caractéristique du générateur, des câbles coaxiaux et des connectiques. La transition entre les comportements conducteur et diélectrique est déterminé par une fréquence spécifique liée à σ et ϵ_r , pour laquelle $\sigma = 2\pi\epsilon_0\epsilon_r f$. Dans un milieu de culture typique, ϵ_r et σ sont respectivement d'environ 80 et 1.5 S/m. Pour ces propriétés électromagnétiques du milieu, la fréquence de transition est d'environ 337 MHz. Dans le domaine temporel, un spectre fréquentiel de largeur 337 MHz correspond à une impulsion électrique de durée 3.3 ns. Cela veut dire que les applicateurs avec contact électrodes/milieu biologique basées sur le phénomène de la conduction ne sont adaptés qu'aux impulsions électriques de durées supérieures à 3.3 ns ayant des spectres fréquentiels situés à des fréquences inférieures à 337 MHz où le comportement conducteur du milieu est majoritaire.

Donc pour transmettre des impulsions ultracourtes ayant de larges spectres supérieures à 337 MHz, il faut éliminer l'effet capacitif en évitant le contact électrode/milieu biologique/électrode. Il s'agit de passer d'un système en conduction avec des électrodes en contact directe avec le milieu biologique à un système sans contact où le milieu biologique est isolé des électrodes (propagation). D'où l'intérêt de développer des applicateurs isolés pour pouvoir appliquer des impulsions ultracourtes sans distorsion du contenu spectrale.



III.3. Les applicateurs d'impulsions avec contact électrodes/milieu biologique

III.3.1. La cuvette biologique standard

Les travaux de Kenaan et co-auteurs [139], effectués au sein du laboratoire Xlim, ont considéré une cuvette biologique standard avec un gap de 4 mm entre les électrodes, ayant chacune une surface de 255 mm² (Figure 69). La cuvette a été caractérisée dans les domaines fréquentiel et temporel en terme de bande passante fréquentielle et d'impulsions incidente et transmise par la cuvette lorsqu'elle est soumise aux impulsions électriques de durées nanosecondes ou nsPEFs.

Domaine fréquentiel Kenaan et co-auteurs ont montré que la cuvette d'électroporation classique possède une bande passante fréquentielle à -10 dB limitée à 70 MHz (Figure 70a). Cette bande passante est obtenue lorsque la cuvette est remplie par un milieu de culture biologique (le HBSS) diluée avec de l'eau pour ajuster la conductivité électrique à 0.31 S/m. La modification de la conductivité électrique du milieu d'une valeur typique de 1.5 S/m à une valeur de 0.31 S/m été imposée pour avoir une adaptation d'impédance de 50 Ω le long de la bande passante (Figure 70b). Cette faible valeur de la conductivité du milieu de culture n'est pas recommandée par les biologistes puisqu'elle peut affecter la viabilité des cellules biologiques contenues dans le milieu.

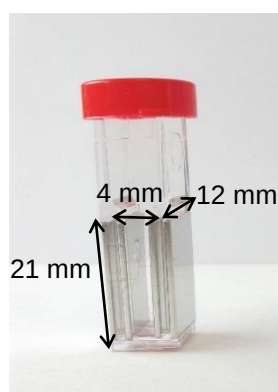


Figure 69 Cuvette d'électroporation standard de distance inter-électrodes 4 mm.



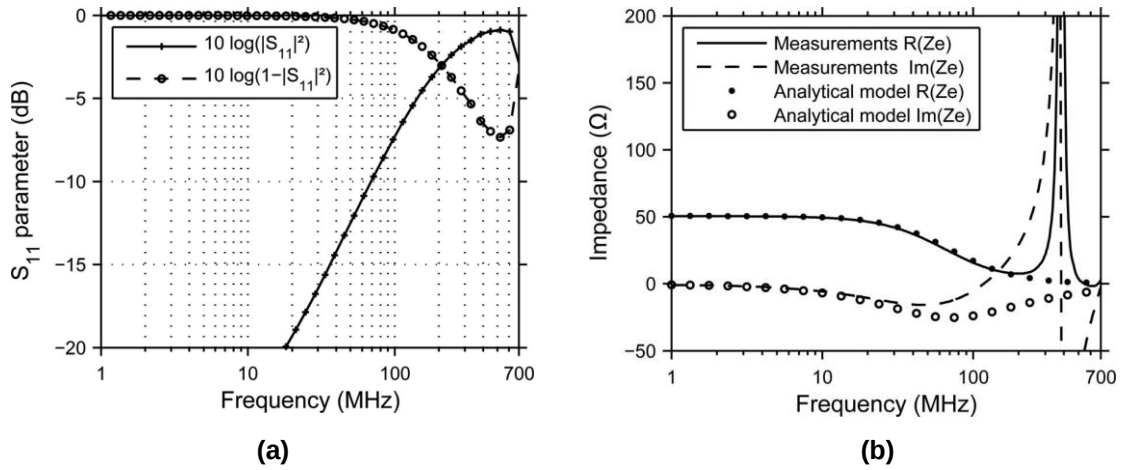


Figure 70 Caractérisation fréquentielle de la cuvette biologique standard de distance inter-électrodes de 4 mm contenant un milieu de culture des cellules biologique de conductivité électrique ajustée à 0.31 S/m. (a) Modules du coefficient de réflexion S_{11} et de la puissance transmise. (b) Résultats analytiques et mesurés des parties réelle et imaginaire de l'impédance d'entrée Z_e . D'après [139].

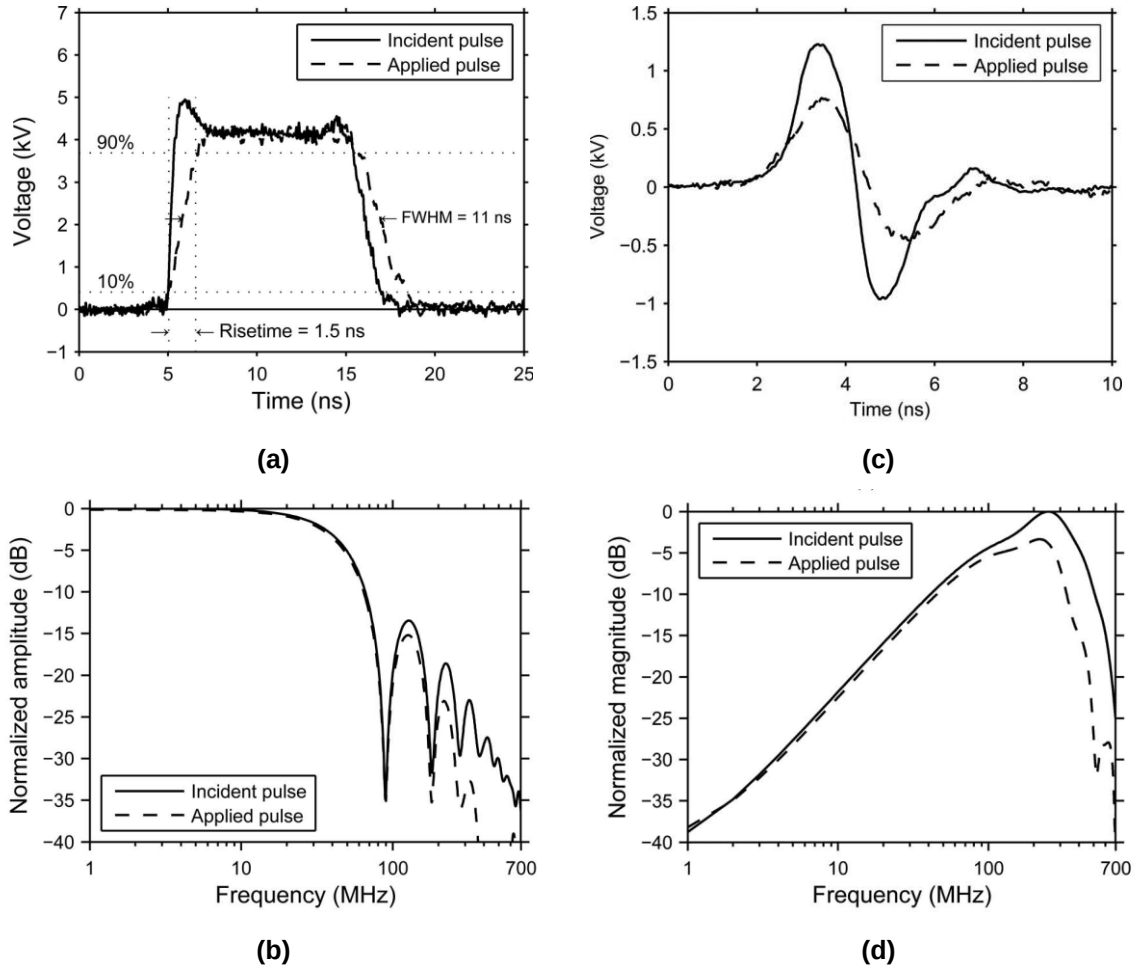


Figure 71 Allures temporelles et spectres fréquentiels des impulsions électriques incidentes et appliquées mesurées à l'entrée de la cuvette biologique standard de distance inter-électrodes de 4 mm contenant un échantillon biologique de conductivité électrique faible de 0.31 S/m. Résultats pour une impulsion de durée 10 ns: (a) allures temporelles et (b) spectres fréquentiels. Résultats pour une impulsion de durée 3 ns: (c) allures temporelles et (d) spectres fréquentiels. D'après [139].



Domaine temporel La capacité de la cuvette à délivrer des impulsions électriques courtes et ultracourtes a été aussi évaluée par Kenaan et co-auteurs. Deux impulsions ont été appliquées à la cuvette. La première est une impulsion courte de forme rectangulaire ayant une durée à mi-hauteur de 10 ns, des fronts de montée et de descente de 1 ns et une amplitude de 4.5 kV. Pour cette impulsion, les résultats présentés [Figure 71a](#) ont montré que la durée et l'amplitude des impulsions incidente et transmise par la cuvette présentent un bon niveau de cohérence. Alors que les fronts de montée et de descente de l'impulsion transmise ont été déformés. Leur durée a augmenté de 1 ns à 1.5 ns. Cela est dû à la limitation de la bande passante de la cuvette à 70 MHz. En effet ces fronts de montée et de descente, ayant une durée ultracourte, constituent la partie du spectre de puissance de l'impulsion incidente situé aux hautes fréquences. La désadaptation de la cuvette à des fréquences supérieures à 70 MHz conduit à la dégradation du contenu spectral correspondant aux fronts de montée et de descente de l'impulsion ([Figure 71b](#)) et par conséquent leur déformation dans le domaine temporel.

La deuxième impulsion est une impulsion ultracourte bipolaire ayant une durée à mi-hauteur de 3 ns, des fronts de montée et de descente de 800 ps et une amplitude de 3 kV. Pour cette impulsion, une atténuation d'amplitude et un élargissement de la durée de l'impulsion ont été observés comme montre la [Figure 71c](#). Cela est dû au fait que cette impulsion ultracourte présente un spectre de fréquence plus large que la bande d'adaptation de la cuvette ([Figure 71d](#)).

Par conséquent, cette configuration standard de la cuvette biologique de distance inter-électrodes de 4 mm ayant une bande passante de 70 MHz est bien adaptée aux impulsions de durée à mi-hauteur de 10 ns avec des temps de montée et de descente supérieur à 1.5 ns (ou encore plus que 1.5 ns), mais limitée aux impulsions ultracourtes de durée à mi-hauteur de 3 ns ayant un spectre fréquentiel plus large. Ajoutons que cet applicateur ne permet pas l'observation microscopique en temps réel de l'échantillon biologique durant son exposition aux impulsions électriques, qui peut être requise par nos collègues biologistes pour une bonne compréhension des résultats biologiques obtenus.

Pour dépasser les inconvénients de la cuvette biologique standard, concernant sa bande passante limitée et l'impossibilité de la visualisation en temps réel du milieu biologique exposé tout en gardant les propriétés électromagnétiques typiques du milieu, nous allons proposer dans le paragraphe suivant une nouvelle configuration modifiée de la cuvette biologique.

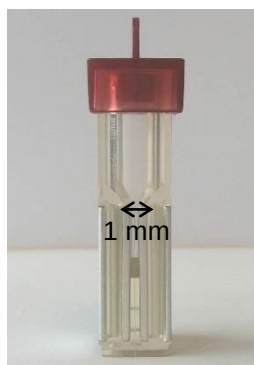
III.3.1.1 Géométrie de la cuvette biologique modifiée

Dans notre travail deux cuvettes biologiques avec des distances inter-électrodes de 1 mm et 4 mm sont considérées. La géométrie et les dimensions de ces cuvettes sont présentées

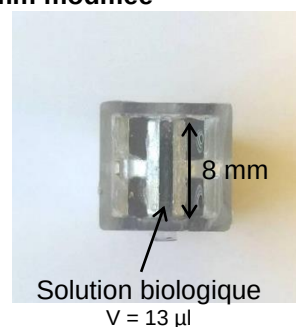
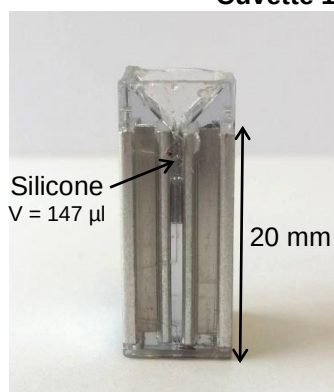


Figure 72. Les électrodes sont en aluminium. Elles ont une largeur de 8 mm et une hauteur de 20 mm. Comme nous avons déjà vu, la cuvette biologique standard ne permet pas l'observation microscopique en temps réel du milieu biologique. Pour dépasser cette limitation tout en répondant au besoin des biologistes, nous avons pensé à modifier la cuvette biologique. Comme montré **Figure 72**, nous avons rempli la cuvette avec du silicone tout en gardant un volume vide donné. Ensuite, le milieu biologique est placé au-dessus du silicone. Cela permet l'exposition du milieu dans la partie supérieure de la cuvette biologique sous l'objectif du microscope (**Figure 73**). Un autre avantage du remplissage de la cuvette par du silicone est d'éviter le claquage de ses électrodes lorsqu'elle est soumise à des niveaux de champ électrique très élevés.

Cuvette 1-mm standard

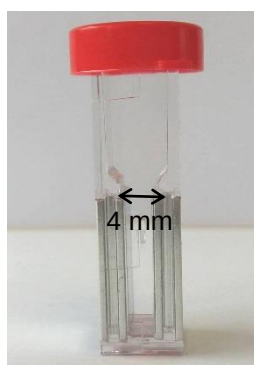


Cuvette 1-mm modifiée

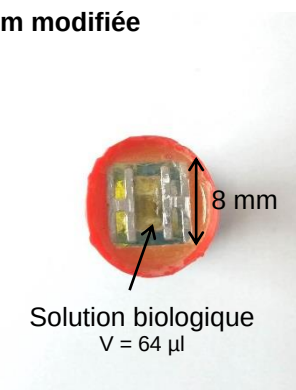
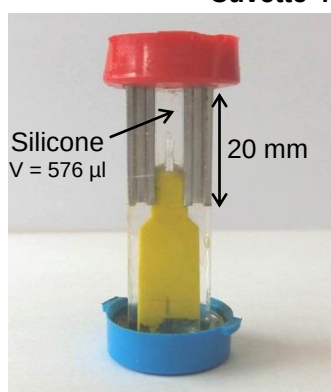


(a)

Cuvette 4-mm standard



Cuvette 4-mm modifiée



(b)

Figure 72 Photographies et dimensions des deux cuvettes biologiques modifiées. La cuvette biologique de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et la cuvette biologique de distance inter-électrodes de 4 mm (b).



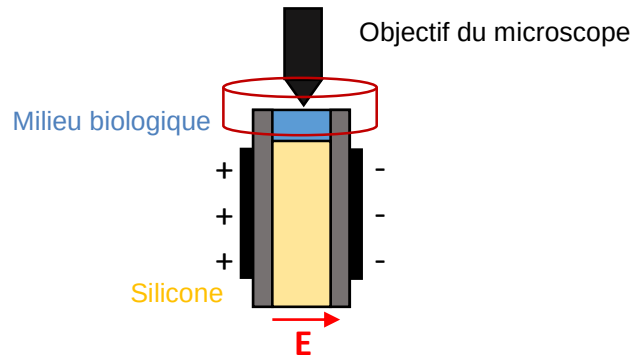


Figure 73 Schéma de la cuvette biologique modifiée montée sous l'objectif du microscope.

Dans ce qui suit, l'objectif sera en premier temps la caractérisation électromagnétique des deux cuvettes biologiques modifiées dans le domaine fréquentiel (en termes de paramètres-S et d'adaptation d'impédance) et dans le domaine temporel (réponse des cuvettes aux impulsions de différentes durées). La phase de la caractérisation sert à comprendre le fonctionnement de la cuvette biologique en identifiant sa bande passante fréquentielle, sa capacité à transmettre des impulsions électriques courtes et ultracourtes ainsi que les niveaux de champs électriques qu'elle fournit au milieu biologique.

III.3.1.2 Caractérisation fréquentielle expérimentale

L'étude du comportement fréquentiel des cuvettes biologiques modifiées commence par une évaluation du coefficient de réflexion S_{11} et de l'impédance caractéristique à l'entrée de chaque cuvette.

III.3.1.2.1. Impédance théorique de la cuvette biologique

L'impédance équivalente théorique Z_e (Ω) de la cuvette d'électroporation contenant le milieu biologique est donnée par l'équation III-3. Dans cet applicateur on a un contact direct électrode/milieu biologique/électrode. Donc l'exposition du milieu est basée sur le principe de la conduction électrique qui est majoritaire aux basses fréquences. Le terme $(j.2\pi\epsilon_0\epsilon_r.f)$ dépendant de la permittivité diélectrique ϵ_r devient alors négligeable devant la conductivité électrique σ ($j.2\pi\epsilon_0\epsilon_r.f \ll \sigma$). Ainsi, l'impédance équivalente théorique de la cuvette contenant le milieu biologique peut être simplifiée aux basses fréquences et calculée par l'équation suivante :

$$Z_e = \frac{d}{S \times \sigma} \quad \text{équation III-4}$$



où d est la distance entre les électrodes, S est la surface des électrodes en contact avec le milieu biologique et σ la conductivité électrique du milieu biologique.

III.3.1.2.2. Préparation des cuvettes biologiques modifiées

Après avoir déterminé l'impédance équivalente théorique de la cuvette contenant le milieu biologique, nous avons calculé la quantité du milieu biologique que nous devons mettre dans la cuvette pour obtenir une impédance $Z_e = 50 \Omega$. Le milieu biologique utilisé est un milieu de culture typique ionique nommé « Hank's balanced salt solution » ou HBSS. Pour une fréquence inférieure à 150 MHz, la permittivité relative du milieu est de 78 tandis que la conductivité électrique est de 1.5 S/m. Ces valeurs obtenues par mesure à l'aide d'une sonde diélectrique sont typiques des milieux de culture cellulaire [183].

La géométrie et les dimensions des cuvettes biologiques étudiées contenant le HBSS sont présentées Figure 74. Avec ce milieu biologique et d'après l'équation III-4, l'impédance théorique de la cuvette de distance inter-électrodes $d_1 = 1 \text{ mm}$ est adaptée à 50Ω pour une surface des électrodes en contact avec le milieu $S_1 = 13 \text{ mm}^2 = 8 \text{ mm} \times 1.65 \text{ mm}$. Cela correspond à un volume du milieu biologique $v_1 = 13 \text{ mm}^3 = 13 \mu\text{l}$ ($8 \text{ mm} \times 1.65 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$). Pour la cuvette biologique de distance inter-électrodes $d_2 = 4 \text{ mm}$, l'impédance est égale à 50Ω pour un volume du milieu $v_2 = 211 \text{ mm}^3 = 211 \mu\text{l}$ ($8 \text{ mm} \times 6.6 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$) correspondant à une surface de contact électrode/milieu biologique $S_2 = 53 \text{ mm}^2 = 8 \text{ mm} \times 6.6 \text{ mm}$ (Figure 74c). Le reste du volume des deux cuvettes est rempli par du silicone ayant une permittivité diélectrique de 4. Ensuite le milieu biologique est placé au-dessus du silicone pour permettre son exposition en temps réel sous l'objectif du microscope.

En revanche, dans la cuvette 4-mm, les biologistes ne voulaient pas exposer une suspension cellulaire, mais un ganglia (d'épaisseur 0.2 mm) immergé dans un milieu de culture biologique (Figure 74b). Ce ganglia doit être fixé sur une couche de paraffine et visualisé en temps réel sous l'objectif du microscope. Et puisque la distance de travail de l'objectif du microscope utilisé est limitée à 0.17 mm, le ganglia ne peut pas être placé au fond du canal formé entre les deux électrodes de la cuvette ayant une profondeur de 6.6 mm. Il doit être fixé d'une manière superficielle. Pour répondre à ce besoin des biologistes, nous étions obligés donc d'ajouter une quantité supplémentaire du silicone pour diminuer la profondeur du canal. Cela permet de fixer le ganglia au top de la cuvette mais réduit évidemment le volume du milieu biologique en contact avec les électrodes ce qui affecte son adaptation d'impédance. Dans cette nouvelle configuration, la profondeur du canal est d'environ 2 mm.



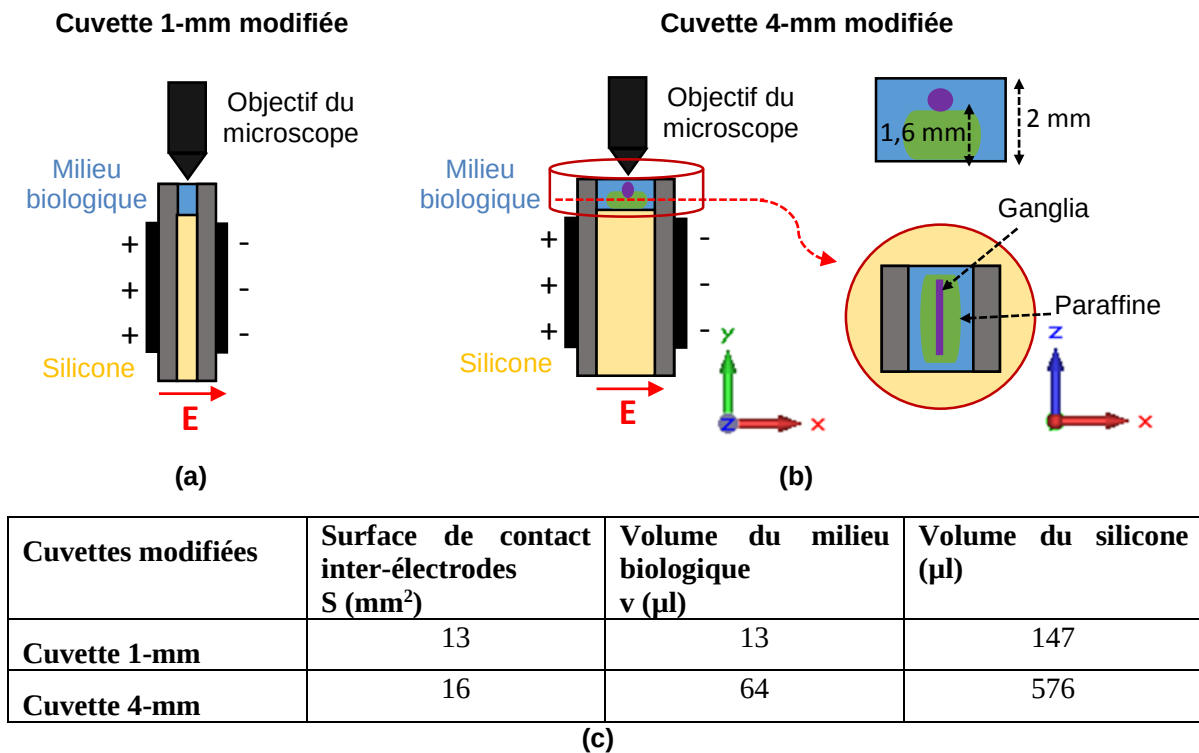


Figure 74 Géométrie et dimensions des cuvettes biologiques modifiées contenant le milieu biologique.

Une couche de paraffine de 1.6 mm d'épaisseur environ est déposée ensuite au milieu du silicone, sur laquelle est fixé le ganglia. Le volume du milieu de culture couvrant le ganglia est réduit à $v_3 = 64 \text{ mm}^3 = 64 \mu\text{l}$ ($8 \text{ mm} \times 2 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$) correspondant à une surface de contact électrode/milieu biologique $S_3 = 16 \text{ mm}^2 = 8 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$ (Figure 74c).

III.3.1.2.3. Coefficient de réflexion mesuré

Après la préparation des cuvettes biologiques modifiées contenant le milieu biologique, en se basant sur l'équation théorique de l'impédance, l'adaptation fréquentielle de ces cuvettes a été étudiée en mesurant le coefficient de réflexion S_{11} . Pour effectuer les mesures, chaque cuvette biologique a été connectée à un câble coaxial d'impédance 50Ω en la plaçant entre deux plaques métalliques planes soudées à un connecteur de type N, comme montre la Figure 75. Le coefficient de réflexion a été mesurée pour l'ensemble câble-cuvette à l'aide d'un analyseur de réseau vectoriel (VNA 8753E, Agilent, USA) sur une bande passante allant de 10 kHz jusqu'à 3 GHz. L'analyseur a été calibré au plan de l'entrée de l'ensemble câble-cuvette. Deux configurations de cuvettes modifiées ont été évaluées :

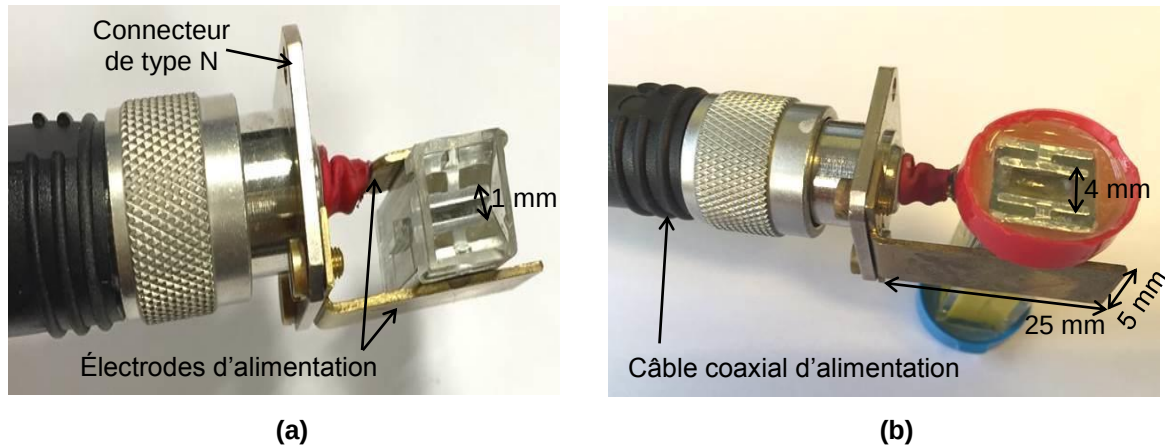


Figure 75 Photographies des deux cuvettes biologiques modifiées placées entre deux plaques métalliques soudées à un connecteur de type N. Photographie de la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et de la cuvette de distance inter-électrodes de 4 mm (b).

- Une cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm remplie de 13 μl de la solution biologique HBSS et d'environ 147 μl du silicone (Figure 72a).
- Une cuvette de distance inter-électrodes de 4 mm remplie de 64 μl de la solution biologique HBSS et d'environ 576 μl du silicone (Figure 72b).

La Figure 76 présente les modules du coefficient de réflexion en fonction de la fréquence mesurée à l'entrée de l'ensemble câble-cuvette pour les deux configurations précédentes. Le résultat obtenu pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm montre que le module du paramètre S_{11} est inférieur à -10 dB jusqu'à une fréquence de 260 MHz. Pour la cuvette de distance inter-électrodes de 4 mm, le module du S_{11} est inférieure à -10 dB jusqu'à environ 270 MHz. Ainsi, les bandes passantes à -10 dB des deux cuvettes sont presque identiques. Ces cuvettes biologiques modifiées de distance inter-électrodes de 1 mm et de 4 mm sont donc bien adaptées jusqu'à, respectivement, 260 MHz et 270 MHz.

Par comparaison au travail de Kenaan et co-auteurs [139], nous avons mis en évidence une nouvelle configuration de la cuvette biologique de distance inter-électrodes de 4 mm ayant une bande passante à -10 dB quatre fois plus large (270 MHz) en raison de la réduction de la surface de contact électrodes/milieu biologique. En plus, cette configuration permet l'observation microscopique en temps réel, tout en gardant la conductivité électrique normale 1.5 S/m du milieu biologique considérée essentielle pour la bonne santé des cellules biologiques.



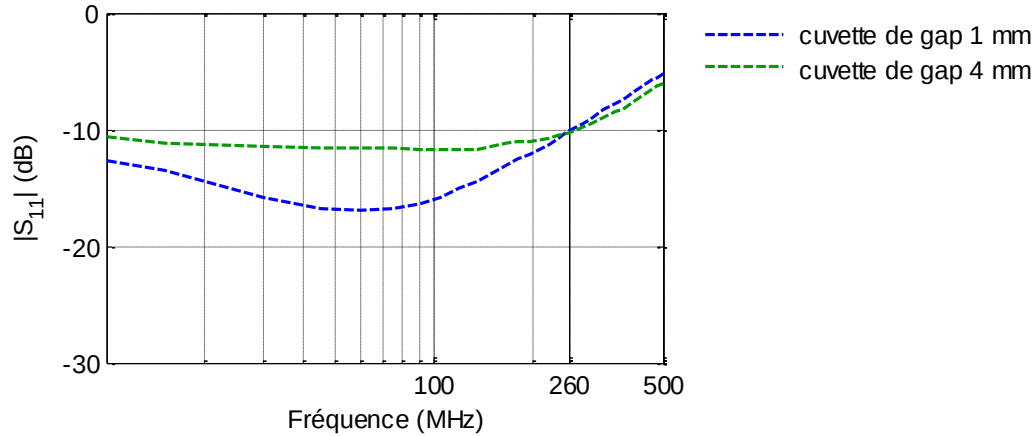


Figure 76 Modules du coefficient de réflexion S_{11} mesurés à l'entrée des deux cuvettes biologiques modifiées de distances inter-électrodes de 1 mm et 4 mm.

III.3.1.2.4. Impédance d'entrée mesurée

L'impédance d'entrée Z_e (Ω) a été aussi calculée à partir du paramètre S_{11} mesuré à l'entrée de chaque cuvette en utilisant l'équation suivante :

$$Z_e = Z_c \frac{1 + S_{11}}{1 - S_{11}} \quad \text{équation III-5}$$

où Z_c est l'impédance caractéristique du système connecté à la cuvette (connecteur, câbles coaxiaux, générateur, analyseur de réseau vectoriel...).

L'impédance caractéristique Z_c est dans la totalité des cas égale à 50 Ω . En revanche, les applicateurs contenant un milieu biologique, sont considérés comme étant des charges présentant des impédances Z_e qui peuvent être très différentes. Une parfaite adaptation d'impédance est obtenue lorsque $Z_e = Z_c = 50 \Omega$. Pour une meilleure compréhension de l'effet d'adaptation d'impédance sur la transmission d'une impulsion électrique, nous allons donner une simple explication des trois cas suivants :

- Cas adapté : $Z_e = 50 \Omega$.
- Basse impédance : $Z_e < 50 \Omega$.
- Haute impédance : $Z_e > 50 \Omega$.

Considérons le cas d'un signal impulsionnel. Soit v_i la tension de l'impulsion incidente à l'entrée de l'applicateur, délivrée par le générateur, et v_r la tension de l'impulsion réfléchie



par l'applicateur. La tension de l'impulsion transmise (dite aussi tension appliquée) au milieu biologique contenu dans l'applicateur v_t est donnée par l'équation suivante :

$$v_t = v_i + v_r \quad \text{équation III-6}$$

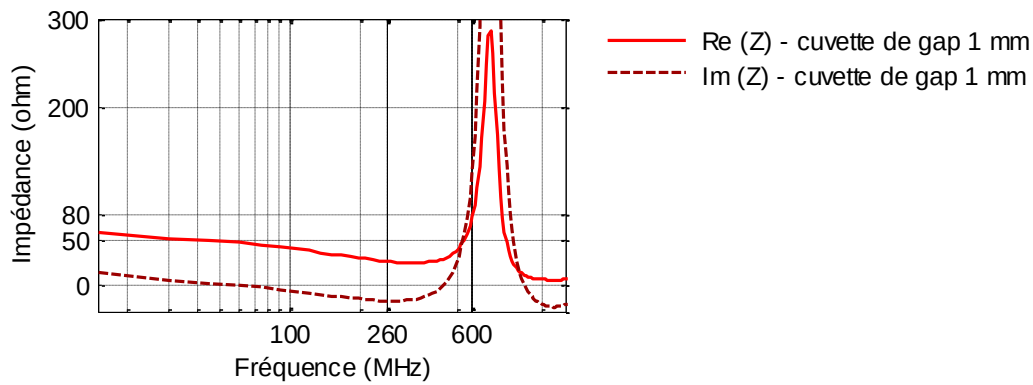
Le coefficient de réflexion S_{11} en tension peut être défini par l'équation III-7. Il permet de calculer la tension réfléchie v_r à partir de la tension incidente v_i :

$$v_r = S_{11} \cdot v_i \quad \text{équation III-7}$$

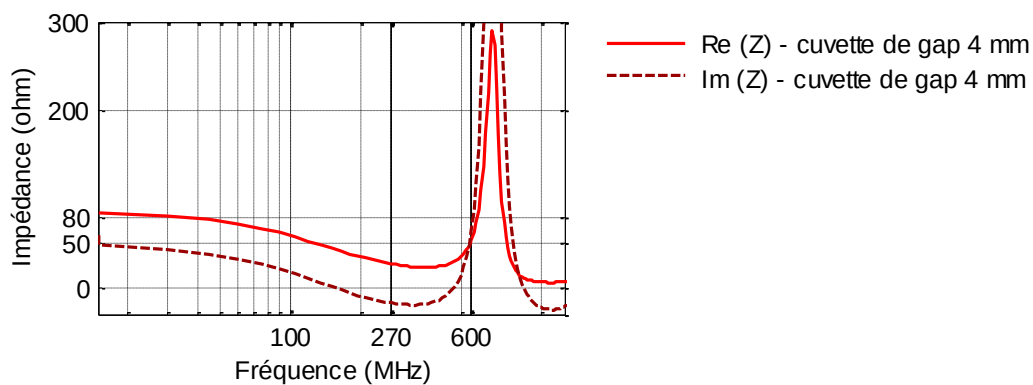
- **Cas adapté ($Z_e = 50 \Omega$)** : Lorsque Z_e est rigoureusement égale à 50Ω , on parle d'adaptation parfaite d'impédance. Le coefficient de réflexion S_{11} est nul. Aucune tension n'est réfléchie par l'applicateur ($v_r = 0$). La tension transmise v_t au milieu biologique est rigoureusement égale à la tension incidente v_i .
- **Basse impédance ($Z_e < 50 \Omega$)** : Lorsque Z_e est inférieure à 50Ω , la tension réfléchie v_r est de signe négative. La tension transmise v_t au milieu biologique est donc inférieure à la tension incidente v_i (d'après l'équation III-6). v_t tend vers 0 lorsque Z_e tend vers un court-circuit d'impédance 0Ω .
- **Haute impédance ($Z_e > 50 \Omega$)** : Lorsque Z_e est supérieure à 50Ω , la tension réfléchie v_r est de signe positive. La tension transmise v_t au milieu biologique est donc supérieure à la tension incidente v_i (d'après l'équation III-6). v_t tend vers $2v_i$ lorsque Z_e tend vers un circuit ouvert d'impédance $+\infty$. Dans ce cas, l'utilisation d'une résistance 50Ω en parallèle avec l'ensemble applicateur/milieu biologique peut être nécessaire pour avoir une impédance équivalente à 50Ω . Cela permet de minimiser la réflexion.

La [Figure 77](#) montre les parties réelles et imaginaires de l'impédance à l'entrée de l'ensemble connecteur-cuvette obtenue par mesure. L'impédance de la cuvette 1-mm contenant 13 μ l de HBSS a un comportement résistif jusqu'à environ 260 MHz comme nous observons dans la [Figure 77a](#). Sur cette bande de fréquence la partie réelle a une valeur autour de 50Ω et la partie imaginaire est négligeable. Au-delà de cette fréquence la partie imaginaire devient considérable. Dans le cas de la cuvette 4-mm remplie de 64 μ l de solution ([Figure 77b](#)), la partie réelle de l'impédance a une valeur plus élevée de 80Ω environ. D'autre part, la partie imaginaire n'est pas nulle. Elle est autour de 50Ω . Cela indique que la cuvette 1-mm est adaptée en impédance jusqu'à 260 MHz, alors que la cuvette 4-mm possède une haute impédance.





(a)



(b)

Figure 77 Partie réelle et partie imaginaire de l'impédance à l'entrée de la cuvette biologique de distances inter-électrodes de 1 mm (a) et 4 mm (b).

Cette différence dans l'adaptation d'impédance entre les deux cuvettes est expliquée par le fait que le volume théorique du milieu biologique à placer dans chaque cuvette, calculé à partir de l'équation III-4, a été respecté dans le cas de la cuvette 1-mm (13 μl), contrairement au cas de la cuvette 4-mm où un volume de 64 μl inférieure au volume théorique (211 μl) a été exposé en raison des besoins des biologistes. Ce qui l'a rendue moins bien adaptée en impédance à 50 Ω . Ces résultats expliquent le coefficient de réflexion S_{11} plus élevé pour la cuvette 4-mm (Figure 76). Et comme nous observons Figure 77a et Figure 77b, des résonances apparaissent aux hautes fréquences pour les deux cuvettes. Ces résonances sont liées aux dimensions géométriques de chaque structure constituée de la cuvette, contenant le milieu biologique, du connecteur et du câble coaxial.



III.3.1.2.5. Cuvette modifiée de distance inter-électrodes de 4 mm avec une charge 50 Ω en parallèle

Afin d'améliorer l'adaptation d'impédance de la cuvette de distance inter-électrodes de 4 mm pour éviter des fortes réflexions, nous avons pensé à la placer en parallèle avec une charge 50 Ω . Comme montre la Figure 78, deux configurations de la cuvette 4-mm / charge 50 en parallèle ont été évaluées.

La première consiste à placer la cuvette entre deux plaques métalliques soudées sur l'âme centrale et le conducteur externe d'un câble coaxial de type HNB et de longueur 20 cm, et de souder une résistance 50 Ω directement en parallèle sur les deux plaques métalliques tenant la cuvette (Figure 78a). La deuxième configuration consiste à placer une charge 50 Ω haute tension (GHMF, Barth Electronics, USA) en parallèle avec la cuvette de sorte que les connectiques liant l'ensemble générateur / charge 50 Ω / cuvette 4-mm soient en forme de T comme nous observons dans la Figure 78b. Dans cette configuration la cuvette est placée entre deux plaques métalliques soudées à un connecteur de type N. L'influence de ces deux différentes configurations de la charge 50 Ω en parallèle sur la bande passante du système a été évaluée et comparée au cas précédent de la cuvette 4-mm sans une charge 50 Ω .

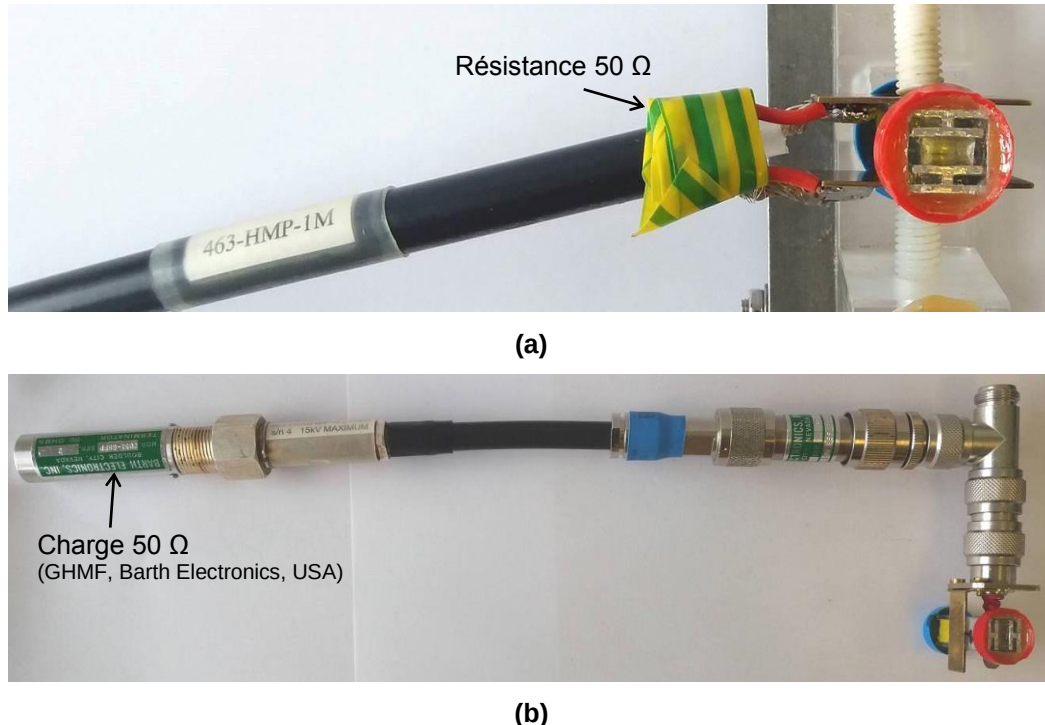


Figure 78 Photographies de la cuvette biologique modifiée de distance inter-électrodes de 4 mm placée en parallèle à une charge 50 Ω , entre deux plaques métalliques soudées à un connecteur BNC. Configuration de la charge 50 Ω soudée directement aux deux plaques métalliques (a). Configuration de la charge 50 Ω placée en forme de T avec la cuvette biologique (b).

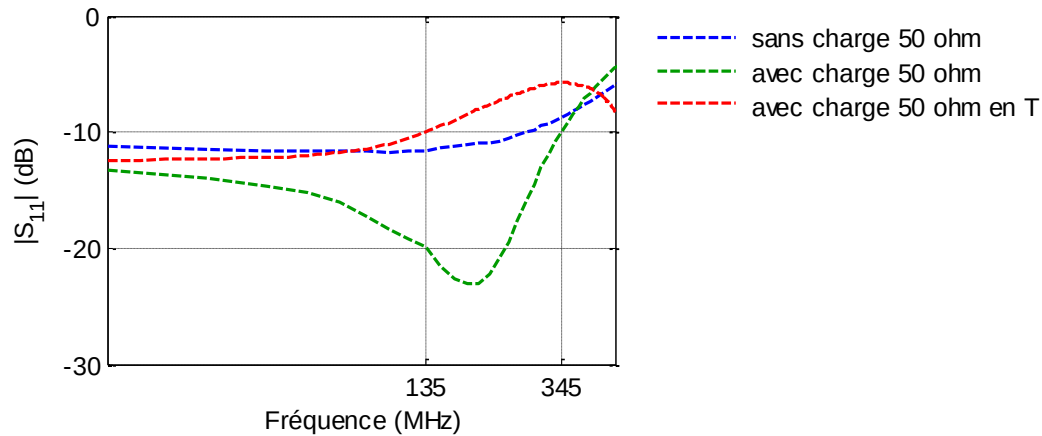


Figure 79 Modules du coefficient de réflexion S_{11} mesurés de la cuvette biologique de distance inter-électrodes de 4 mm sans la charge 50 Ω en parallèle, avec la charge 50 Ω soudée aux plaques métalliques ou placée en forme de T avec la cuvette biologique.

Le coefficient de réflexion et l'impédance mesurés à l'entrée de la cuvette à l'aide de l'analyseur de réseau vectoriel, sont présentés [Figure 79](#) et [Figure 80](#). Comme nous observons dans la [Figure 79](#), la bande passante fréquentielle à -10 dB de la cuvette 4-mm en parallèle avec une charge 50 Ω directement soudée aux plaques tenant la cuvette s'étend jusqu'à 345 MHz. Elle est plus large que la bande passante de la cuvette sans la charge 50 Ω (270 MHz) d'environ 80 MHz. En revanche, dans le cas de la charge 50 Ω placée en forme de T avec la cuvette, la bande passante est plus faible. Elle diminue jusqu'à 135 MHz. La première configuration formée de la cuvette 4-mm et de la charge 50 Ω soudée aux plaques métalliques est donc plus efficace pour élargir la bande passante du système d'exposition. Une mesure de l'impédance de ces deux configurations sans la cuvette au bout, a montré que la charge haute tension présente une impédance égale à 50 Ω jusqu'à 390 MHz, alors que l'autre résistance présente des variations d'impédance autour de 50 Ω . Normalement, pour adapter une haute impédance la charge haute tension est meilleure. Cependant, dans notre cas l'impédance de la cuvette n'est pas très élevée, sa combinaison avec la résistance présentant des variations a été plus favorable qu'avec la charge haute tension.

La [Figure 80](#) montre l'amélioration de l'impédance à l'entrée de la cuvette en présence de la charge 50 Ω soudée aux deux plaques. Le comportement résistif de l'impédance est maintenu jusqu'à 345 MHz avec une partie réelle autour de 50 Ω et une partie imaginaire négligeable. La présence de la 50 Ω en parallèle avec la cuvette 4-mm, sous forme de la première configuration, ajuste l'adaptation d'impédance de la structure à 50 Ω et élargie sa bande passante, par comparaison au cas de la cuvette 4-mm sans la charge 50 Ω ayant une impédance plus élevée autour de 80 Ω .



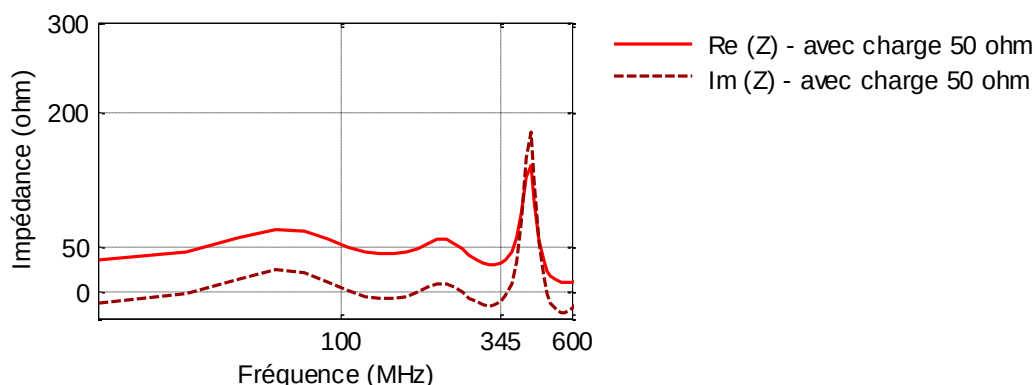


Figure 80 Partie réelle et partie imaginaire de l'impédance à l'entrée de la cuvette biologique modifiée de distance inter-électrodes de 4 mm placées en parallèles avec une charge 50 Ω soudée aux deux plaques métalliques tenant la cuvette biologique.

La réponse fréquentielle des deux cuvettes biologiques modifiées de distance inter-électrodes de 1-mm et 4-mm étant connues, la réponse temporelle de ces cuvettes à des impulsions électriques de haute intensité et de différentes durées a été évaluée expérimentalement et numériquement à l'aide d'un logiciel numérique 3D. Cela permet d'identifier l'allure temporelle et le niveau du champ appliqué au milieu biologique placé dans ces applicateurs et exposé aux impulsions électriques.

III.3.1.3 Caractérisation temporelle expérimentale

III.3.1.3.1. Banc expérimental

Le banc expérimental qui permet d'exposer les milieux biologiques aux impulsions électriques est présenté [Figure 81](#). Il comporte le générateur d'impulsion électrique, des câbles de transmission coaxiaux, des instruments de mesure de signaux, l'applicateur contenant le milieu biologique et l'objectif du microscope.

Dans notre travail, deux générateurs d'impulsions provenant de la société FID (FID Technology, Germany) ont été utilisés pour délivrer des impulsions électriques de durées courtes et ultracourtes. Le premier est le générateur haute tension modèle 10-1NM-T (FPG 10-1NM-T, FID Technology, Germany). Il est capable de délivrer des impulsions monopolaires courtes de durée à mi-hauteur 14 ns avec un temps de montée de 5.5 ns et une amplitude ajustable entre 4 kV et 10 kV. Le deuxième générateur haute tension est de modèle 20-1NJ10 (FPG 10-1NM-T, FID Technology, Germany). Les impulsions délivrées par ce générateur sont courtes et ultracourtes de durée à mi-hauteur comprise entre 3 ns et 10 ns et d'amplitude variable



Afin de mesurer en temps réel les impulsions qui se propagent dans le banc expérimental, un tap-off (245-NMFEP-100, Barth Electronics Technology, USA) a été utilisé. C'est un extracteur des signaux à trois ports. Comme montré [Figure 81](#), les ports 1 et 2 du tap-off sont connectés, respectivement, au générateur d'impulsion et à l'applicateur avec deux câbles coaxiaux (RG 214 cable) d'impédance caractéristique $50\ \Omega$. Le troisième port (port 3) est le port de mesure. Il est connecté à un oscilloscope numérique ayant une bande passante de 12 GHz (Tektronix TDS 6124C, Tektronix, Inc., USA). L'impédance de la ligne coaxiale principale liant directement les ports 1 et 2 est de $50\ \Omega$ tandis que l'impédance du port de mesure est de $4950\ \Omega$, ce qui permet de mesurer les impulsions de tensions avec un rapport de 1/100 de l'amplitude principale (ou une atténuation de 40 dB en échelle logarithmique).

The diagram illustrates the experimental setup for measuring the reflection coefficient of a biological applicator. The setup includes the following components and connections:

- Generateur nsPEF**: The signal source, connected to **port 1** of the attenuator.
- attenuateur 20 dB**: A 20 dB attenuator with a characteristic impedance of 4950Ω .
- tap-off**: A tap-off point connected to **port 2** of the attenuator, which is connected to the **Oscilloscope**. The oscilloscope displays the forward voltage V_f (solid line) and the reflected voltage V_r (dashed line).
- Applicateur biologique**: The biological applicator, connected to **port 3** of the attenuator.
- Impulses**: The diagram shows the **impulsion transmise** (transmitted impulse) and the **impulsion réfléchie** (reflected impulse) at the output of the applicator.

The reflection coefficient is calculated as the ratio of the reflected voltage to the forward voltage:

$$\Gamma = \frac{V_r}{V_f}$$

Malak SOUEID | Thèse de doctorat | Université de Limoges | 2016



III.3.1.3.2. Type des impulsions traitées

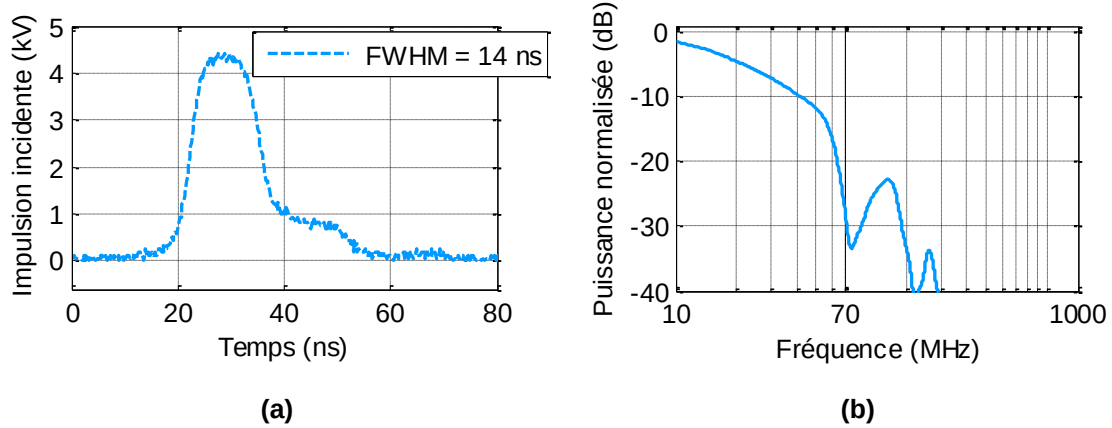
Les études temporelles présentées dans ce chapitre ont été conduites essentiellement avec trois impulsions électriques monopolaires de durées à mi hauteur de 3 ns, 8 ns et 14 ns. Ces impulsions de durée différente, courte et ultracourte, permettent de mettre en évidence la capacité des applicateurs sans contact électrodes/milieu biologique à transmettre des impulsions ultracourtes par rapport aux applicateurs avec contact électrodes/milieu biologique. Les résultats obtenus sont extrapolables pour d'autres types d'impulsions.

Les acquisitions temporelles des impulsions traitées ainsi que leurs spectres fréquentiels normalisés sont présentés [Figure 82](#). La première impulsion ou « l'impulsion 14-ns » ([Figure 82a](#)) est une impulsion monopolaire courte de durée à mi-hauteur 14 ns, délivrée par le générateur FID modèle 10-1NM-T. Cette impulsion a un temps de montée de 5.5 ns et une amplitude de 4.5 kV. Les deux autres impulsions ou « l'impulsion 3-ns » ([Figure 82e](#)) et « l'impulsion 8-ns » ([Figure 82c](#)) sont délivrées par le générateur FID modèle 20-1NJ10 et possèdent, respectivement, une durée à mi-hauteur de 3 ns et 8 ns. Ces deux impulsions ont une forme monopolaire avec un temps de montée de 1 ns mais possèdent des amplitudes différentes de 3.1 kV et 4.6 kV respectivement. Cela est dû à la limitation du générateur en tension lorsqu'on diminue la durée de l'impulsion.

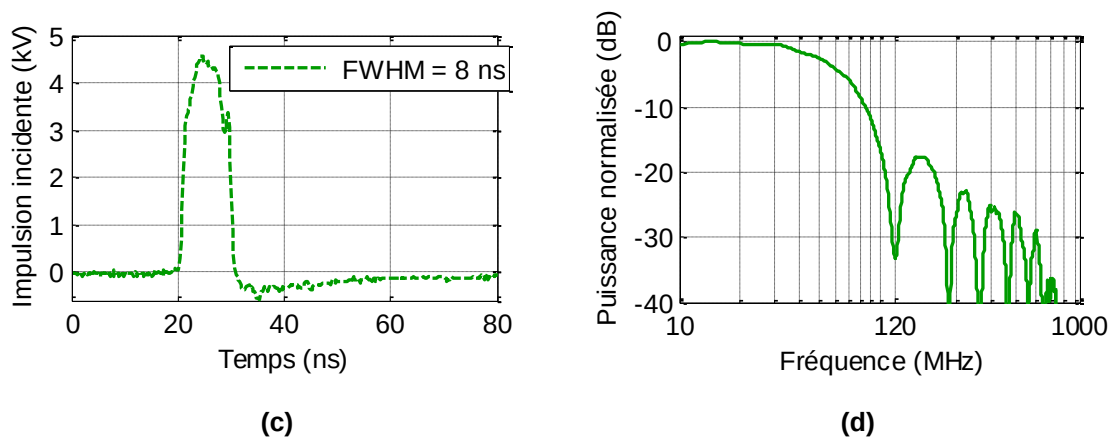
Comme nous remarquons, les formes temporelles de ces impulsions sont très proches ce qui donne des spectres fréquentiels d'allure presque similaire mais décalés en fréquence. L'impulsion 3-ns possède un spectre allant jusqu'à 200 MHz ([Figure 82f](#)), quatre fois plus large que celui de l'impulsion 14-ns de 50 MHz ([Figure 82b](#)) (bande passante définie à -10 dB du spectre fréquentielle). Cela exige de nouvelles contraintes expérimentales surtout en ce qui concerne la bande passante de l'applicateur contenant le milieu biologique. L'applicateur doit être adapté sur une large bande passante fréquentielle comparable à celle de l'impulsion délivrée par le générateur pour la transmettre fidèlement sans pertes du contenu spectrale et déformation de la forme temporelle.



Impulsion 14 ns



Impulsion 8 ns



Impulsion 3 ns

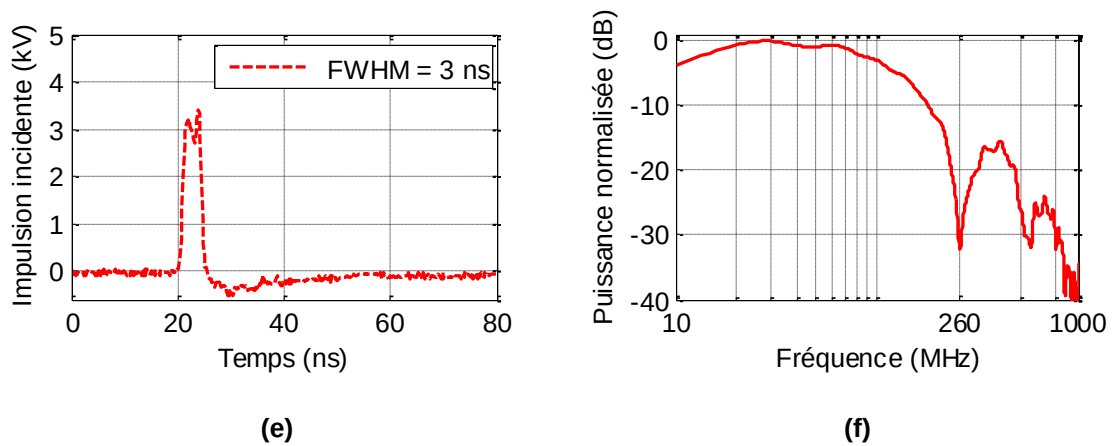


Figure 82 Allures temporelles et spectres fréquentiels des trois impulsions FID utilisées dans notre travail pour étudier le comportement fréquentiel et temporel des différents applicateurs. Allure temporelle de l'impulsion monopolaire de durée à mi-hauteur 14 ns et d'amplitude 4.5 kV (a) et son spectre fréquentiel (b). Allure temporelle de l'impulsion monopolaire de durée à mi-hauteur 8 ns et d'amplitude 4.6 kV (c) et son spectre fréquentiel (d). Allure temporelle de l'impulsion monopolaire de durée à mi-hauteur 3 ns et d'amplitude 3.1 kV (e) et son spectre fréquentiel (e).

III.3.1.3.3. Réponse temporelle des cuvettes biologiques

La tension transmise au milieu biologique par les cuvettes modifiées de distances inter-électrodes de 1 mm et 4 mm, a été obtenue à partir des tensions incidente et réfléchie mesurées à l'entrée de chaque cuvette, pour les trois impulsions incidentes précédentes (Figure 82). La réponse temporelle a été évaluée pour trois structures différentes : la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm sans la charge 50 Ω et la cuvette de de distance inter-électrodes de 4 mm sans et avec la charge 50 Ω en parallèle soudée aux plaques métalliques.

Les Figure 83 et Figure 84 montrent les allures temporelles des impulsions de tension obtenues par mesure :

- L'impulsion incidente qui représente le signal délivré par le générateur.
- L'impulsion réfléchie à l'entrée de la cuvette.
- L'impulsion appliquée (ou transmise) au milieu biologique placé dans la cuvette. Elle représente la somme de l'impulsion incidente et l'impulsion réfléchie à l'entrée de la cuvette.

Les amplitudes maximales des tensions incidentes et transmises à l'entrée de chaque structure, et les rapports tension transmise/tension incidente sont aussi présentés dans le Tableau III-1 pour les trois types d'impulsions électriques.

Pour la cuvette 1-mm sans une charge 50 Ω ayant une bande passante à -10 dB de 260 MHz, des niveaux de réflexion acceptables sont observées Figure 83. Le rapport de tension entre les impulsions incidente et transmise est d'environ 0.8 dans le cas des impulsions 3-ns et 8-ns, et 0.9 dans le cas de l'impulsion 14-ns (Tableau III-1). Cette faible atténuation en amplitude de 20 % obtenue pour les impulsions 3-ns et 8-ns est due à la dégradation du contenu spectrale des fronts de montée et de descente de ces impulsions de durée 1 ns situé à des fréquences supérieures à la bande passante de la cuvette 1-mm.

Pour la cuvette 4-mm sans la charge 50 Ω ayant une bande passante de 270 MHz, la Figure 84 montre que l'amplitude de la tension transmise est supérieure à l'amplitude de la tension incidente pour les trois types d'impulsions. Ceci est dû au signe positif de l'impulsion réfléchie par la cuvette qui vient s'ajouter à l'impulsion incidente positive. Ce résultat peut être justifié par la haute impédance de la cuvette 4-mm sans la charge 50 Ω étudiée précédemment (Figure 77). Des rapports tension transmise/tension incidente de 1.3, 1.2 et 1.2 ont été obtenus, respectivement, pour les impulsions incidentes 3-ns, 8-ns et 14-ns de tensions maximales 3.1



kV, 4.6 kV et 4.5 kV (Tableau III-1). On a donc un gain en tension de 30 % dans le cas de l'impulsion 3-ns, et de 20 % dans le cas des impulsions 8-ns et 14-ns.

Pour la cuvette 4-mm avec la charge 50 Ω en parallèle, qui est mieux adaptée en impédance que la configuration précédente et qui possède une bande passante plus large allant jusqu'à 360 MHz, l'impulsion réfléchie est plus faible et plutôt de signe négatif (impédance équivalente légèrement inférieure à 50 Ω (Figure 80)). L'amplitude de la tension transmise est donc légèrement inférieure à celle de la tension incidente. Le rapport de la tension transmise sur la tension incidente est d'environ 0.95 pour les trois impulsions incidentes 3-ns, 8-ns et 14-ns (Tableau III-1). Dans l'objectif de transmettre le maximum d'amplitude de tension au milieu biologique, la cuvette 4-mm sans la charge 50 Ω en parallèle peut être préférée par rapport à la cuvette 4-mm avec la charge pour l'exposition des milieux biologiques aux impulsions électriques. En revanche, dans ce dernier cas la réflexion est plus forte mais acceptable, pour cela il faut veiller à protéger le générateur. En ce qui concerne la forme et la durée des impulsions, pas de distorsions remarquables observées pour les trois différentes configurations de la cuvette biologique. Un bon niveau de cohérence a été obtenu entre les impulsions incidentes et transmises dans les trois cas (Figure 82 et Figure 83).

Tableau III-1 Amplitudes maximales des tensions incidentes et transmises mesurées à l'aide du tap-off à l'entrée des trois structures différentes contenant le milieu biologique: la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm sans la charge 50 Ω et la cuvette de de distance inter-électrodes de 4 mm sans et avec la charge 50 Ω . Résultats pour les trois impulsions incidentes de durées 14 ns, 8 ns et 3 ns.

	Impulsion 14-ns			Impulsion 8-ns			Impulsion 3-ns		
	V_{inc}	V_{trans}	$\frac{V_{trans}}{V_{inc}}$	V_{inc}	V_{trans}	$\frac{V_{trans}}{V_{inc}}$	V_{inc}	V_{trans}	$\frac{V_{trans}}{V_{inc}}$
Cuvette 1-mm sans 50 Ω	4.5	4	0.9	4.6	3.9	0.84	3.1	2.5	0.8
Cuvette 4-mm sans 50 Ω	4.5	5.4	1.2	4.6	5.5	1.2	3.1	4	1.3
Cuvette 4-mm avec 50 Ω	4.5	4.3	0.95	4.6	4.4	0.95	3.1	3	0.96

- V_{inc} : Tension incidente en kV

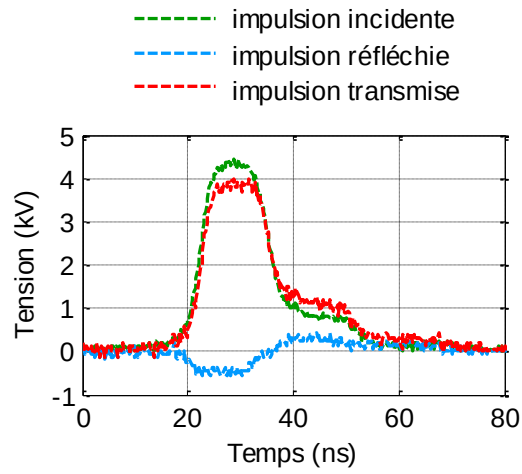
- V_{trans} : Tension transmise en kV



Pour résumer, en se basant sur l'étude du comportement temporel des trois configurations précédentes des cuvettes biologiques, les deux configurations choisies pour l'exposition du milieu biologique aux impulsions nsPEFs sont les deux cuvettes de distances inter-électrodes de 1 mm et de 4 mm sans la charge 50 Ω . Ces deux configurations seront caractérisées dans la suite en termes de champ électrique transmis au milieu biologique contenu dans chaque cuvette.

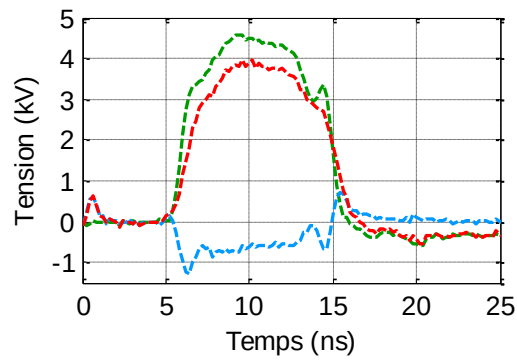


La cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm



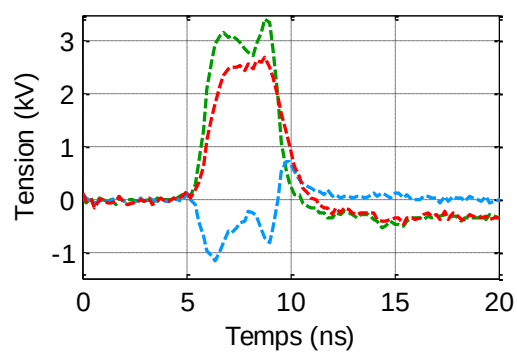
Impulsion 14 ns

(a)



Impulsion 8 ns

(b)



Impulsion 3 ns

(c)

Figure 83 Allures temporelles des impulsions électriques incidentes, réfléchies et transmises à l'entrée de la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm contenant l'échantillon biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14-ns (a), 8-ns (b) et 3 ns (c).



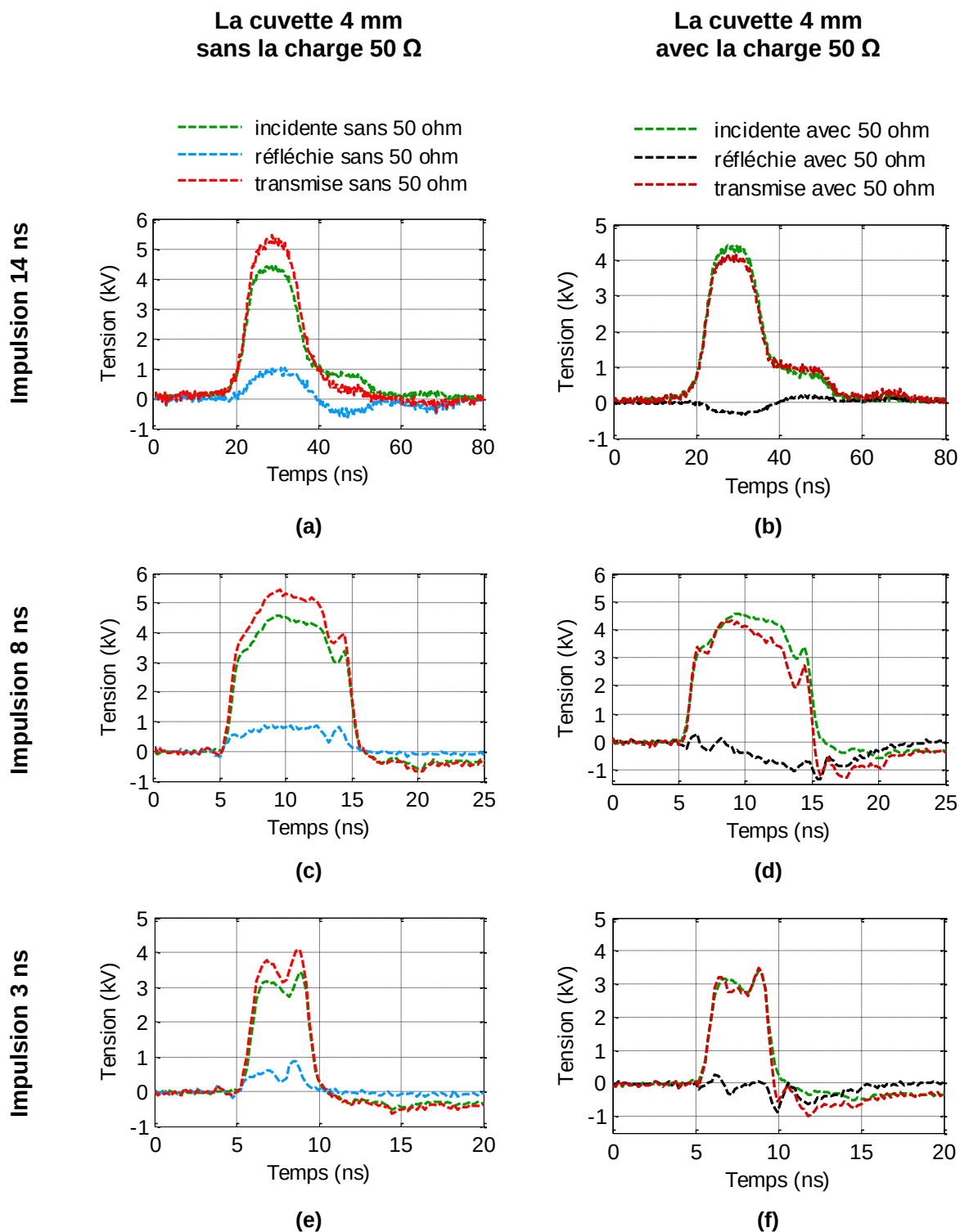


Figure 84 Allures temporelles des impulsions électriques incidentes, réfléchies et transmises à l'entrée de la cuvette de distance inter-électrodes de 4 mm contenant l'échantillon biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, pour la cuvette sans la charge 50 Ω (a) et avec la charge 50 Ω (b). Résultats pour l'impulsion incidente 8 ns, pour la cuvette sans la charge 50 Ω (c) et avec la charge 50 Ω (d). Résultats pour l'impulsion incidente 3 ns, pour la cuvette sans la charge 50 Ω (e) et avec la charge 50 Ω (f).



III.3.1.4 Caractérisation numérique

Pour avoir les performances électromagnétiques des cuvettes biologiques modifiées comme applicateurs d'impulsions électriques, et compléter les mesures expérimentales, les cuvettes ont été modélisées en 3D et simulé à l'aide du logiciel CST.

III.3.1.4.1. Modélisation numérique des cuvettes biologiques modifiées

Les structures des deux cuvettes biologiques modifiées contenant le milieu biologique ont été modélisées de la manière la plus réaliste possible. Le milieu biologique a été modélisé comme étant un milieu homogène. Ses propriétés diélectriques sont celles du milieu de culture HBSS par comparaison aux expérimentations à savoir : une permittivité diélectrique de 78, une conductivité électrique de 1.5 S/m et une densité volumique de 1050 kg/m³. Ces propriétés sont considérées constantes sur la bande de fréquence des impulsions électriques appliquées de quelques centaines de MHz.

Les cuvettes ont été modélisées avec les dimensions présentées [Figure 85](#). Les électrodes des cuvettes, les deux plaques de support et les parties métalliques du connecteur BNC ont été considérées des conducteurs parfaits. Les parties diélectriques ont été modélisées avec les propriétés diélectriques indiquées dans le [Tableau III-2](#). La permittivité diélectrique du silicone remplissant les cuvettes a été fixée à 4. Le plexiglas des cuvettes et le téflon (PTFE) du connecteur ont une constante diélectrique de 3.6 et 2.1, respectivement. Les signaux d'excitations ont été délivrés au plan d'entrée du connecteur par un port guide d'onde comme étant une source d'alimentation ayant une impédance caractéristique de 50 Ω . Le maillage est généré d'une façon automatique par le logiciel en se basant sur la plage fréquentielle considérée dans la simulation. Cependant, puisque les volumes du milieu biologique placés dans les cuvettes sont faibles par rapport aux dimensions des autres parties de la structure, le milieu biologique a été maillé uniformément dans toutes les directions avec un maillage très fin hexaédrique de pas 50 μm .



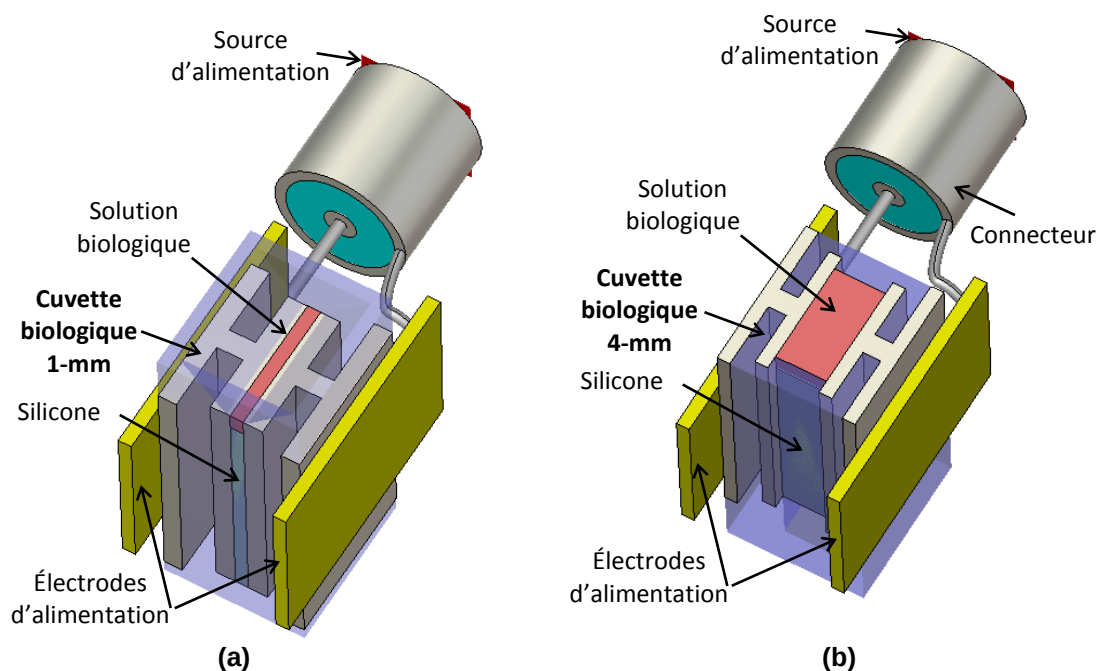


Figure 85 Cuvettes biologiques modélisées et simulées. La cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et la cuvette de distance inter-électrodes 4 mm (b).

Tableau III-2 Propriétés des parties diélectriques des structures modélisées des cuvettes biologiques.

Diélectrique	Propriétés diélectriques	
	Conductivité électrique (S/m)	Permittivité diélectrique
Milieu biologique	1.5	78
Silicone	0	4
Plexiglas	0	3.6
Téflon (PTFE)	0	2.1

III.3.1.4.2. Validation des modèles numériques des cuvettes biologiques modifiées

Pour valider les structures numériques des cuvettes, une caractérisation numérique dans le domaine fréquentiel en termes de paramètre S_{11} des deux modèles a été effectuée et comparée aux résultats obtenues par les mesures. Cela nous permet de considérer les résultats numériques de la caractérisation temporelle ultérieure comme une vraie prévision du comportement de ces applicateurs et non seulement une approche intuitive.



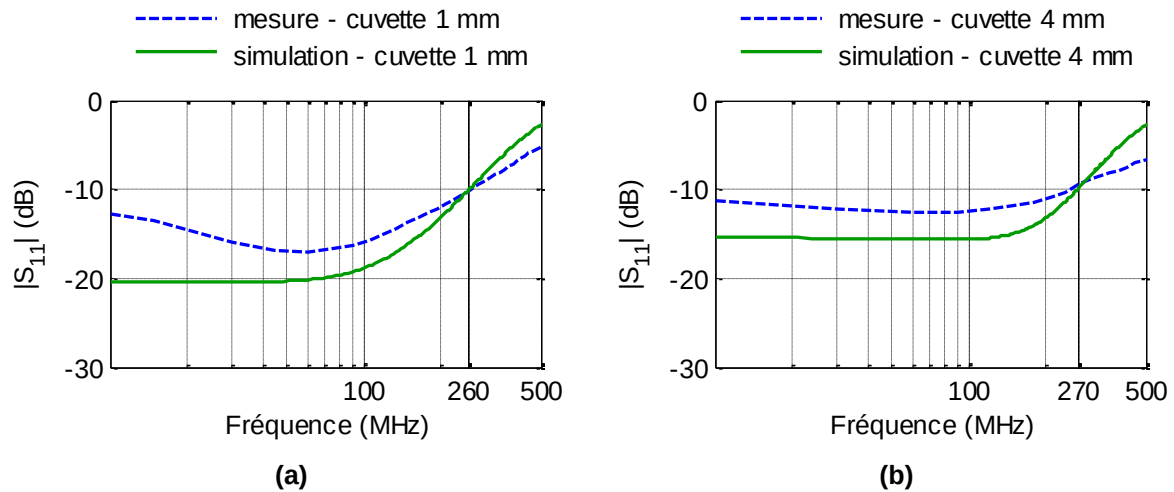


Figure 86 Module du coefficient de réflexion S_{11} obtenus par mesure et simulation pour la cuvette de gap inter-électrodes de 1-mm (a) et 4-mm (b).

Coefficient de réflexion numérique

Les deux structures modélisées ont été simulées et les modules du paramètre S_{11} ont été extraits jusqu'à 500 MHz. La Figure 86 montre les coefficients de réflexion S_{11} obtenues par simulation et par mesure à l'entrée du connecteur pour les deux cuvettes biologiques de gap 1 mm et 4 mm. Ces dernières ont été remplies, respectivement, de 13 μl et 64 μl de la solution HBSS. La comparaison des courbes de S_{11} indique une bonne cohérence entre les mesures et les simulations avec une différence des niveaux de S_{11} en basses fréquences. Cela est dû au fait que dans les simulations numériques les structures sont modélisées d'une manière parfaite, sans prendre en compte les pertes aux basses fréquences dues aux couplages électriques (effet capacitif). Les valeurs de la bande passante à -10 dB sont très semblables en mesure et simulation pour chaque cas : 260 MHz pour la cuvette 1-mm et 270 MHz pour la cuvette 4-mm. L'approche numérique de ces deux applicateurs est donc conforme avec leurs structures réelles.

La conformité des modèles numériques avec les structures réelles des cuvettes biologiques modifiées étant validée, différentes impulsions électriques ont été appliquées à ces applicateurs pour tester leurs réponses dans le domaine temporel.



Représentations temporelles des champs électriques appliqués

La [Figure 88](#) présente l'allure temporelle du champ électrique incident mesuré à l'entrée des deux cuvettes (E_{inc_mesure}), superposé avec le champ appliqué au milieu biologique obtenu par mesure (E_{app_mesure}) et par simulation ($E_{app_simulation}$). E_{inc_mesure} et E_{app_mesure} ont été calculé à partir de l'équation III-8. $E_{app_simulation}$ a été extrait des simulation en un point au centre de la solution biologique.

E_{app_mesure} et $E_{app_simulation}$ La comparaison des résultats montre un très bon niveau de cohérence entre le champ appliqué mesuré et celui obtenu par simulation. Les formes temporelles ([Figure 88](#)) et les niveaux des champs appliqués ([Tableau III-3](#)) sont presque confondus en mesure et en simulation dans les cas des deux cuvettes et pour les trois types d'impulsions incidentes.

E_{inc_mesure} et E_{app} Pour la cuvette de distance inter-électrodes de 4 mm, les résultats montrent un bon accord entre les valeurs du champ incident et du champ appliqué avec un rapport d'intensité d'environ 0.9, pour les trois différentes impulsions électriques. Pour des champs incidents d'intensité 1.12 MV/m, 1.15 MV/m et 0.87 MV/m (correspondant respectivement aux impulsions 14-ns, 8-ns et 3-ns) des champs appliqués d'intensité 1.1 MV/m, 1.06 MV/m et 0.77 MV/m ont été obtenus, respectivement, dans le milieu biologique ([Tableau III-3](#)). Cette faible atténuation de 10 % peut être due aux pertes diélectriques du milieu.

Pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm, l'amplitude du champ électrique est conservée dans le cas de l'impulsions 14-ns (un rapport d'intensité de 0.9) tandis qu'elle est un peu plus dégradée pour les impulsions incidentes 3-ns et 8-ns (un rapport d'intensité de 0.8). Pour ces deux dernières impulsions, des intensités de champ appliqué de 2.6 MV/m et 3.9 MV/m ont été obtenue pour des champs incidents de 3.1 MV/m et 4.6 MV/m. Alors que pour l'impulsion 14-ns un champ appliqué de 4 MV/m a été obtenu pour une intensité incidente de 4.5 MV/m ([Tableau III-3](#)). Cela est justifié par la désadaptation de la cuvette 1-mm aux hautes fréquences. En effet, les impulsions 3-ns et 8-ns de courte durée possède un large spectre fréquentielle ([Figure 82](#)). Et puisque la cuvette 1-mm possède une bande passante plus faible de 260 MHz, le contenu spectral de ces impulsions situé au-delà de cette fréquence a été dégradé.

En ce qui concerne la forme temporelle des champs appliquées, des faibles déformations ont été observées dans le cas des deux impulsions 3-ns et 8-ns pour les cuvettes 1-mm et 4-mm ([Figure 88](#)). Cela est dû à la courte durée de 1 ns des fronts de montée et de descente de ces



impulsions dont le contenu spectral correspondant se situe aux hautes fréquences où les cuvettes ne sont pas bien adaptées. Dans le cas de l'impulsion 14-ns ayant des fronts de montée et de descente plus large (5.5 ns), le champ appliqué et le champ incident possèdent presque la même forme temporelle pour les deux cuvettes biologiques.

Tableau III-3 Amplitudes maximales des champs incidents et appliqués au milieu biologique obtenues par mesure et simulation pour les deux cuvettes de distances inter-électrodes de 1 mm et 4 mm. Résultats pour les trois impulsions incidentes de durées 14 ns, 8 ns et 3 ns.

	Impulsion 14-ns			Impulsion 8-ns			Impulsion 3-ns		
	E_{inc_mes}	E_{app_mes}	E_{app_sim}	E_{inc_mes}	E_{app_mes}	E_{app_sim}	E_{inc_mes}	E_{app_mes}	E_{app_sim}
Cuvette 1-mm	4.5	4	4	4.6	3.9	4	3.1	2.6	2.7
Cuvette 4-mm	1.12	1.07	1.1	1.15	1.06	1	0.87	0.77	0.77

- $E_{inc_measure}$: Champ électrique incident obtenu par mesure, exprimé en MV/m

- $E_{app_measure}$: Champ électrique appliqué obtenu par mesure, exprimé en MV/m

- $E_{app_simulation}$: Champ électrique appliqué obtenu par simulation, exprimé en MV/m



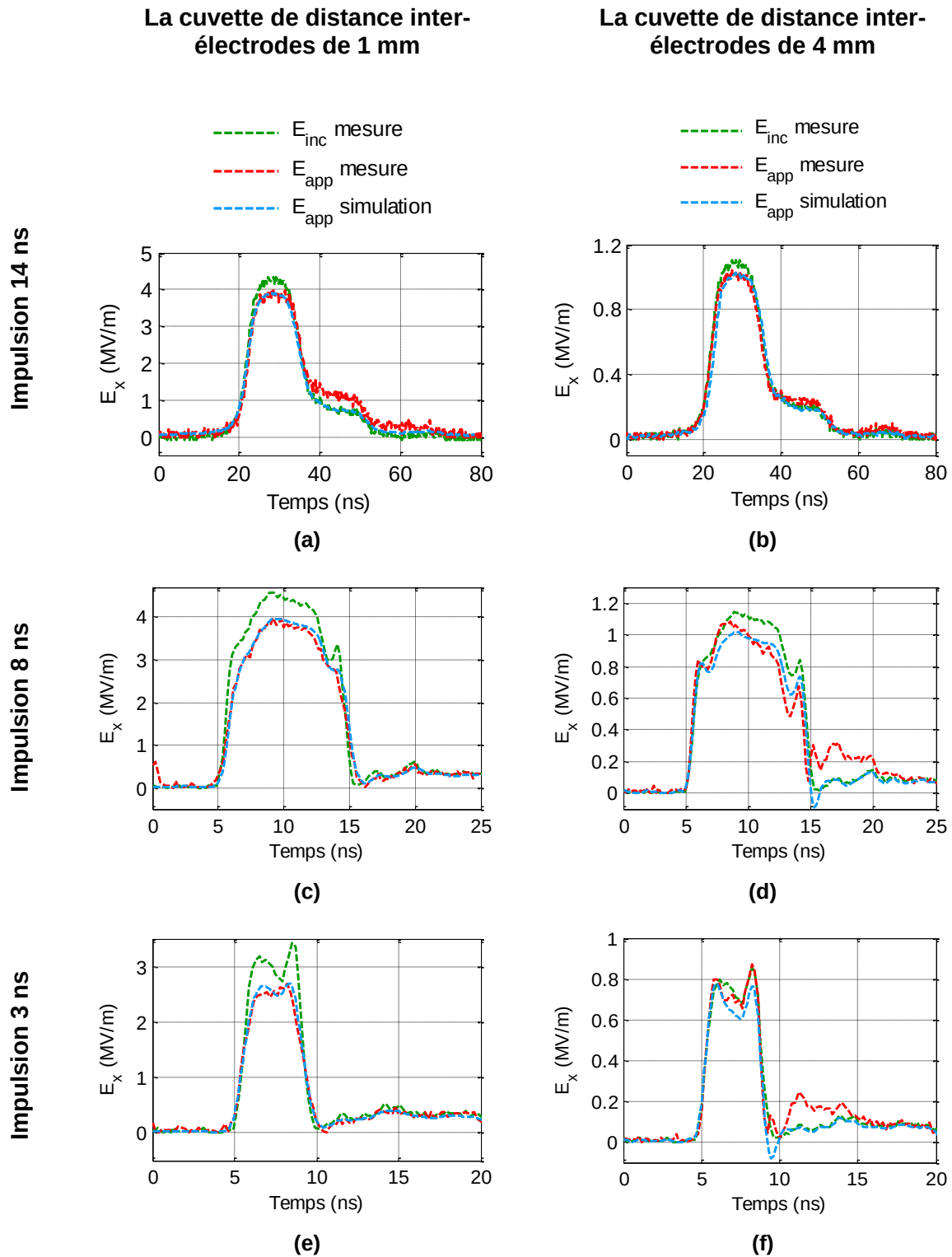


Figure 88 Allures temporelles des champs électriques appliqués dans un échantillon biologique exposé dans les deux cuvettes biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et 4 mm (b). Résultats pour l'impulsion incidente 8 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (c) et 4 mm (d). Résultats pour l'impulsion incidente 3 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (e) et 4 mm (f).



Représentations fréquentielles des champs électriques appliqués

Pour une visualisation plus complète, les spectres fréquentiels des impulsions appliquées ont été tracés et comparées à ceux des impulsions incidentes. Les courbes sont présentées [Figure 89](#).

E_{app_mesure} et $E_{app_simulation}$ La comparaison du spectre du champ appliqué mesuré à celui du champ appliqué simulé, montre une très bonne cohérence entre mesure et simulation. Les deux spectres sont presque confondus quel que soit l'impulsion incidente.

E_{inc_mesure} et E_{app} Comme nous observons, les spectres fréquentiels du champ appliqué et du champ incident sont presque confondus dans le cas de l'impulsion 14-ns pour les cuvettes 1-mm ([Figure 89a](#)) et 4-mm ([Figure 89b](#)). Cela confirme la conservation du contenu spectral de cette impulsion par les deux cuvettes en raison de sa largeur inférieure à la bande passante des cuvettes. Tandis que pour les impulsions 3-ns et 8-ns, un manque du contenu spectral du champ appliqué a été observé par rapport à celui du champ incident aux hautes fréquences. Cela justifie la déformation des fronts de montée des champs appliqués vue dans le domaine temporel. Ainsi qu'une faible déformation (ondulation) aux basses fréquences. Cela est dû à la déformation temporelle du palier des impulsions, dont le contenu spectral se situe aux basses fréquences, suite à la dégradation du front de montée.



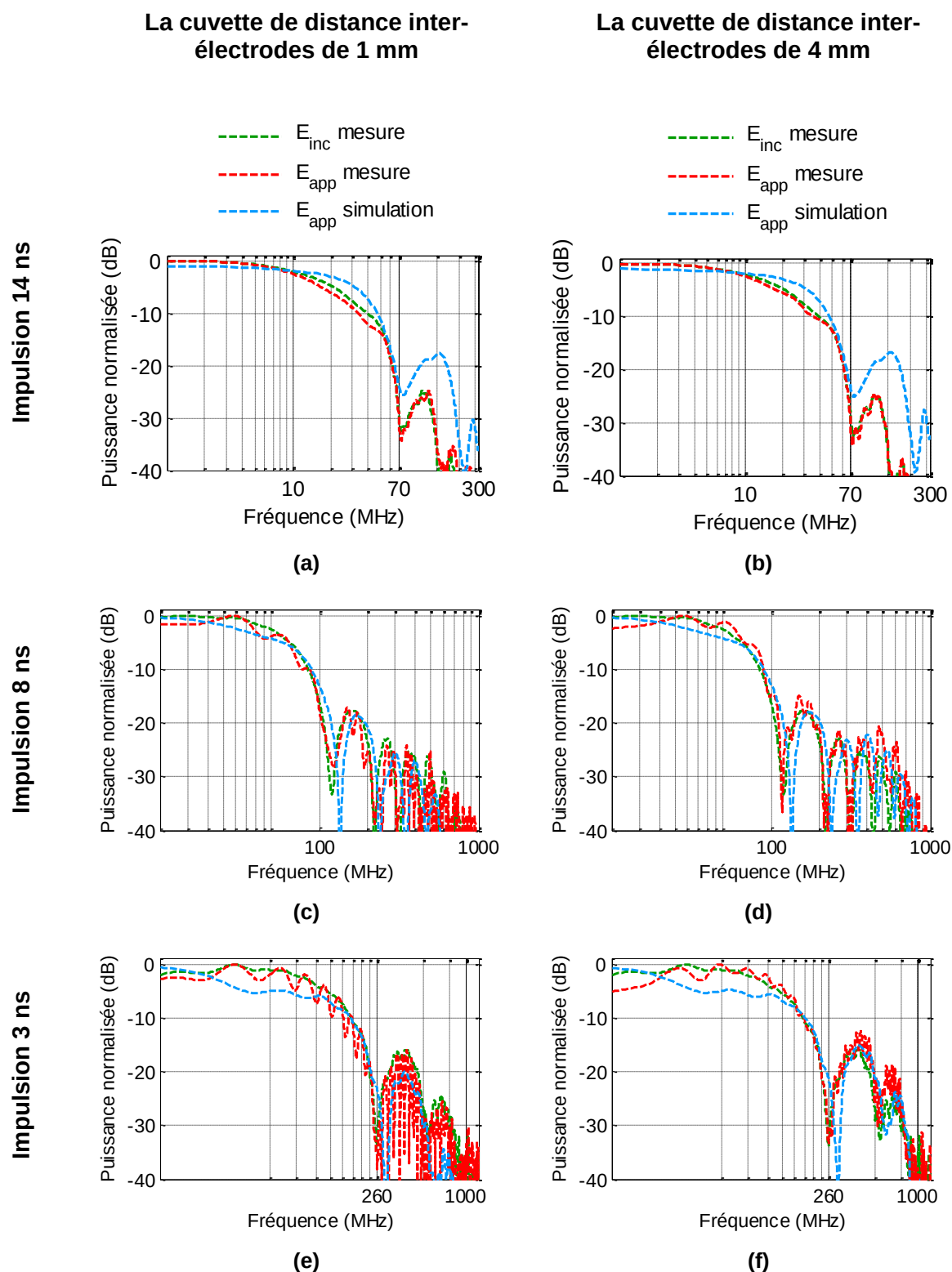


Figure 89 Spectres fréquentiels des champs électriques appliqués dans un échantillon biologique exposé dans les deux cuvettes biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et 4 mm (b). Résultats pour l'impulsion incidente 8 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (c) et 4 mm (d). Résultats pour l'impulsion incidente 3 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (e) et 4 mm (f).



Distribution spatiale du champ électrique appliquée

Pour observer la distribution globale du champ électrique entre les deux électrodes de chaque cuvette, la cartographie spatiale du champ a été aussi évaluée pour les impulsions 3-ns, 8-ns et 14-ns. Les résultats présentés [Figure 90](#) correspondent à la distribution spatiale du champ dans le milieu biologique exposé à l'impulsion 14-ns. Nous avons choisi de présenter cette impulsion exactement puisqu'elle a déjà été utilisée par les biologistes de notre équipe pour exposer leurs échantillons biologiques. Les résultats sont extrapolables pour les autres impulsions. Le champ a été extrait à l'instant $t = 25$ ns où l'amplitude de l'impulsion 14-ns est maximale. Une très bonne homogénéité est observée dans tout le milieu biologique situé entre les électrodes et les niveaux de champs obtenus sont très intenses et correspondent aux valeurs vues précédemment ([Tableau III-3](#)). Le milieu biologique est exposé à une intensité maximale de 1.1 MV/m et 4 MV/m dans les cuvettes 1-mm et 4-mm, respectivement.

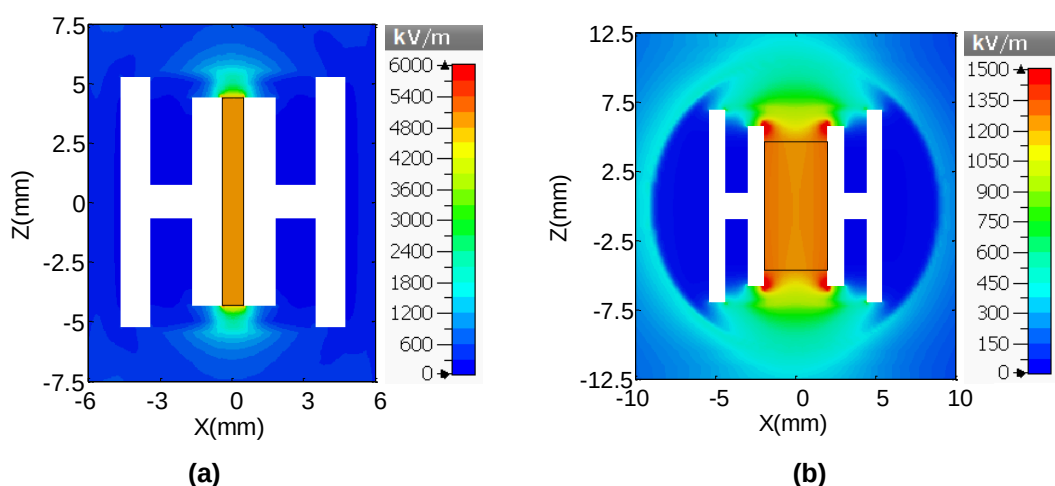


Figure 90 Distribution spatiale du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé dans les deux cuvettes biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et 4 mm (b). Les résultats correspondent à l'instant $t = 25$ ns ou l'amplitude du champ appliqué est maximale.

III.3.1.5 Expérimentations biologiques

Pour évaluer l'efficacité des deux cuvettes d'électroporation dans l'exposition des échantillons biologiques aux impulsions électriques nanosecondes, plusieurs expérimentations biologiques utilisant ces dispositifs ont été effectuées au sein du laboratoire Xlim de



l'Université de Limoges, par les biologistes de l'équipe pluridisciplinaire de recherche BioEPIX.

III.3.1.5.1. La cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm

La cuvette d'électroporation de distance inter-électrodes de 1 mm a été utilisée avec l'impulsion monopolaire de durée à mi-hauteur de 14 ns et d'amplitude 4.5 kV (Figure 82a) pour exposer des cellules cancéreuses.

Cinq types de lignées cellulaires cancéreuses ont été utilisées dans cette étude : MCF7 (86012803, Sigma), U87MG (89081402, Sigma), GL261 (Don du Dr Y. Charnay, Genève), Jurkat (88042803, Sigma) et HT29 (91072201, Sigma) dérivant respectivement d'un cancer du sein humain, glioblastome humain, glioblastome murin, lymphome T humain et cancer du côlon humain. Chaque expérience a été répétée trois fois indépendamment dans les mêmes conditions. Après exposition, les solutions cellulaires sont transférées dans des tubes pour une lecture au cytomètre en flux miniaturisé (Muse Cell Analyzer, Millipore) afin d'analyser le potentiel mitochondrial et la viabilité des cellules à l'aide d'un marqueur de polarisation mitochondriale (Tétra Méthyl Rhodamine Ethyl Ester, séquestré par les mitochondries actives, FP-41391A, FluoProbes) et d'un indicateur de perméabilité membranaire (7-AminoActinomycine D, intercalant nucléaire d'ADN, A9400-1MG), respectivement. En parallèle, ces cellules sont également observées immédiatement en microscopie inversée (AE 2000, Motic) pour évaluer les changements morphologiques (taille, diamètre, ...) potentiellement causés par le traitement aux nsPEFs. D'autre part, un éventuel effet thermique engendré par les nsPEFs a été vérifié par une mesure de température, en temps réel, à l'aide d'une sonde fluoroptique (Luxtron One, Lumasense Technologies, CA, USA) au cours de l'application du champ électrique sur les cellules.

Exposition des lignées cellulaires et résultats

Une solution cellulaire de 100 μ l choisie par convention à concentration 1.2×10^6 cellules/ml, de chaque lignée de cellules cancéreuses précédentes, est exposée à l'impulsion 14 ns dans la cuvette d'électroporation de distance inter-électrodes de 1 mm. Le champ électrique généré entre les deux électrodes, révélé par les caractérisations électromagnétiques a une intensité de 4 MV/m. Un groupe contrôle (non exposé) de cellules à concentration identique est étudié dans les mêmes conditions sans exposition aux nsPEFs.



Ce système a démontré son efficacité et sa reproductibilité en provoquant la mort immédiate d'une partie de la population cellulaire suite à l'action de l'impulsion 14 ns. Cependant, seulement 13 μ l des cellules (soit 13%) étaient affectées par le champ appliqué entre les deux électrodes (équivalent au volume physiquement disponible entre les électrodes : 8 x 1.65 x 1 mm). De ce fait, l'alternative choisie pour augmenter le nombre de cellules exposées est de diminuer le volume de la suspension cellulaire à 55 μ l tout en conservant un même nombre de cellules.

En plus, l'action similaire des nsPEFs observée sur les 5 lignées est la preuve de leur capacité à être un traitement générique pour de nombreux types de cancer et à la grande adaptabilité à une thérapie personnalisée en fonction de la sensibilité du sous-type cancéreux de chaque patient.

III.3.1.6 Conclusion

Dans cette partie, une caractérisation électromagnétique de deux cuvettes biologiques modifiées de distances inter-électrodes de 1-mm et 4-mm a été effectuée. Les cuvettes ont été modifiées pour permettre la visualisation microscopique en temps réel du milieu biologique exposé, en les remplissant par des quantités données du silicone. La caractérisation effectuée dans le domaine fréquentiel a montré que cette modification a élargi la bande passante des cuvettes. Les cuvettes modifiées de distance inter-électrodes de 1 mm et de 4 mm ont montré leur adaptation jusqu'à, respectivement, 260 MHz et 270 MHz.

En plus, une caractérisation expérimentale et numérique des dispositifs a été réalisée dans le domaine temporel pour évaluer la capacité de ces dispositifs à transmettre des nsPEFs. Trois impulsions monopolaires de durée 3 ns, 8 ns et 14 ns ont été délivrées à chacune des deux cuvettes. Un bon niveau de cohérence entre les résultats simulés et la tension mesurée ont été obtenus. Les résultats ont montré que les cuvettes modifiées sont bien adaptées pour délivrer des impulsions de durée 3 ns, sachant qu'une cuvette biologique standard avait montré dans les études effectuées précédemment sa limitation pour des impulsions de durée de l'ordre de 3 ns. L'évaluation de la distribution du champ électrique dans le milieu exposé, a montré que la cuvette permet une exposition homogène du milieu avec des intensités élevées. Pour une tension incidente de 4.5 kV, les cuvettes 1-mm et 4-mm sont capables de fournir, respectivement, des champs d'intensités 4 MV/m et 1.07 MV/m.



Les expérimentations biologiques ont démontré l'efficacité et la reproductibilité de ce système en provoquant la mort immédiate d'une partie de la population cellulaire suite à l'action de l'impulsion 14 ns.



III.3.2. Le système à deux électrodes

Dans cette partie nous proposons un autre applicateur spécifique pour l'exposition des milieux biologiques aux nsPEFs. C'est un système à deux électrodes qui possède un avantage supplémentaire par rapport à la cuvette biologique, c'est qu'il permet l'exposition *in vivo* des tumeurs cancéreuses et non seulement des suspensions cellulaires.

La géométrie et les dimensions du système à deux électrodes proposée pour l'exposition d'un échantillon biologique aux impulsions électriques de durée nanosecondes sont présentées sur la [Figure 91](#). Il est composé de deux électrodes métalliques en acier reliées à l'âme centrale et au conducteur externe d'un connecteur BNC (Amphenol RF, USA). Les électrodes ont été conçues avec des aiguilles médicales 18G, de diamètre extérieur de 1.27 mm. Elles ont été légèrement pliées et aplaties au bout pour faciliter leur positionnement dans l'échantillon biologique. La distance qui les sépare est de 1.2 mm. Le canal d'exposition formé entre les deux électrodes a une longueur de 3 mm, une hauteur de 0.5 mm et une largeur de 1.2 mm. Pour assurer une bonne isolation électrique entre les électrodes et une stabilité mécanique du système, la partie extérieure des électrodes a été couverte avec une gaine isolante thermorétractable ayant une épaisseur de 0.6 mm. Cela fixe alors la distance entre les deux électrodes, placées l'une adjacente à l'autre, à 1.2 mm. Ce dispositif d'exposition a été ensuite plongé dans le milieu de culture typique des cellules biologiques le « HBSS ».

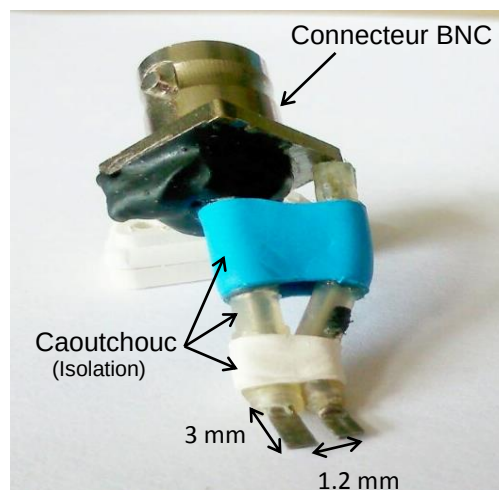


Figure 91 Photographie d'un système à deux électrodes.



III.3.2.1 Impédance théorique du système à deux électrodes

Une première approximation de l'impédance équivalente des deux électrodes plongeantes dans le milieu biologique peut être donnée par l'équation III-4.

La surface de chaque électrode en contact avec le milieu biologique est $S = 3 \text{ mm} \times 0.5 \text{ mm} = 1.5 \text{ mm}^2$. Pour ces valeurs de surface de contact électrode-milieu biologique S , de distance inter-électrodes $d = 1.2 \text{ mm}$ et de conductivité électrique du milieu $\sigma = 1.5 \text{ S/m}$, l'impédance équivalente théorique calculée est $Z = 533 \Omega$. L'ensemble électrodes-milieu biologique possède alors une haute impédance comparée à l'impédance caractéristique 50Ω .

Pour assurer l'adaptation d'impédance avec les lignes de transmissions et le générateur d'impulsion dont l'impédance interne est de 50Ω , une résistance 50Ω (RR5025, Vishay, PA, USA) a été placée en parallèle avec les deux électrodes comme montre la [Figure 91](#). L'impédance équivalente globale du système électrodes-milieu biologique-résistance devient alors environ 47Ω bien adaptée au générateur.

III.3.2.2 Caractérisation électromagnétique du système à deux électrodes

La caractérisation électromagnétique du système à deux électrodes a été effectuée avec une modélisation numérique et des mesures expérimentales dans les domaines fréquentiel et temporel. Trois paramètres significatifs ont été évalués : le coefficient de réflexion S_{11} , l'impédance équivalente du système et la distribution du champ électrique dans le milieu biologique exposé aux impulsions électriques.

III.3.2.2.1. Modélisation numérique du système à électrodes

La structure du système à électrodes modélisée est illustrée [Figure 92](#). Elle est constituée du connecteur BNC et des deux électrodes couvertes par le diélectrique placées dans une boîte en plastique contenant le milieu biologique. Tous les matériaux diélectriques ont été pris en compte dans les simulations par leurs propriétés électromagnétiques macroscopiques, à savoir la permittivité relative et la conductivité électrique. Les permittivités relatives et les conductivités électriques du milieu biologique et de la partie diélectrique du connecteur BNC constituée du téflon sont données dans le [Tableau III-2](#). Les permittivités du caoutchouc et de la boîte en plastique sont fixées, respectivement, à des valeurs de 3 et 2.5. Les parties métalliques des électrodes ainsi que les anneaux interne et externe du connecteur BNC ont été considérés comme des conducteurs électriques parfaits. L'alimentation électromagnétique est placée à l'entrée du dispositif d'exposition (à l'entrée du connecteur BNC) comme une source



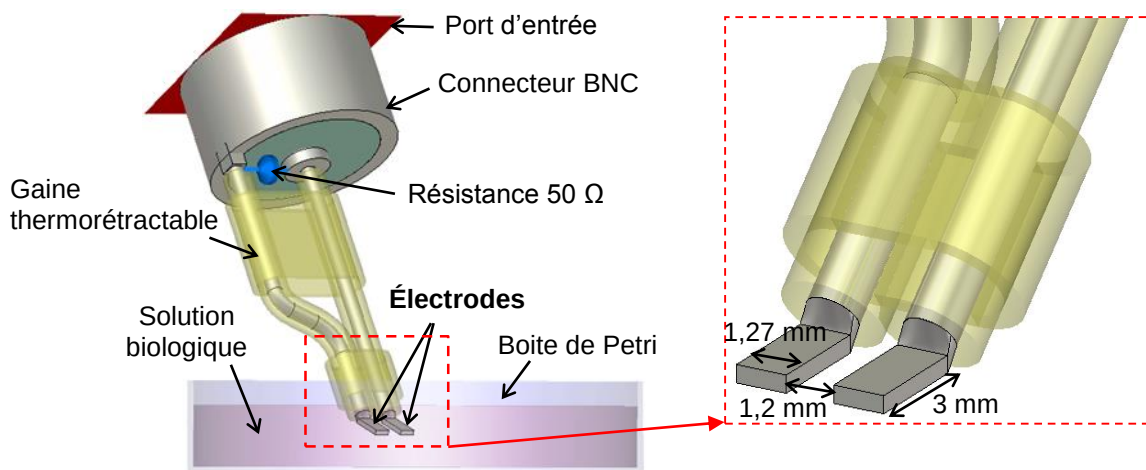


Figure 92 Système à deux électrodes modélisé et simulé.

localisée 50 Ω . Une résistance 50 Ω est également placée entre les deux électrodes. Pour optimiser le temps de calcul, le système a été maillé avec un maillage spatial non uniforme. Les pas de maillage varient de $50 \times 50 \times 50 \mu m^3$ pour le canal d'exposition entre les électrodes à $200 \times 200 \times 200 \mu m^3$ pour les autres parties de la structure.

III.3.2.2.2. Caractérisation dans le domaine fréquentiel

Coefficient de réflexion

Le coefficient de réflexion S_{11} a été mesuré avec un analyseur de réseau vectoriel (VNA 8753E, Agilent, USA) au niveau du connecteur BNC pour les deux configurations suivantes :

- Les deux électrodes dans l'air (c'est-à-dire sans le milieu biologique).
- Les deux électrodes placées dans une boîte en plastique contenant le milieu de culture typique des cellules biologique « HBSS ».

Cela permet d'étudier l'influence de la présence du milieu biologique sur la bande passante du système d'exposition.

La [Figure 93](#) présente les modules du paramètre S_{11} obtenus par mesures et simulations pour les deux configurations précédentes. Comme nous observons, les résultats des simulations sont en bon accord avec ceux des expérimentations. Dans le cas du système à électrodes sans le milieu biologique, la bande passante du système est supérieure à 500 MHz. La différence des niveaux de S_{11} observée aux basses fréquences est due aux légères différences entre la structure modélisée et la structure réelle du système à deux électrodes. La structure étant modélisée d'une manière parfaite, elle a souvent des niveaux plus adaptée en simulation qu'en mesure. Lorsque



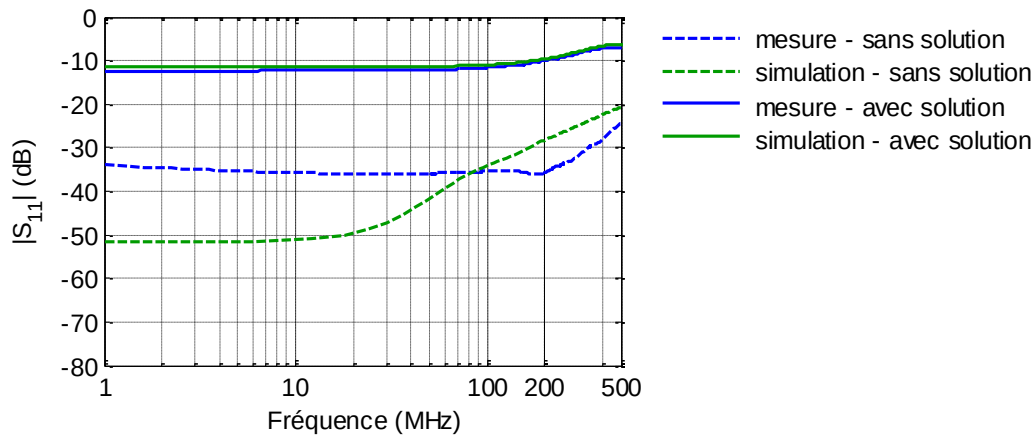


Figure 93 Modules du coefficient de réflexion S_{11} obtenus par mesure et simulation pour le système à deux électrodes sans et avec le milieu biologique.

les électrodes sont plongées dans le milieu biologique, le module de S_{11} devient inférieur à -10 dB jusqu'à 200 MHz lié à la charge des électrodes par le milieu biologique. Cette dernière valeur de 200 MHz peut être considérée comme une limite supérieure définissant la largeur de la bande passante fréquentielle du système d'exposition contenant le milieu biologique.

Impédance d'entrée mesurée

La Figure 94 présente le spectre fréquentiel d'impédance obtenu par mesure (Partie réelle et imaginaire) des deux configurations suivantes : les deux électrodes placées dans l'air et dans le milieu biologique. Sans le milieu biologique, la partie réelle de l'impédance, ayant une valeur de 50 Ω aux basses fréquences, ne présente aucune variation avec la fréquence comme prévue (jusqu'à environ 200 MHz), et la partie imaginaire est nulle. Aux hautes fréquences, l'impédance varie due à la variation des propriétés électromagnétiques des différents composants (la couche de caoutchouc...). Des résonances ont été observées due à la géométrie de la structure et aux transitions connecteur-électrodes. Avec le milieu biologique la partie imaginaire de l'impédance a une valeur négligeable pour des fréquences inférieures à 200 MHz. La partie réelle montre une faible déviation de 50 Ω et peut être néanmoins considérée constante (environ 40 Ω). Lorsque la fréquence augmente, la partie réelle de l'impédance dévie progressivement vers des valeurs plus élevées, augmentant ainsi la désadaptation d'impédance avec le générateur.



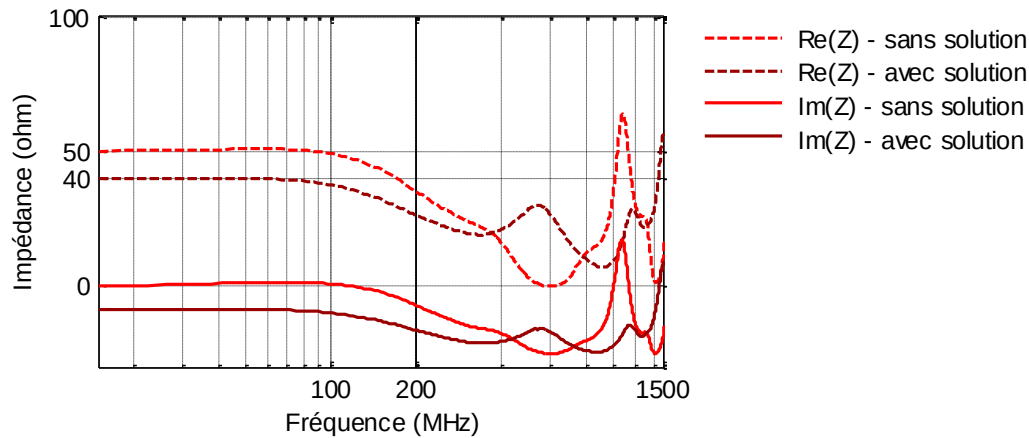


Figure 94 Parties réelles et parties imaginaires de l'impédance obtenues par mesure pour le système à deux électrodes sans et avec le milieu biologique.

III.3.2.2.3. Caractérisation dans le domaine temporel

La réponse temporelle du système à électrodes plongeant dans le milieu biologique a été évaluée pour les trois impulsions électriques précédentes générées par les deux générateurs « FID » (Figure 82). Le résultat est présenté Figure 95. La comparaison de l'impulsion incidente et l'impulsion transmise montre un bon niveau de cohérence entre elles en amplitude et en durée pour les trois types d'impulsions, l'impulsion réfléchi par le système à deux électrodes est très faible. Le rapport de tension entre les impulsions incidente et transmise est d'environ 0,9 (Tableau III-4).

Tableau III-4 Amplitudes maximales des tensions incidentes et transmises mesurées à l'aide du tap-off à l'entrée du système à électrodes. Résultats pour les trois impulsions incidentes de durées 14 ns, 8 ns et 3 ns.

	V_{inc}	V_{trans}	V_{trans}/V_{inc}
Impulsion 14-ns	4.5	4	0.89
Impulsion 8-ns	4.6	4	0.87
Impulsion 3-ns	3.1	2.8	0.9

- V_{inc} : Tension incidente en kV

- V_{trans} : Tension transmise en kV

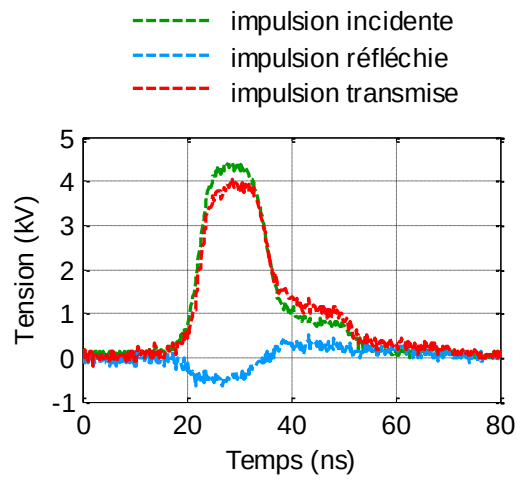
En effet, le premier zéro du spectre de fréquences de l'impulsion incidente la plus courte de durée à mi-hauteur 3 ns s'étend jusqu'à environ 260 MHz. Cependant, comme la densité



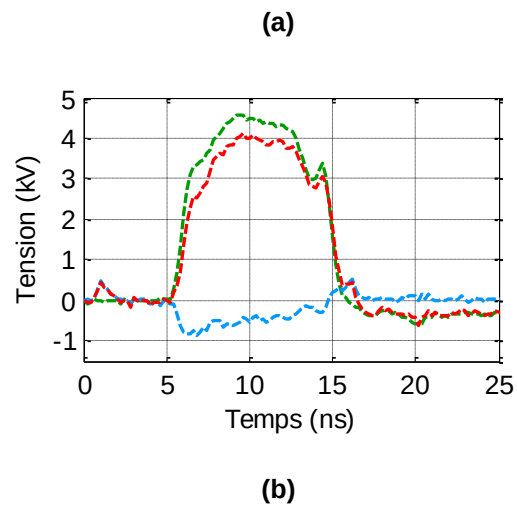
spectrale de puissance de l'impulsion est concentrée à des fréquences dans la bande passante du système à deux électrodes, l'impulsion incidente est conservée et transmise par cet applicateur sans distorsion ou atténuation importantes. Nous pouvons en déduire que ce système à deux électrodes est bien adapté aux impulsions courtes et ultracourtes de durée de l'ordre de quelques nanosecondes.



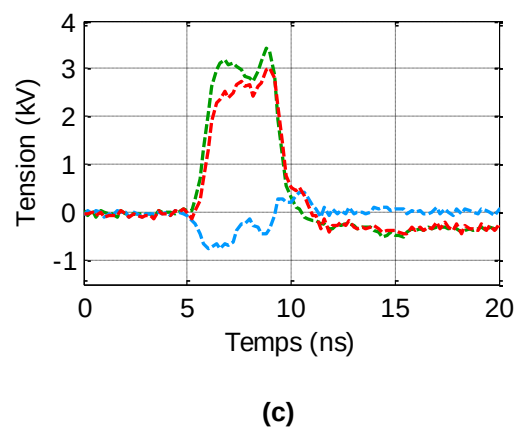
Le système à deux électrodes



Impulsion 14 ns



Impulsion 8 ns



Impulsion 3 ns

Figure 95 Allures temporelles des impulsions électriques incidentes, réfléchies et transmises à l'entrée du système à deux électrodes plongeant dans le milieu biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns (a), 8 ns (b) et 3 ns(c).



III.3.2.2.4. Champ électrique appliqué dans la solution biologique

Allure temporelle du champ électrique

La [Figure 96](#) montre l'allure temporelle du champ électrique appliqué au milieu biologique, obtenu par simulation, superposée avec le champ incident à l'entrée du système à électrodes et le champ appliqué, obtenus par mesure. Les champs électriques incident et appliqué mesurés, ont été calculé à partir de l'équation III-8 pour une distance entre les électrodes $d = 1.2 \text{ mm}$. Les résultats sont présentés pour les trois différents types d'impulsions ([Figure 82](#)).

Le résultat pour l'impulsion 14-ns est présenté [Figure 96a](#). Le champ appliqué en mesure et en simulation présente presque les mêmes caractéristiques du champ incident. L'amplitude du champ appliqué est légèrement inférieure à celle du champ incident. Le rapport champ appliqué/champ incident est de 0.95 ($\sim 3.6 \text{ MV/m}$ appliqué par rapport à 3.7 MV/m incident) ([Tableau III-5](#)). Le champ appliqué possède aussi la même longueur que le champ incident (durée à mi-hauteur de 14 ns) et la même durée des fronts de montée et de descente (5.5 ns). Ce système à électrodes est donc bien adapté à ce type d'impulsion nanosecondes. Le contenu spectral de l'impulsion incidente est bien conservé ([Figure 96b](#)).

Pour l'impulsion 8-ns, le champ électrique appliqué ([Figure 96c](#)) conserve la longueur (durée à mi-hauteur de 8 ns) avec une faible dégradation des fronts de montée et de descente (de durée de 1 ns) du champ incident. Ainsi que son intensité est légèrement inférieure à celle du champ incident. Le rapport champ appliqué/champ incident est de 0.8 ($\sim 3.4 \text{ MV/m}$ appliqué par rapport à 3.8 MV/m incident) ([Tableau III-5](#)). Pour l'impulsion 3-ns ayant la même durée de 1 ns du front de montée de l'impulsion 8-ns, le rapport champ appliqué/champ incident est aussi d'environ 0.8 ([Tableau III-5](#)). Une intensité de champ appliqué de 2.5 MV/m a été obtenue pour une intensité incidente de 2.9 MV/m ([Figure 96e](#)). Cette différence des rapports champ appliqué/champ incident entre l'impulsion 14-ns et les impulsions 3-ns et 8-ns est attribuée aux limites en fréquence du système à électrodes. En effet, plus l'impulsion est courte, plus son spectre fréquentiel est large, et la désadaptation d'impédance du système augmente avec la fréquence comme nous avons observés dans la [Figure 96](#). Les impulsions 3-ns et 8-ns étant plus courtes que l'impulsion 14-ns, il est donc normal que la dégradation en amplitude du champ électrique soit plus importante que celle observée dans le cas de l'impulsion 14-ns, dû à la déformation de leur contenu spectral aux hautes fréquences ([Figure 96d et Figure 96f](#)).



Tableau III-5 Amplitudes maximales des champs incidents et appliqués au milieu biologique par le système à électrodes. Résultats pour les trois impulsions incidentes de durées 14 ns, 8 ns et 3 ns.

	E_{inc_mesure}	E_{app_mesure}	$E_{app_simulation}$
Impulsion 14-ns	3.7	3.6	3.7
Impulsion 8-ns	3.8	3.4	3
Impulsion 3-ns	2.9	2.5	2

- E_{inc_mesure} : Champ électrique incident obtenu par mesure, exprimé en MV/m
- E_{app_mesure} : Champ électrique appliqué obtenu par mesure, exprimé en MV/m
- $E_{app_simulation}$: Champ électrique appliqué obtenu par simulation, exprimé en MV/m



Le système à deux électrodes

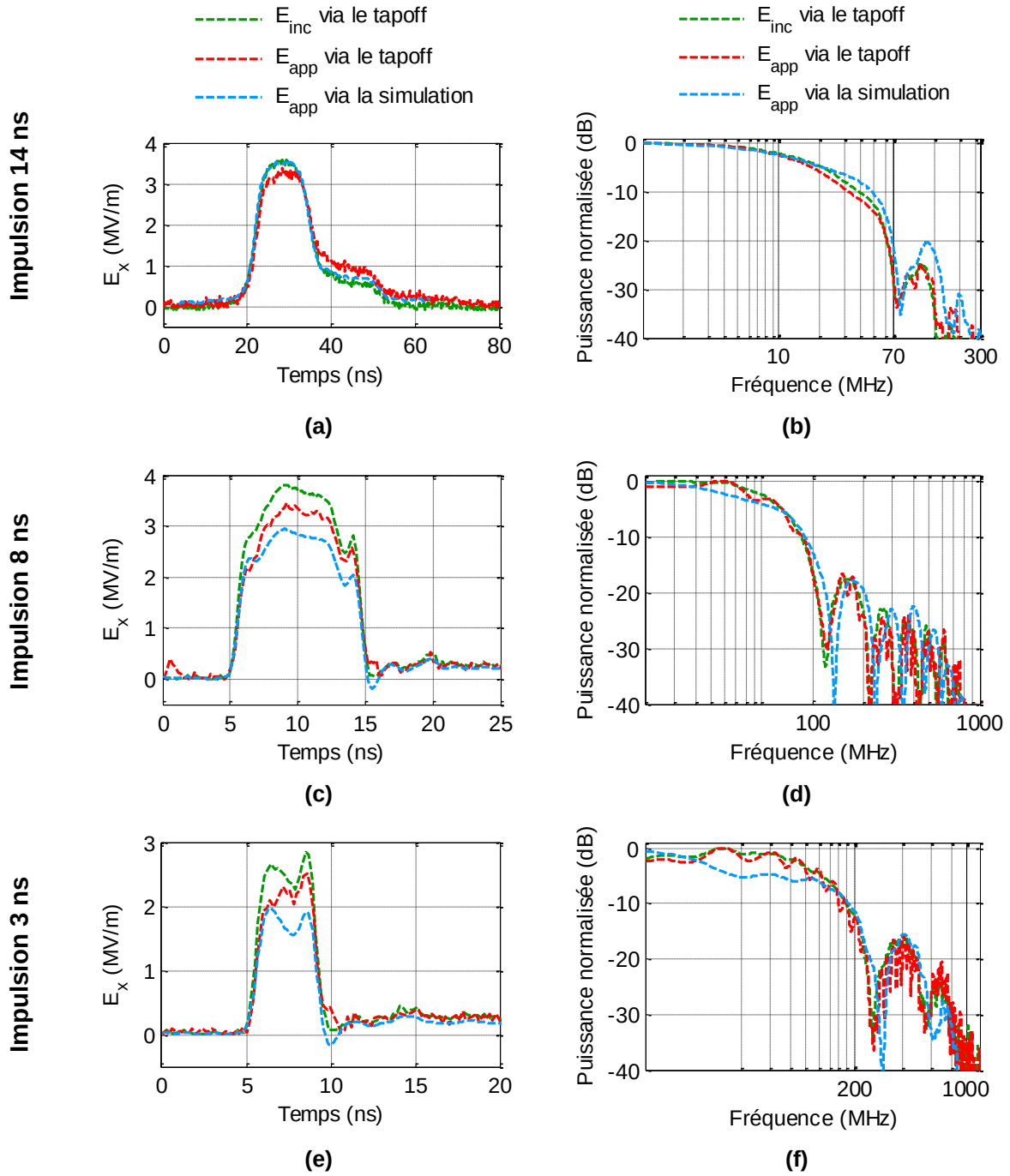


Figure 96 Caractérisation des champs électriques appliqués dans un échantillon biologique exposé à l'aide du système à deux électrodes. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, dans le domaine temporel (a) et le domaine fréquentiel (b). Résultats pour l'impulsion incidente 8 ns, dans le domaine temporel (c) et le domaine fréquentiel (d). Résultats pour l'impulsion incidente 3 ns, dans le domaine temporel (e) et le domaine fréquentiel (f).

Distribution spatiale du champ électrique

Pour une meilleure visualisation des niveaux de champ électrique dans la région globale située entre les deux électrodes, la distribution spatiale du champ a été aussi évaluée. La [Figure 97](#) montre la distribution du champ électrique dans la solution biologique exposée à l'impulsion 14 ns obtenue par simulation numérique. Cette répartition est extraite à l'instant $t = 25 \text{ ns}$ où l'amplitude de l'impulsion incidente est maximale de 4.6 kV. Comme nous observons, une bonne homogénéité est obtenue dans la zone centrale autour de la mi-distance entre les deux électrodes. Cette région est alors préférée lors de la conduite des expériences biologiques avec cet applicateur. L'intensité du champ électrique dans cette région centrale est d'environ 3.6 MV/m. Cette valeur est compatible avec la tension maximale de l'impulsion appliquée de 4.6 kV par 1.2 mm de distance inter-électrodes. Ces résultats sont extrapolables pour les deux autres impulsions.

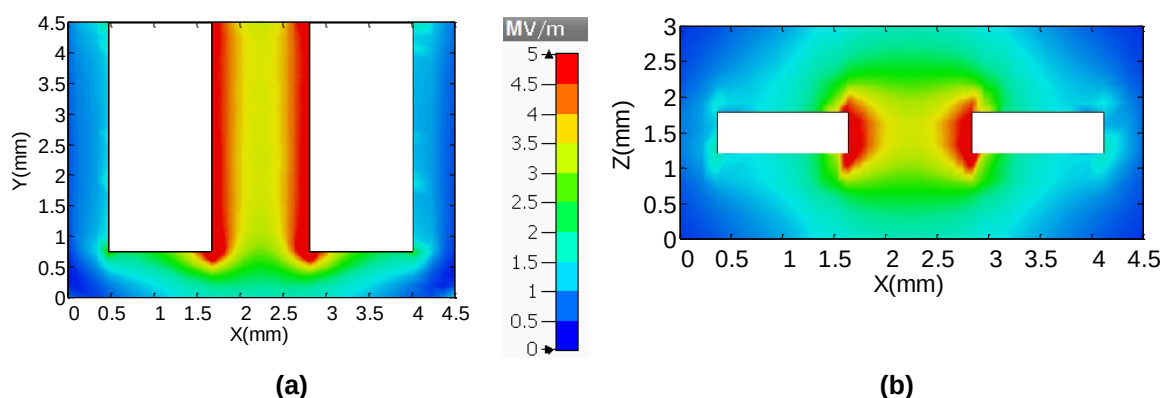


Figure 97 Distribution spatiale du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé avec le système à deux électrodes. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, coupe longitudinale (a) et coupe transversale (b). Les résultats correspondent à l'instant $t = 25 \text{ ns}$ ou l'amplitude du champ appliqué est maximale.

III.3.2.3 Expérimentations biologiques avec le système à deux électrodes

Le système à deux électrodes a été utilisé lors d'expositions de tumeurs humaines greffées sur membrane chorioallantoïdienne (CAM) d'œufs de caille *ex ovo* à l'impulsion monopolaire de durée à mi-hauteur de 14 ns et d'amplitude 4.5 kV ([Figure 82a](#)). Des œufs de caille de l'espèce *Coturnix Japonica* (caille du Japon), provenant d'élevages du territoire français, ont été utilisés.



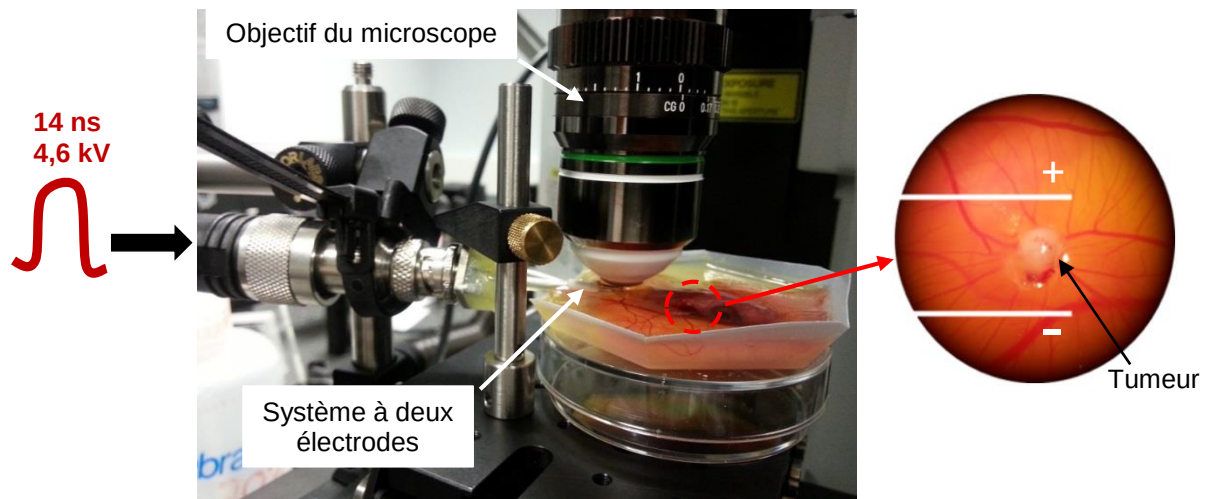


Figure 98 Exposition nsPEF avec le système à deux électrodes d'un embryon de caille *ex ovo* au jour 12 embryonnaire greffé avec des cellules tumorales humaines de glioblastome U87.

Le développement de lésions tumorales en 3 dimensions a été suivi pour sélectionner les greffes présentant un aspect compatible avec les conditions d'exposition. La greffe doit avoir produit une masse tumorale vascularisée, de taille inférieure à 3 mm de grand axe pour être adaptée au design des électrodes. Les CAM porteuses de ces tumeurs sont placées sous le système d'exposition décrit et un groupe de CAM contrôles (non exposées), aux greffes tumorales comparables est placé à proximité du système d'exposition. Pour les CAM multi-greffées, seule l'une des zones tumorales est exposée aux nsPEFs. Les électrodes sont positionnées de part et d'autre de la tumeur puis une solution de PBS à 37°C est déposée au contact des électrodes afin que l'exposition aux nsPEFs soit faite en immersion (Figure 98).

Douze expériences ont été conduites en totalité. L'intensité du champ électrique appliqué à la tumeur est d'environ 3.7 MV/m. Les résultats obtenus montrent un effet anti tumoral *in vivo*, par des mécanismes variés, de l'exposition aux nsPEFs à l'aide de ce système à deux électrodes. Une altération de la vascularisation tumorale ainsi qu'une diminution du volume tumoral ont été observés.

Ces travaux ont été acceptés pour la publication dans la revue « Scientific Reports » [Paper#SREP34443].

III.3.2.4 Conclusion

Dans cette partie, nous avons présenté un applicateur basé sur deux électrodes spécifique pour l'exposition *in vivo* des tissus et cellules biologiques, et en particulier des tumeurs cancéreuses. Cet applicateur permet l'observation en temps réel sous l'objectif du microscope



du milieu exposé. La caractérisation effectuée dans le domaine fréquentiel a montré que le système à deux électrodes possède une bande passante allant jusqu'à 200 MHz. L'étude de la réponse temporelle pour des impulsions appliquées monopolaires de durée 3 ns, 8 ns et 14 ns, montre l'adaptation de ce dispositif aux impulsions nanosecondes. Le petit gap entre les électrodes permet l'exposition du milieu biologique à des champs électriques très intenses de l'ordre de 3.6 MV/m pour une tension incidente d'amplitude 4.5 kV.

Ce système à deux électrodes a été testé avec une tumeur humaine greffée sur un embryon de caille. La réponse biologique a montré une altération de la vascularisation tumorale ainsi qu'une diminution du volume tumoral. Ces travaux ont été acceptés pour la publication dans la revue « Scientific Reports » [Paper#SREP34443].



III.4. Conclusion du chapitre

Dans ce chapitre, nous avons proposé et caractérisé deux applicateurs nsPEFs à électrodes en contact direct avec le milieu biologique exposé.

Le premier applicateur est basé sur une cuvette biologique spécifique pour l'exposition des suspensions cellulaires. La cuvette a été modifiée en la remplissant par du silicone pour permettre l'observation microscope en temps réel du milieu durant son exposition aux nsPEFs. Deux cuvettes de distances inter-électrodes de 1 mm et 4 mm ont été utilisées. La caractérisation fréquentielle des cuvettes a montré que cette modification a permis d'élargir leur bande passante jusqu'à 260 MHz par comparaison à celle d'une cuvette biologique standard de 70 MHz. Le deuxième applicateur est un système à deux électrodes spécifiques pour l'exposition *in vivo* des tissus et cellules biologiques, et en particulier des tumeurs cancéreuses. Ce système possède une bande passante allant jusqu'à 200 MHz.

La capacité de ces applicateurs à transmettre des nsPEFs a été évaluée dans le domaine temporel avec des impulsions haute tension de durées différentes (3 ns, 8 ns et 14 ns). Les résultats ont montré l'adaptation des cuvettes et du système à deux électrodes à ces impulsions courtes ainsi que leur capacité à délivrer des champs intenses de l'ordre de quelques MV/m. Pour une tension incidente d'amplitude 4.5 kV, les cuvettes 1-mm et 4-mm et le système à deux électrodes sont capables de fournir, respectivement, des champs d'intensités 4 MV/m, 1.07 MV/m et 3.6 MV/m.

Dans le chapitre suivant (chapitre IV), nous allons proposer des applicateurs sans contact électrodes/milieu biologique. Cela permettra de mettre en évidence la capacité de ces applicateurs à transmettre des impulsions ultracourtes par rapport aux applicateurs avec contact électrodes/milieu biologique, en raison de leurs bandes passantes plus larges.





Chapitre IV :

Les applicateurs d'impulsions sans contact électrodes/milieu biologique



IV.1. Introduction

Dans cette partie, nous allons décrire et caractériser trois applicateurs isolés spécifiques pour l'exposition des cellules biologiques aux impulsions nanosecondes ultra-courtes : une cellule transverse électromagnétique contenant une cuvette en plastique remplie avec la solution biologique, les cuvettes biologiques et le système à deux électrodes vus précédemment, modifiés pour isoler les électrodes du milieu biologique.

Il s'agit de passer des systèmes en conduction avec des électrodes en contact direct avec le milieu biologique à des systèmes isolés basé sur la propagation pour appliquer des impulsions très courtes. Dans ce cas, le comportement conducteur dû à la conductivité électrique du milieu biologique est négligeable puisque les électrodes sont isolées du milieu. L'impédance équivalente du système ne dépend plus de la conductivité électrique et le comportement diélectrique est majoritaire.

IV.2. Les applicateurs d'impulsions sans contact électrodes/milieu biologique

IV.2.1. La cellule transverse électromagnétique

Pour isoler les électrodes du milieu biologique, nous avons proposé d'exposer le milieu dans une cuvette en plastique placée dans une cellule transverse électromagnétique (TEM) ouverte.

Les dimensions de la cellule TEM considérée dans notre travail comme applicateur d'impulsions nanosecondes sont présentées [Figure 99](#). La structure a une longueur de 164 mm, une largeur de 50 mm et une hauteur de 15 mm. Les deux plaques externes sont en aluminium. La plaque interne appelée septum est en cuivre. Il a une largeur de 9 mm. Chaque plaque métallique a une épaisseur de 1 mm. Les distances entre le septum et les plaques externes sont égales à 7 mm et 5 mm, respectivement. La distance entre le septum et l'une des plaques a été ajustée à 7 mm au lieu de 5 mm pour permettre l'insertion de la cuvette contenant le milieu, ayant une largeur de 6 mm. Les dimensions de la cellule TEM ont été conçues pour avoir une impédance d'entrée de 50Ω sur une large bande de fréquence.



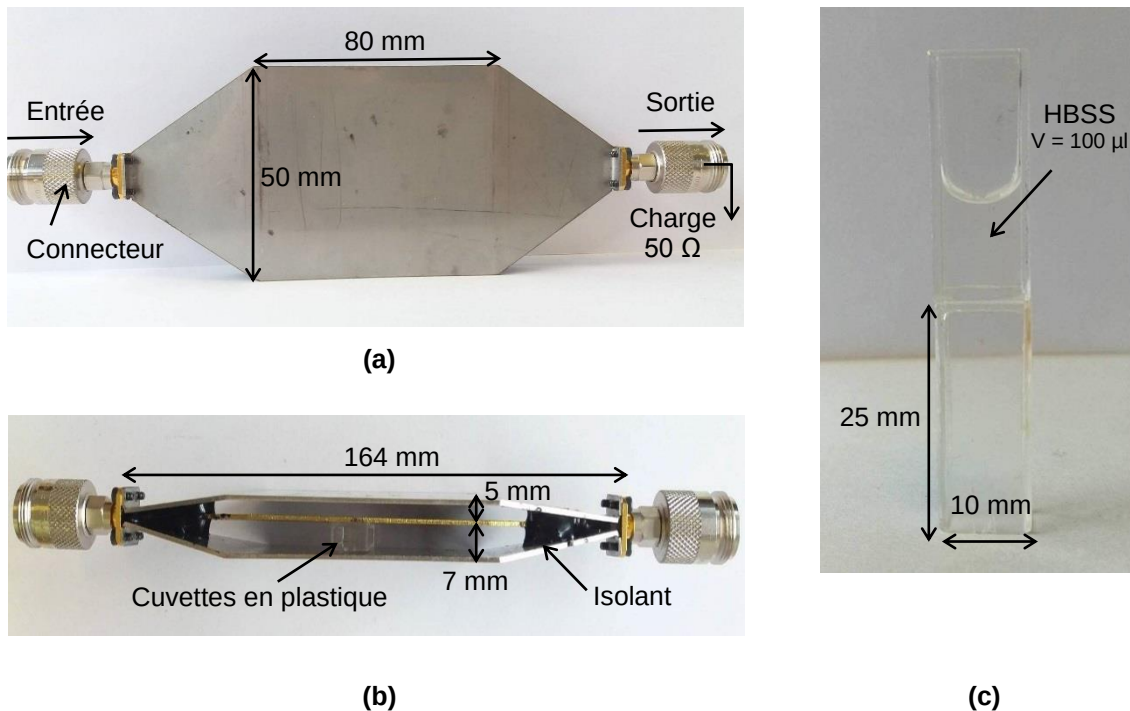


Figure 99 Photographie de la cellule TEM contenant la cuvette en plastique remplie de solution biologique.

Afin de permettre l'échange entre le milieu exposé dans la cellule TEM et son environnement (température, CO_2 , ...), la cellule TEM n'a pas été entièrement fermée. Le milieu biologique est exposé dans une cuvette en plastique de largeur 6 mm positionnée verticalement au centre de la cellule entre la plaque inférieure et le septum espacés d'un gap de 7 mm. Une deuxième cuvette en plastique placée à l'envers sert comme support pour la cuvette contenant le milieu biologique « HBSS ». Une charge 50Ω est connecté à la sortie de la cellule TEM pour assurer l'adaptation d'impédance. Pour éviter le claquage entre le septum et les plaques externes lorsqu'un champ électrique intense est appliqué, un isolant a été déposé entre les plaques au niveau des deux connecteurs SMA.

IV.2.2. Modélisation numérique de la cellule TEM

La structure modélisée de la cellule TEM est présentée [Figure 100](#). Elle comporte la cellule TEM contenant les deux cuvettes en plastique de dimensions $6 \times 12 \times 20 \text{ mm}$ chacune. La cuvette supérieure contient $100 \mu\text{l}$ de « HBSS » comme en expérimentation. Les propriétés électromagnétiques du milieu biologique et des matériaux qui constituent la structure sont celles considérées précédemment ([Tableau III-2](#)). La source d'alimentation et la charge 50Ω à la sortie de la cellule TEM sont modélisées avec des ports guide d'onde ayant une impédance de



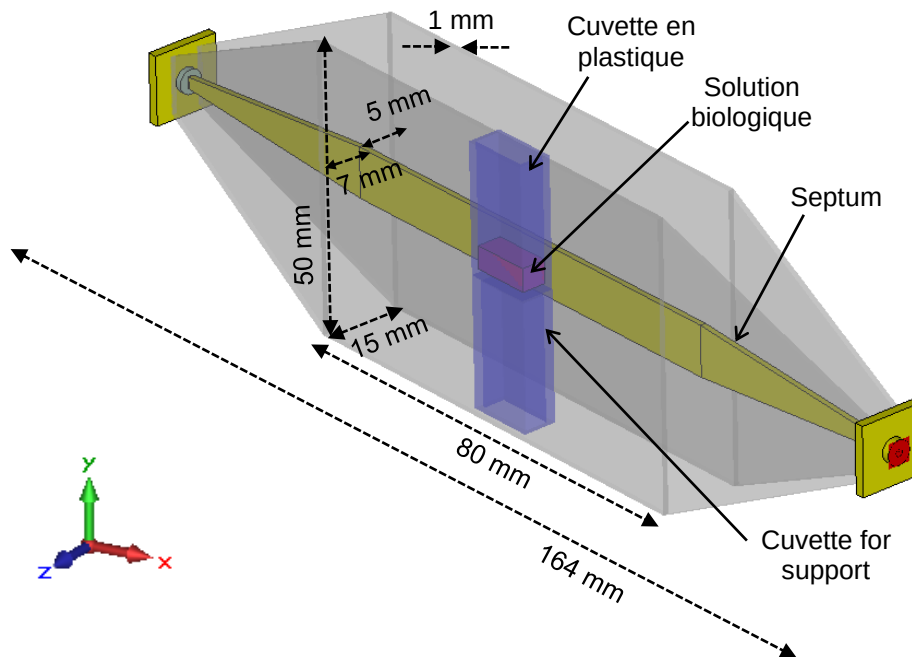


Figure 100 Cellule TEM contenant la cuvette en plastique remplie par la solution biologique modélisée et simulée.

50 Ω . Un maillage hexaédrique uniforme de la structure entière est généré d'une manière automatique par le logiciel. Pour plus de précision, le milieu biologique est maillé localement avec un pas de 0.1 mm dans toutes les directions.

IV.2.3. Caractérisation fréquentielle de la cellule TEM

IV.2.3.1 Paramètres-S

Pour caractériser la bande passante de cet applicateur, les coefficients de réflexion S_{11} et de transmission S_{21} de la cellule TEM contenant la cuvette en plastique ont été évalués. Les paramètres-S ont été obtenus par simulation et par mesure en connectant à la fois les deux ports d'entrée et de sortie de la cellule TEM à l'analyseur de réseau vectoriel (VNA 8753E, Agilent, USA) ayant une impédance d'entrée de 50 Ω .

Les coefficients de réflexion S_{11} et de transmission S_{21} obtenus par simulation et par mesure sont illustrés [Figure 101](#). Pour les deux paramètres, les résultats de simulation sont conformes avec les mesures. Le module du S_{11} est inférieur à -10 dB et le module du S_{21} est compris entre -1 dB et 0 dB jusqu'à 650 MHz en mesure et 750 MHz en simulation. Ce faible écart peut être expliqué par les différences entre la structure modélisée et celle fabriquée. Le comportement inductif et capacitif de la ligne de transmission équivalente à la cellule TEM devient significatif à des fréquences élevées, et la simulation ne modélise pas parfaitement la



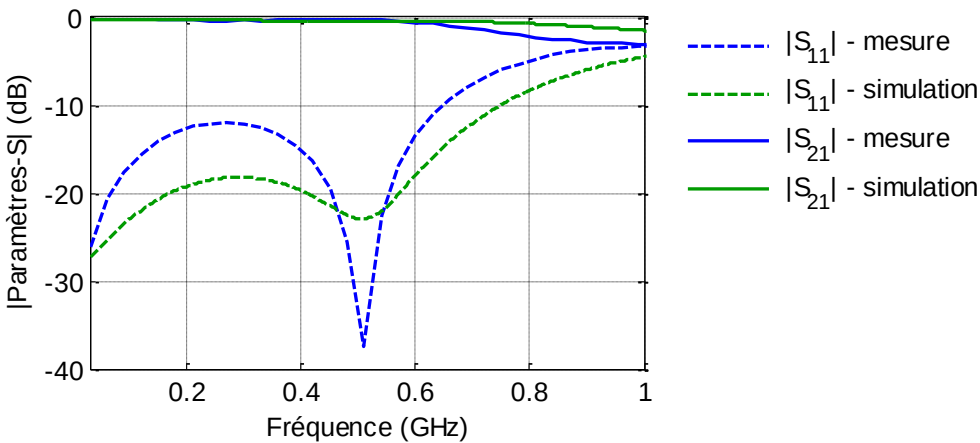


Figure 101 Modules du coefficient de réflexion S_{11} et de transmission S_{21} obtenus par mesure et simulation pour la cellule TEM contenant la cuvette en plastique remplie par la solution biologique.

structure réelle. En effet, certains éléments sont idéaux dans la modélisation comme par exemple la charge $50\ \Omega$ placée à la sortie de la cellule TEM, les connectiques... Cela confirme cependant que cette cellule TEM contenant le milieu biologique n'induit pas des distorsions spectrales du signal incident jusqu'à une fréquence de 650 MHz.

Normalement, une cellule TEM ayant ces dimensions possède une bande passante plus large que celle obtenue (2 - 3 GHz) [183]. Cette diminution observée de la largeur de la bande passante peut être expliquée par la présence du diélectrique utilisé pour isoler les plaques métalliques au niveau des connecteurs SMA. La résonance observée à 500 MHz est provoquée par les transitions à l'entrée et à la sortie de la cellule TEM, mais n'affecte pas la bande passante du dispositif en raison de son atténuation.

IV.2.3.2 Impédance d'entrée mesurée

Pour étudier l'adaptation de la cellule TEM, son impédance d'entrée a été calculée à partir du paramètre S_{11} mesuré à l'entrée de la cellule TEM. Les parties réelle et imaginaire de l'impédance sont présentées [Figure 102](#). Comme nous pouvons observer, la partie réelle de l'impédance a une valeur autour de $50\ \Omega$ jusqu'à environ 600 MHz, et la partie imaginaire est négligeable. Aux delà de cette fréquence, des résonances ont été observées dues aux transitions à l'entrée et à la sortie de la cellule TEM. Ce dispositif contenant le milieu biologique est donc bien adapté en impédance à $50\ \Omega$ sur une large bande fréquentielle d'environ 600 MHz.

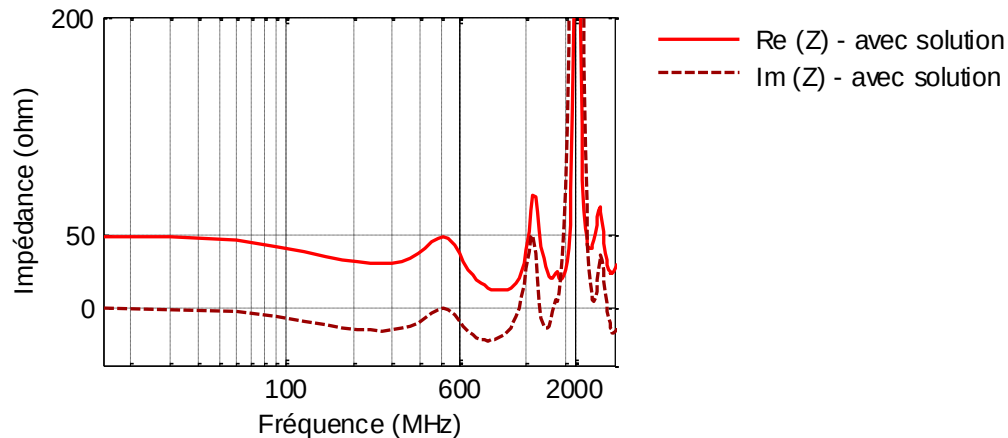


Figure 102 Parties réelle et imaginaire de l'impédance mesurée à l'entrée de la cellule TEM contenant la cuvette en plastique remplie par la solution biologique.

IV.2.4. Caractérisation temporelle de la cellule TEM

IV.2.4.1 Mesures expérimentales

Cette partie consiste à étudier la réponse temporelle de la cellule TEM équipée de la cuvette en plastique rempli de 100 μ l de HBSS lorsque des impulsions électriques courtes lui sont délivrées.

La [Figure 103](#) compare l'impulsion incidente en sortie du générateur, réfléchié par la cellule TEM et transmise à la cellule TEM pour les trois impulsions monopolaires de durée 14-ns, 8-ns et 3-ns. Nous observons que les signaux incident et appliqué présentent un très bon niveau de cohérence en durée et en amplitude. Le signal réfléchi est très faible. Le rapport de tension entre les impulsions incidente et transmise est d'environ 0.96 pour l'impulsion 3-ns ([Tableau IV-1](#)), montrant que ce dispositif est bien adapté pour l'étude des nsPEFs de l'ordre de quelques nanosecondes.

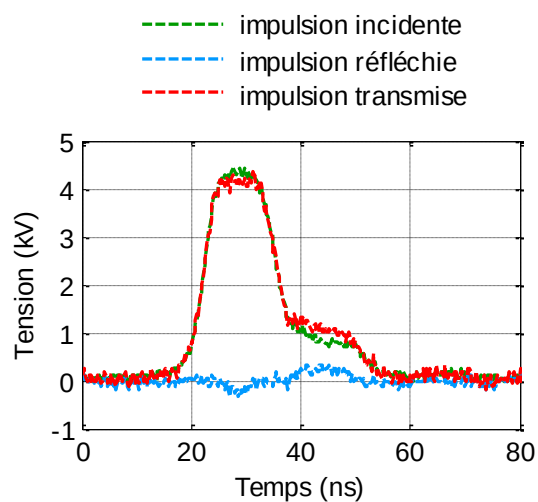
Tableau IV-1 Amplitudes maximales des tensions incidentes et transmises mesurées à l'aide du tap-off à l'entrée de la cellule TEM contenant la cuvette en plastique remplie par le milieu biologique. Résultats pour les trois impulsions incidentes de durées 14 ns, 8 ns et 3 ns.

	V_{inc}	V_{trans}	V_{trans}/V_{inc}
Impulsion 14-ns	4.5	4.45	0.98
Impulsion 8-ns	4.6	4.55	0.98
Impulsion 3-ns	3.1	3	0.96

- V_{inc} : Tension incidente en kV

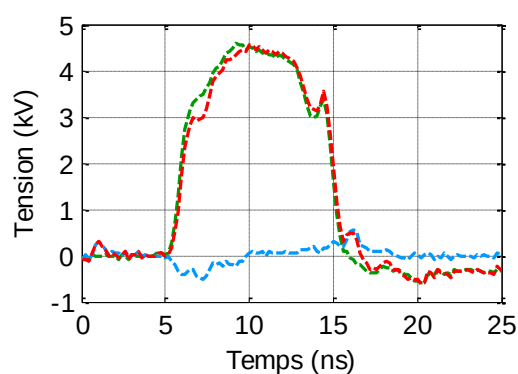
- V_{trans} : Tension transmise en kV

La cellule transverse électromagnétique



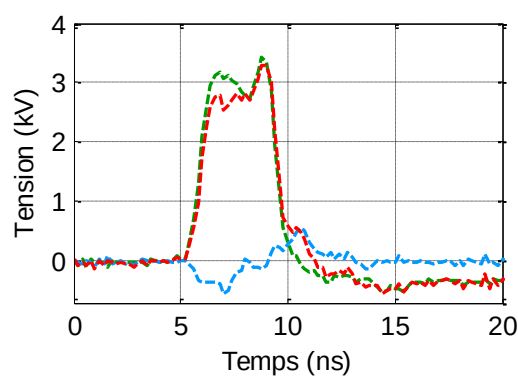
Impulsion 14 ns

(a)



Impulsion 8 ns

(b)



Impulsion 3 ns

(c)

Figure 103 Allures temporelles des impulsions électriques incidentes, réfléchies et transmises à l'entrée de la cellule TEM contenant la cuvette en plastique remplie par la solution biologique. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns (a), 8 ns (b) et 3 ns (c).



IV.2.4.2 Champ électrique appliqué dans la solution

Pour étudier le couplage électrique entre la cellule TEM et le milieu biologique exposé dans la cuvette en plastique dans simulations numériques temporelles ont été effectuées. Les champs appliqués ont été extraits d'un point situé au centre du milieu biologique et comparés aux champs incidents pour les trois impulsions 14-ns, 8-ns et 3-ns. La cuvette contenant le milieu biologique étant placée entre le septum et la plaque externe de la cellule TEM distante de 7 mm (Figure 100), le champ incident correspondant à chaque impulsion est calculé à partir de l'équation IV-6 en divisant la tension incidente par 7 mm.

IV.2.4.2.1. Allure temporelle et spectre fréquentiel du champ appliqué

Allure temporelle

L'allure temporelle des champs incidents et des champs appliqués correspondants sont présentés Figure 104. Les champs incidents et appliqués sont tracés avec deux échelles d'intensité différentes pour mieux visualiser leurs formes et faciliter la comparaison.

Les résultats montrent que les champs incidents ont été significativement modifiés dans le milieu biologique. Les champs incidents ayant une forme monopolaire ont été transformés en champs bipolaires dans la solution biologique (Figure 104a, 104c et 104e).

En plus l'intensité des champs appliqués dans la solution est faible par rapport à l'intensité des champs incidents. Dans le cas de l'impulsion 14-ns le rapport d'intensité entre le champ appliqué et incident est d'environ 0.05 (Tableau IV-2). Un champ appliqué d'intensité crête-à-crête 30 kV/m a été obtenu pour un champ incident d'intensité 640 kV/m. Dans le cas des impulsions 3-ns et 8-ns, le rapport d'intensité entre le champ appliqué et incident est d'environ 0.1 (Tableau IV-2). Pour l'impulsion 8-ns, un champ appliqué d'intensité crête-à-crête 60 kV/m a été obtenu pour un champ incident d'intensité 650 kV/m. Pour l'impulsion 3-ns, un champ appliqué d'intensité crête-à-crête 50 kV/m a été obtenu pour un champ incident d'intensité 440 kV/m.

Le rapport champ incident/champ appliqué est donc deux fois plus grand dans le cas des impulsions 3-ns et 8-ns par comparaison au cas de l'impulsion 14-ns. Cela indique que plus l'impulsion incidente a du contenu spectral situé aux hautes fréquences, plus la cellule TEM est capable de la transmettre au milieu biologique.



Tableau IV-2 Amplitudes maximales des champs incidents et appliquées au milieu biologique contenant dans la cuvette en plastique placée dans la cellule TEM. Résultats pour les trois impulsions incidentes de durées 14 ns, 8 ns et 3 ns.

	E_{inc}	E_{app}	E_{app}/E_{inc}
Impulsion 14-ns	640	30	0.05
Impulsion 8-ns	650	60	0.09
Impulsion 3-ns	440	50	0.11

- E_{inc} : Champ électrique incident, exprimé en kV/m

- E_{app} : Champ électrique appliqué, exprimé en kV/m

Spectres fréquentiels

Les spectres fréquentiels des champs incident et appliqué, tracés [Figure 104b](#), [104d](#) et [104f](#), montrent que le contenu spectral des impulsions aux basses fréquences a été fortement atténué par le milieu. Ceci explique cette déformation de l'allure temporelle des champs et la forte atténuation de leurs intensités.



La cellule transverse électromagnétique

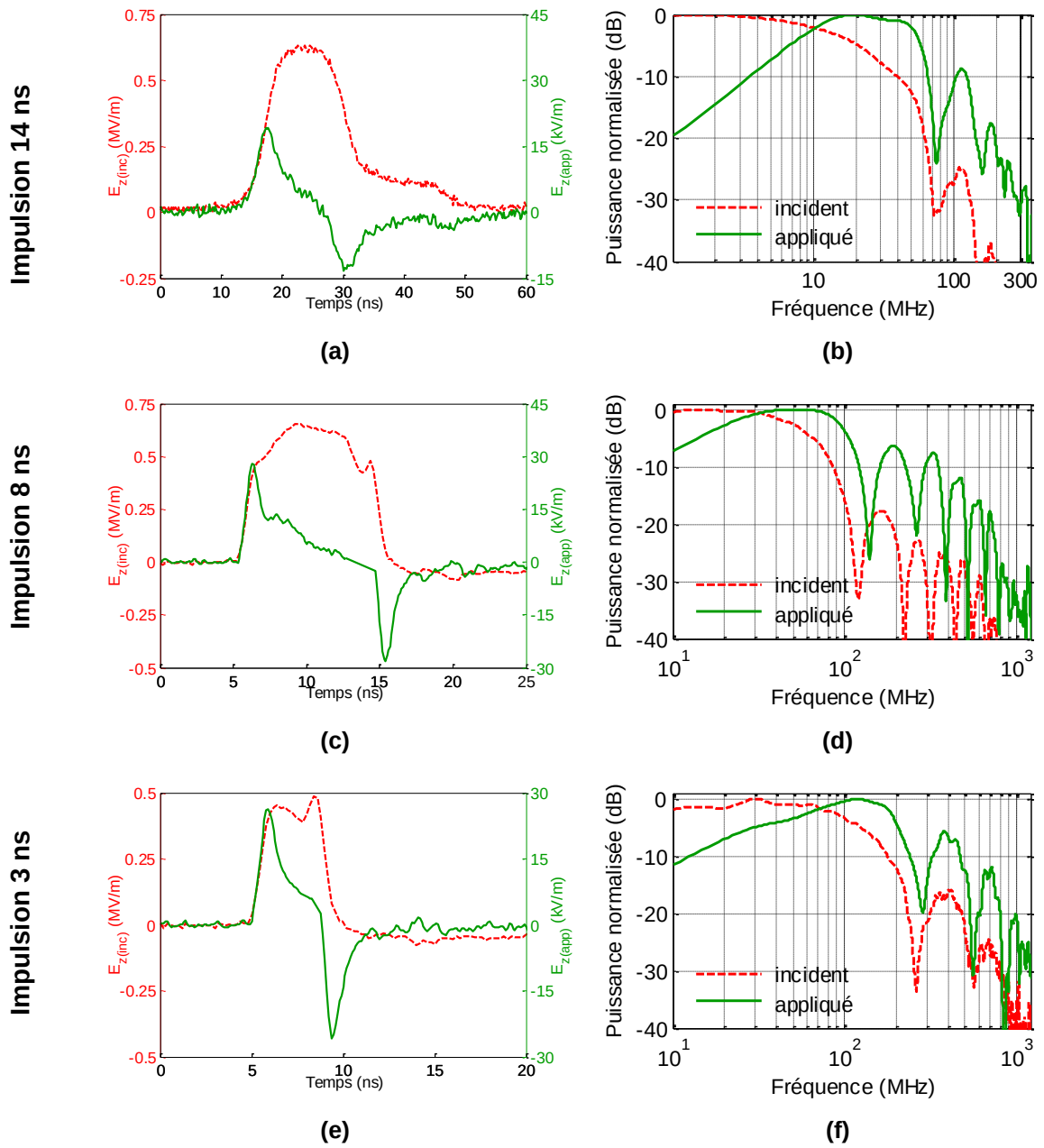


Figure 104 Caractérisation des champs électriques appliqués dans un échantillon biologique exposé dans la cuvette en plastique placée à l'intérieur de la cellule TEM. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, dans le domaine temporel (a) et le domaine fréquentiel (b). Résultats pour l'impulsion incidente 8 ns, dans le domaine temporel (c) et le domaine fréquentiel (d). Résultats pour l'impulsion incidente 3 ns, dans le domaine temporel (e) et le domaine fréquentiel (f).

IV.2.4.2.2. Distribution spatio-temporelle du champ appliqué

Pour connaître les niveaux du champ électrique auquel le volume de la solution est exposé suite à l'application d'une impulsion électrique, une étude de la distribution spatio-temporelle du champ électrique a été effectuée. Les deux coupes transversale et longitudinale (Figure 105) montrent que la distribution du champ électrique est homogène dans la solution dans tous les plans. Pour une tension maximale incidente de 4.5 kV à l'instant $t = 25 \text{ ns}$ de l'impulsion monopolaire 14-ns (Figure 82a), le champ électrique fourni au milieu biologique peut atteindre une intensité de l'ordre de 30 kV/m crête-à-crête. Ce résultat est conforme avec la valeur du champ présentée précédemment dans le domaine temporel (Figure 104a).

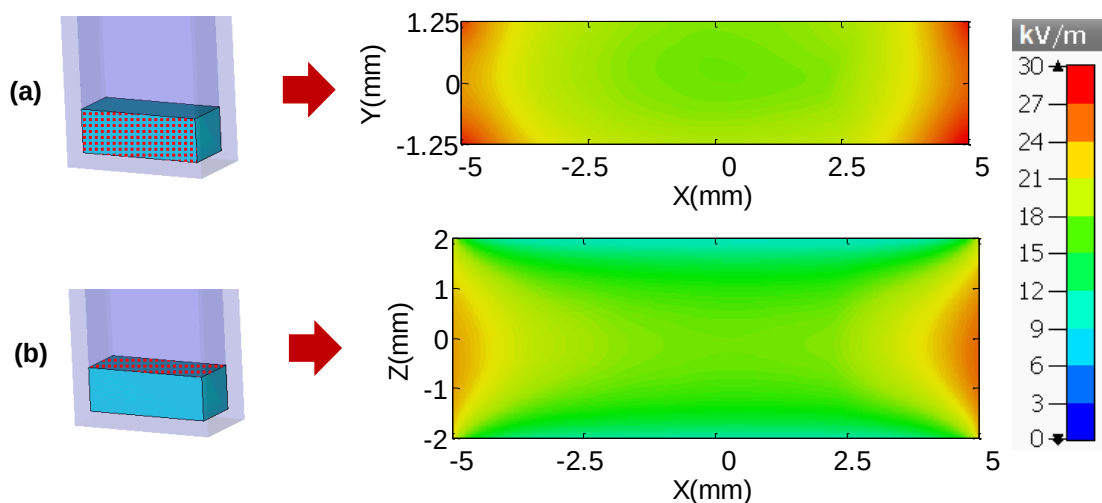


Figure 105 Distribution spatiale du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé dans la cuvette en plastique placée à l'intérieur de la cellule TEM. Résultats pour l'impulsion incidente 14 ns, coupe longitudinale (a) et coupe transversale (b). Les résultats correspondent à l'instant $t = 25 \text{ ns}$ ou l'amplitude du champ appliqué est maximale.

IV.2.5. Expérimentations biologiques avec la cellule TEM contenant la cuvette en plastique

La cellule TEM a été utilisée lors d'expositions des cellules cancéreuses à l'impulsion de durée à mi-hauteur de 14 ns et d'amplitude 4.5 kV (Figure 82a). Les cinq types de lignées



cellulaires cancéreuses utilisées dans cette étude sont identiques à celles exposées dans la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (Paragraphe III.3.1.5.1.).

La réponse cellulaire obtenue par les expériences menées avec cet applicateur sur 100 μ l de suspension cellulaire consiste en une hyperpolarisation qui conduit les cellules à la mort. Cette réponse n'était pas reproductible (22%) tout au long des expériences menées, probablement liée à la réutilisation de la cuvette. En effet, la réintroduction d'une nouvelle cuvette rétablissait l'effet d'hyperpolarisation suite à l'application des nsPEFs sans qu'aucune hypothèse à ce jour n'ait permis d'expliquer ce phénomène. Nous rappelons que le champ électrique appliqué aux cellules placées dans la cuvette entre les électrodes de la cellule TEM est de l'ordre de 30 kV/m, beaucoup moins élevé que celui dans la cuvette d'électroporation de distance inter-électrodes de 1 mm (4 MV/m).

IV.2.6. Conclusion

Un applicateur isolé spécifique pour l'exposition des cellules biologiques aux nsPEFs a été présenté dans cette partie : la cellule transverse électromagnétique. Cet applicateur permet l'exposition des cellules dans leur milieu de culture sans aucun contact avec les électrodes. Pour déterminer les meilleures conditions d'exposition, une caractérisation électromagnétique de la cellule TEM a été effectuée. La bande passante de la cellule TEM contenant une cuvette remplie d'une solution biologique, correspondante à un coefficient de réflexion inférieur à -10 dB est de l'ordre de 650 MHz.

Une caractérisation dans le domaine temporel a été également effectuée en utilisant des impulsions de durées différentes. Les résultats ont montré que la cellule TEM est bien adaptée aux impulsions ultracourtes ayant une durée de 3 ns et un temps de montée de 0.5 ns. Pour cette impulsion de 3.1 kV d'amplitude, un champ électrique ayant une intensité de 50 kV/m a été délivré au milieu biologique. L'évaluation de la distribution spatiale du champ électrique a montré un bon niveau d'homogénéité dans la solution.

Les expérimentations biologiques effectuées avec cet applicateur sur différentes lignées cellulaires ont montré une hyperpolarisation qui conduit les cellules à la mort.



IV.2.7. La cuvette d'électroporation isolée

Habituellement, dans la cuvette d'électroporation, le milieu biologique est placé en contact direct avec les électrodes. Dans cette configuration classique, l'exposition du milieu biologique aux impulsions nanosecondes étant basée sur le phénomène de conduction, la cuvette n'est adaptée qu'aux impulsions longues ayant des spectres situés aux basses fréquences où le comportement conducteur du milieu biologique est majoritaire. Pour les impulsions ultracourtes ayant de larges spectres (> 337 MHz), le comportement conducteur n'intervient pas et c'est l'effet diélectrique qui domine. Pour étendre le spectre fréquentiel, nous avons pensé à déposer une couche de silicone sur les surfaces des électrodes pour les isoler du milieu biologique. Cela ajoute aussi l'avantage d'éviter les réactions électrochimiques qui peuvent se produire entre le milieu biologique et les électrodes métalliques et qui influencent fortement l'interprétation des effets biologiques induites.

IV.2.7.1 Caractérisation électromagnétique numérique de la cuvette isolée

La nouvelle configuration de la cuvette d'électroporation isolée a été modélisée et caractérisée numériquement.

IV.2.7.1.1. Modélisation numérique des cuvettes isolées

La [Figure 106](#) montre les structures modélisées des deux cuvettes biologiques isolées de distances inter-électrodes de 1 mm et 4 mm. Les dimensions et la géométrie considérées sont exactement celles des cuvettes à électrodes en contact direct avec le milieu biologique étudiées précédemment ([Figure 72](#)), ainsi que les propriétés diélectriques du milieu biologique et des matériaux modélisés. Les seules différences sont la couche de silicone qui couvre les électrodes des cuvettes ainsi que la charge $50\ \Omega$ placée en parallèle aux électrodes pour assurer l'adaptation d'impédance. Pour la cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm une couche de silicone d'épaisseur fine de $100\ \mu\text{m}$ a été déposée sur chaque électrodes, en raison de la faible distance entre les deux électrodes (1 mm). Pour la cuvette de distance inter-électrodes de 4 mm, deux différentes épaisseurs de silicone, de $100\ \mu\text{m}$ et $500\ \mu\text{m}$, ont été considérées. Cela permet d'évaluer l'influence de l'épaisseur de la couche isolante sur le niveau du champ électrique appliqué au milieu biologique. Les couches de silicone ont été maillées uniformément avec un maillage très fin de $20\ \mu\text{m}$ et les structures ont été simulées sur une bande de fréquence allant jusqu'à 3 GHz.



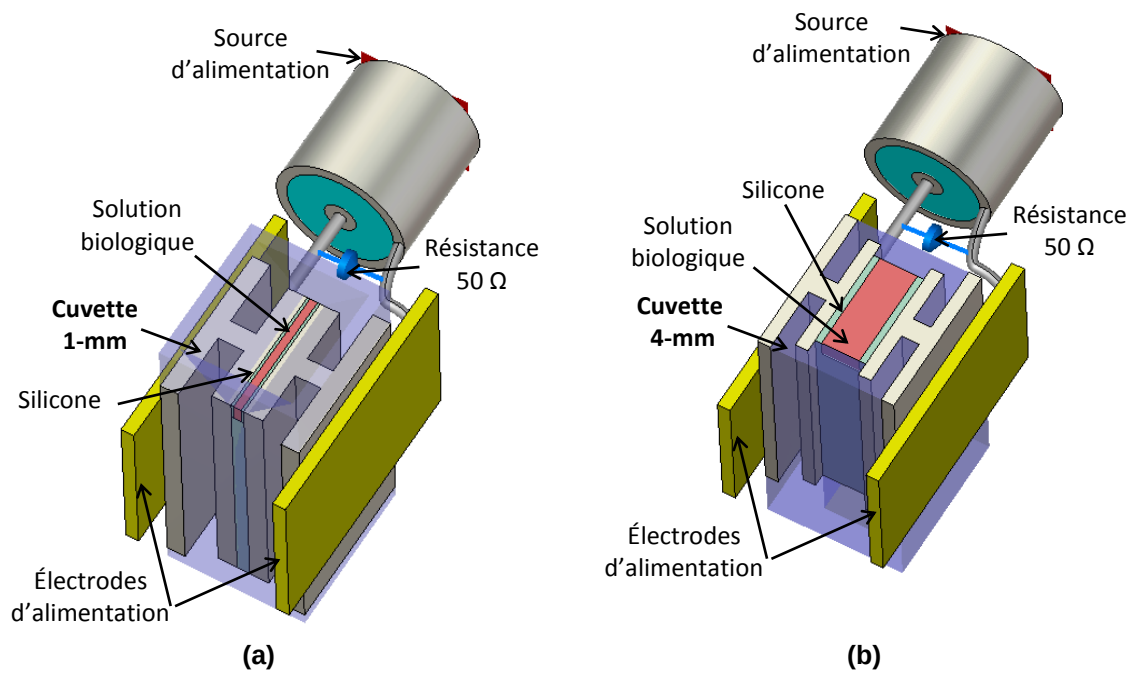


Figure 106 Cuvettes biologiques isolées modélisées et simulées. La cuvette de distance inter-électrodes de 1 mm (a) et la cuvette de distance inter-électrodes 4 mm (b).

IV.2.7.1.2. Caractérisation fréquentielle des cuvettes isolées

Coefficient de réflexion S_{11}

La [Figure 107](#) présente les courbes des modules du S_{11} obtenus par simulation pour les deux cuvettes isolées de gap 1 mm et 4 mm, superposés avec ceux des cuvettes à électrodes en contact. En comparant les résultats, nous remarquons que pour les deux cuvettes isolées la bande passante s'est élargie. Dans le cas de la cuvette 1-mm isolée, le module du S_{11} est inférieur à -10 dB jusqu'à 380 MHz ([Figure 107a](#)). La bande passante de la cuvette 1-mm en contact étant de 260 MHz, l'isolation des électrodes du milieu biologique nous a permis de gagner un rapport de 1.5 de plus en largeur de bande passante fréquentielle. Pour la cuvette 4-mm isolée, un rapport de 2 de plus a été gagné en largeur de bande passante par comparaison à la cuvette en contact. La bande passante s'est étendue de 270 MHz jusqu'à 540 MHz ([Figure 107b](#)).

Donc comme prévu, l'isolation des électrodes a permis d'élargir la bande passante des cuvettes 1-mm et 4-mm, ce qui les rend plus adaptées aux impulsions ultra-courtes ayant un large contenu spectral. Théoriquement, des spectres fréquentiels qui s'entend jusqu'à 380 MHz et 540 MHz, correspondent respectivement à des impulsions ultra-courtes de durées 2.6 ns et 1.8 ns.



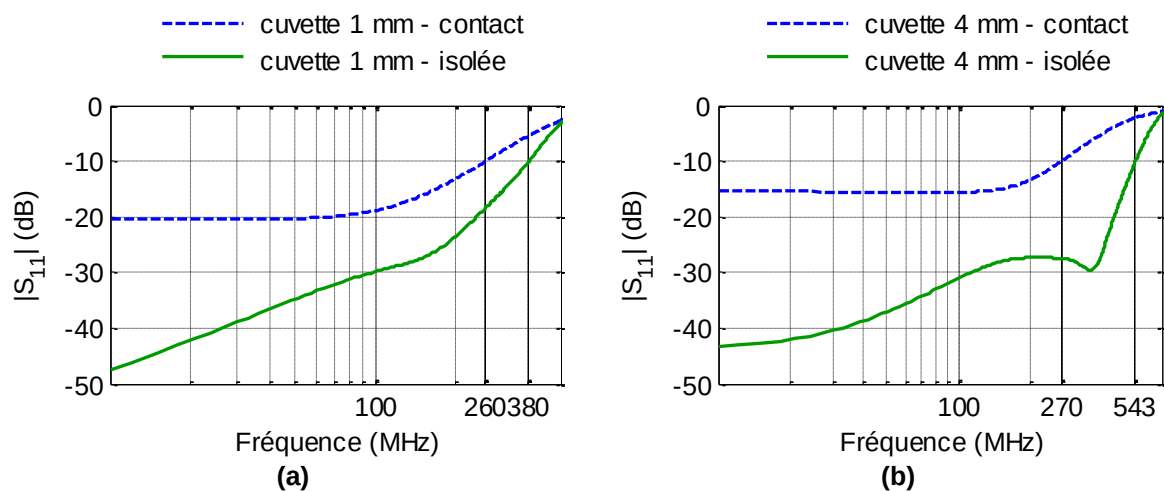


Figure 107 Module du coefficient de réflexion S_{11} obtenus par simulation pour les cuvettes isolées de gap inter-électrodes de 1-mm (a) et 4-mm (b).

IV.2.7.1.3. Caractérisation temporelle des cuvettes isolées

Champ électrique appliqué au milieu biologique

Pour évaluer l'influence de la présence de la couche de silicone sur les caractéristiques du champ électrique transmis au milieu biologique, les cuvettes isolées de gap 1-mm et 4-mm ont été simulées avec l'impulsion monopolaire de durée à mi-hauteur 3 ns et d'amplitude 3.1 kV délivrée par le générateur « FID » (modèle 20-1NJ10) (Figure 82e). Cette impulsion a été introduite dans le logiciel et le champ électrique appliqué a été extrait, sous forme d'allure temporelle en un point de la solution biologique et de distribution spatio-temporelle à un instant donné, pour les trois configurations isolées suivantes : la cuvette 1-mm avec une couche de silicone de 100 μm et les cuvettes 4-mm avec des épaisseurs de silicone de 100 μm et 500 μm .

Allure temporelle et spectre fréquentiel du champ appliqué

L'allure temporelle du champ appliqué au milieu biologique par les cuvettes isolées, présentés Figure 108a, 108c et 108e, montrent que le champ appliqué ne possède pas la même forme que le champ incident. De même que précédemment, le champ appliqué est bipolaire tandis que le champ incident est monopolaire. Cela peut être justifié par l'atténuation du contenu spectral BF de l'impulsion incidente par le milieu biologique, comme indiquent les spectres fréquentiels Figure 108b, 108d et 108f.



En ce qui concerne l'amplitude du champ, nous remarquons une forte atténuation du niveau de champ par rapport aux cuvettes à électrodes en contact direct avec le milieu (Figure 89e et 89f). Pour la cuvette 1-mm un rapport d'intensité du champ appliqué de 0.46 a été obtenu entre la cuvette isolée et celle avec contact. Pour une tension incidente de 3.1 kV, un champ d'intensité 1.2 MV/m crête-à-crête a été appliqué avec isolation et de 2.6 MV/m sans l'isolation (Tableau IV-3).

Pour la cuvette 4-mm isolée, des intensités de champ appliqué de 0.6 MV/m et 0.2 MV/m crête-à-crête ont été obtenues, pour des épaisseurs de la couche de silicone de 100 μm et 500 μm , respectivement (Tableau IV-3). L'augmentation de l'épaisseur de la couche isolante diminue alors le champ appliqué. Et par comparaison à la cuvette 4-mm sans la couche de silicone (0.77 MV/m) on a un rapport d'intensité de champ appliqué de 0.7 et 0.3 environ pour des épaisseurs du silicone de 100 μm et 500 μm , respectivement. Ces niveaux de champs sont considérés très intéressants par comparaison à ceux obtenues dans le cas de la cellule TEM de l'ordre de 0.05 MV/m.

Tableau IV-3 Amplitudes maximales des champs incidents et appliquées au milieu biologique contenu dans les cuvettes biologiques isolées et avec contact. Résultats pour l'impulsion incidente de durée 3 ns.

	Impulsion 3-ns		
	E_{inc}	E_{app}	E_{app}/E_{inc}
Cuvette 1-mm isolée e _{silicone} = 100 μm	3.1	1.2	0.4
Cuvette 4-mm isolée e _{silicone} = 100 μm	0.87	0.6	0.7
Cuvette 4-mm isolée e _{silicone} = 500 μm	0.87	0.2	0.2
Cuvette 1-mm avec contact	3.1	2.6	0.8
Cuvette 4-mm avec contact	0.87	0.77	0.9

- E_{inc} : Champ électrique incident, exprimé en MV/m

- E_{app} : Champ électrique appliqué, exprimé en MV/m



Cuvettes d'électroporation isolées

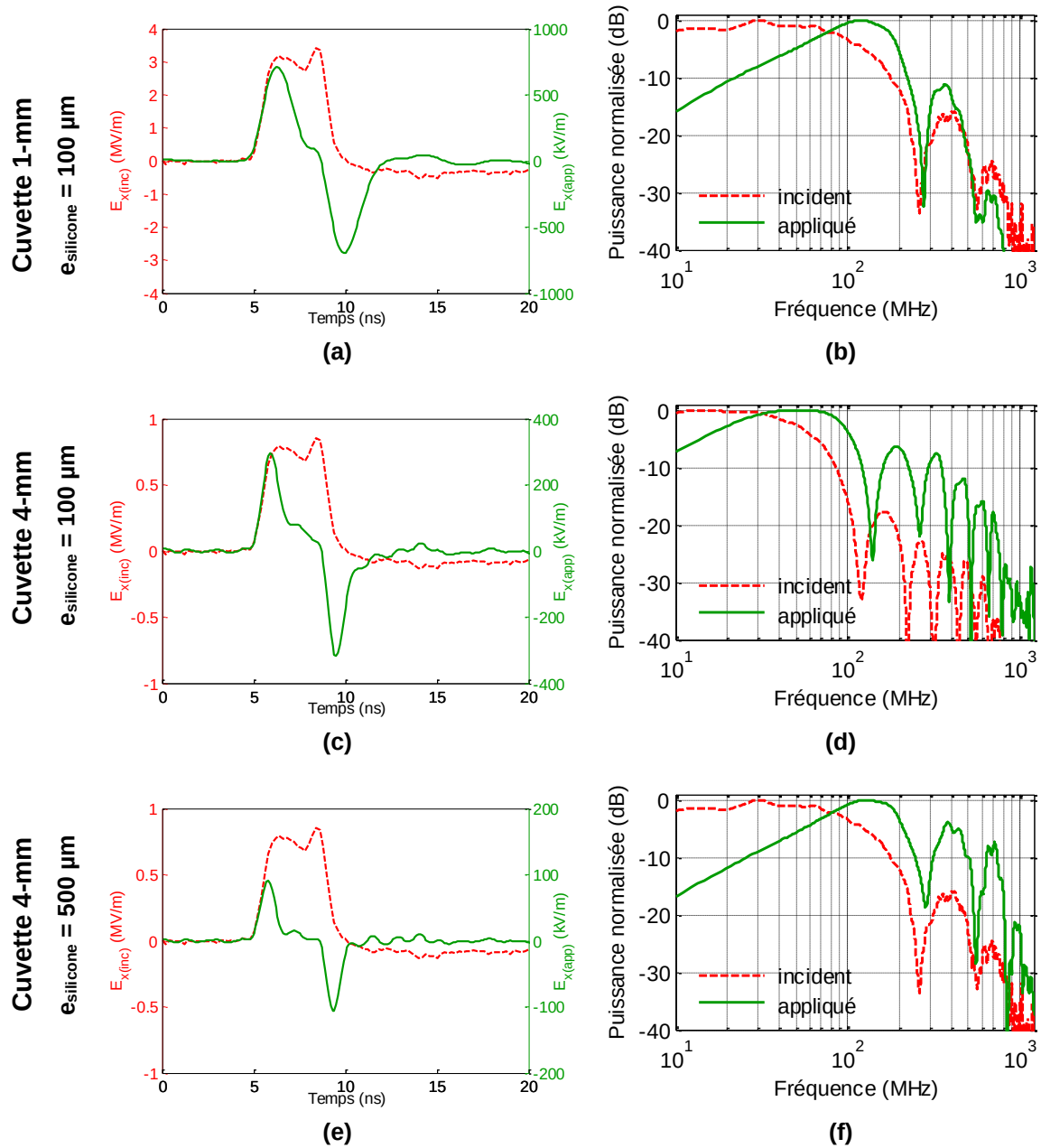


Figure 108 Caractérisation du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé à l'impulsion 3 ns dans les cuvettes d'électroporation. Résultats pour la cuvette isolée de distance inter-électrodes de 1 mm, dans le domaine temporel (a) et le domaine fréquentiel (b). Résultats pour la cuvette isolée avec une couche de silicone d'épaisseur 100 μm , de distance inter-électrodes de 4 mm, dans le domaine temporel (c) et le domaine fréquentiel (d). Résultats pour la cuvette isolée avec une couche de silicone d'épaisseur 500 μm , de distance inter-électrodes de 4 mm, dans le domaine temporel (e) et le domaine fréquentiel (f).

Distribution spatio-temporelle du champ appliqué

La Figure 109 montre la distribution du champ électrique entre les électrodes isolées de la cuvette de distance inter-électrodes de 4 mm comme déterminée par la simulation numérique. L'amplitude maximale de l'impulsion générée utilisée pour cette simulation est de 3.1 kV (impulsion 3-ns (Figure 82a)). Le résultat extrait correspond à l'amplitude maximale du champ électrique appliqué obtenu à 7 ns. Il indique qu'une bonne homogénéité a été obtenue dans le milieu biologique. La valeur du champ électrique entre les deux électrodes est d'environ 600 kV/m (0.6 MV/m) crête-à-crête. On constate qu'un champ électrique fort est confiné dans la couche isolante ayant une permittivité diélectrique de 4, très faible par rapport à la permittivité du milieu biologique de 78.

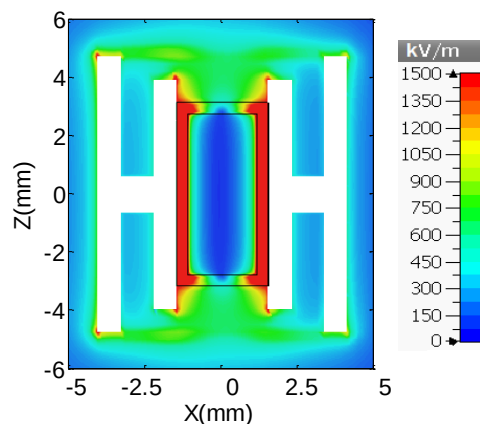


Figure 109 Distribution spatiale du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé dans la cuvette biologique isolée de distance inter-électrodes de 4 mm. L'épaisseur de la couche de silicone est de 500 μm . Les résultats correspondent à l'instant $t = 7 \text{ ns}$ ou l'amplitude du champ appliqué est maximale.

IV.2.7.2 Conclusion

Dans cette partie, nous avons proposé d'isoler les électrodes de la cuvette biologique par une couche de silicone pour éviter le contact électrodes/milieu biologique. La caractérisation fréquentielle numérique a montré que pour la cuvette de distance inter-électrodes 1 mm, la bande passante s'est étendue de 270 MHz dans le cas de la configuration avec contact, à 380 MHz dans le cas de la configuration à électrodes isolées du milieu. Pour la cuvette de distance inter-électrodes 4 mm la bande passante est passée après l'isolation de 260 MHz à 540 MHz. Donc l'isolation des électrodes a permis d'élargir la bande passante des deux cuvettes, ce qui les rend plus adaptées aux impulsions ultra-courtes ayant un large spectre fréquentiel.



Ensuite, les cuvettes ont été simulées dans le domaine temporelle avec l'impulsion de durée 3 ns. L'évaluation du champ électrique dans le milieu biologique exposé a montré que pour une tension incidente de 3.1 kV, des intensités du champ de 1.2 MV/m et 0.6 MV/m crête-à-crête peuvent être délivré au milieu par les cuvettes 1 mm et 4 mm, respectivement. Cela montre que ces applicateurs isolés peuvent être plus puissants que la cellule TEM pour des expositions sans contact électrodes/milieu biologiques en termes d'intensité du champ électrique appliqué.



IV.2.8. Le système à deux électrodes isolées

Le système à deux électrodes a été aussi modélisé en isolant les électrodes du milieu biologique. Le système a été simulé avec les électrodes couvertes d'une gaine thermorétractable d'épaisseur 100 μm comme montre la Figure 110 et caractérisé en terme de bande passante et de champ électrique appliqué.

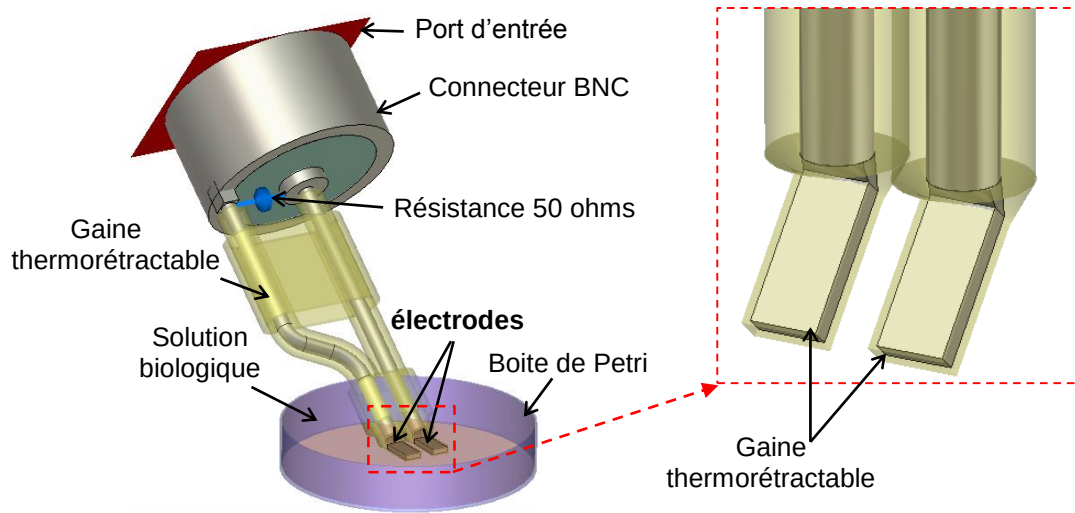


Figure 110 Systèmes à deux électrodes isolées modélisées et simulées.

IV.2.8.1 Caractérisation fréquentielle du système à électrodes isolées

Coefficient de réflexion S_{11}

Les coefficients de réflexion à l'entrée des systèmes à deux électrodes isolées et en contact avec le milieu biologique sont tracés Figure 111. Par comparaison au cas du système à deux électrodes en contact avec le milieu biologique, la bande passante du système à électrodes isolées a augmenté de 200 MHz à 570 MHz, soit un facteur de 2.8 de plus en bande passante. Cela rend ce dispositif théoriquement capable de transmettre des impulsions électriques de durées de l'ordre de 1.7 ns ayant un spectre fréquentiel qui s'étend jusqu'à 570 MHz.



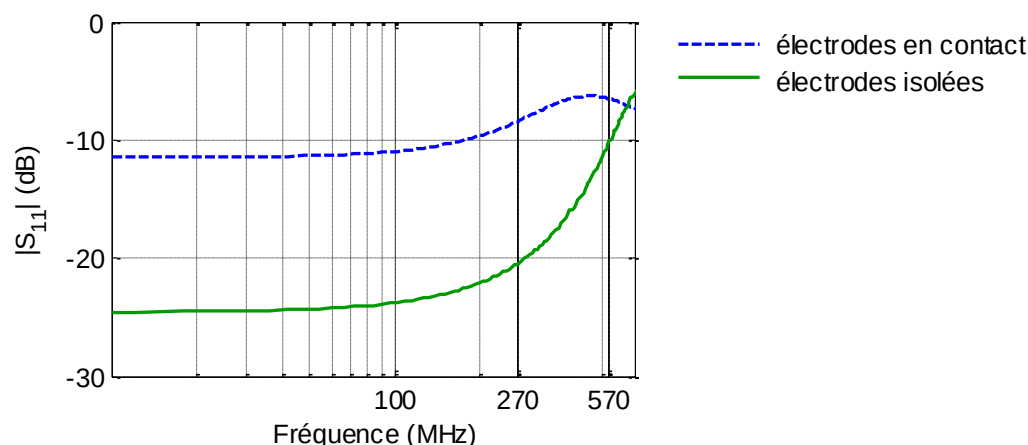


Figure 111 Module du coefficient de réflexion S_{11} obtenus par simulation pour le système à deux électrodes isolées du milieu biologique.

IV.2.8.2 Caractérisation temporelle du système à électrodes isolées

IV.2.8.2.1. Allure temporelle du champ électrique au milieu biologique

Le profil temporel du champ électrique extrait d'un point arbitraire situé au centre du canal formé par les deux électrodes remplies par la solution biologique (Figure 112a), montre que la forme de l'impulsion 3 ns n'est pas conservée comme étant monopolaire. En termes d'amplitude, une intensité du champ appliqué atténuée, de 0.6 MV/m crête-à-crête (Figure 112a), est obtenue au lieu de 2.5 MV/m dans le cas des électrodes sans la couche de silicone (Figure 96e). L'intensité du champ a été atténuée d'un rapport de 0.2 (Tableau IV-4).

Tableau IV-4 Amplitudes maximales des champs incidents et appliquées au milieu biologique par le système à deux électrodes isolées et avec contact. Résultats pour l'impulsion incidente de durée 3 ns.

	Impulsion 3-ns		
	E_{inc}	E_{app}	E_{app}/E_{inc}
Système à deux électrodes isolées	2.9	0.6	0.2
Système à deux électrodes avec contact	2.9	2.5	0.8

- E_{inc} : Champ électrique incident, exprimé en MV/m

- E_{app} : Champ électrique appliqué, exprimé en MV/m



Système à deux électrodes isolées

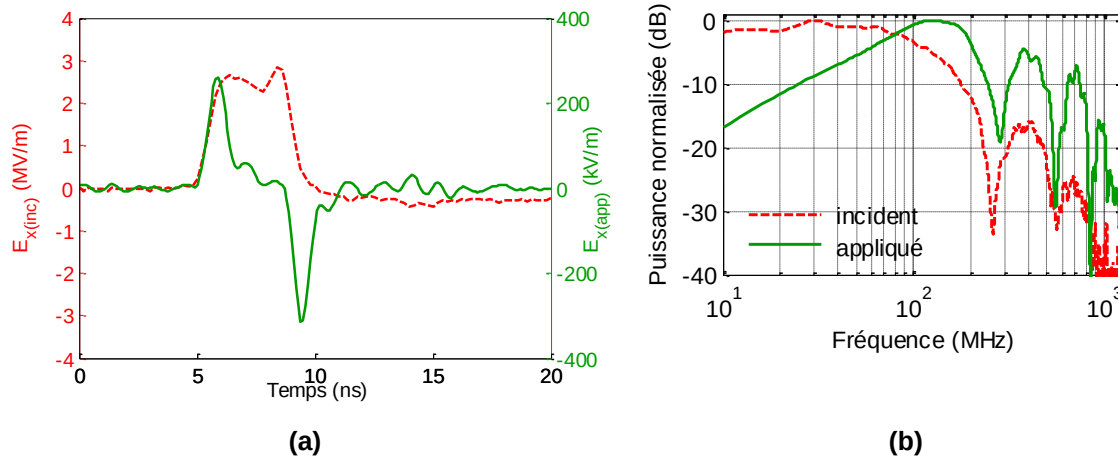


Figure 112 Caractérisation du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé à l'impulsion 3 ns avec le système à deux électrodes isolées dans le domaine temporel (a) et le domaine fréquentiel (b).

IV.2.8.2.2. Distribution spatio-temporelle du champ appliqué

En ce qui concerne la distribution spatio-temporelle du champ électrique, le résultat montre une exposition homogène quel que soit la position dans le milieu biologique entre les électrodes (Figure 113). Une intensité du champ appliqué de 0.6 MV/m crête-à-crête a été obtenue pour une tension incidente de 3.1 kV.

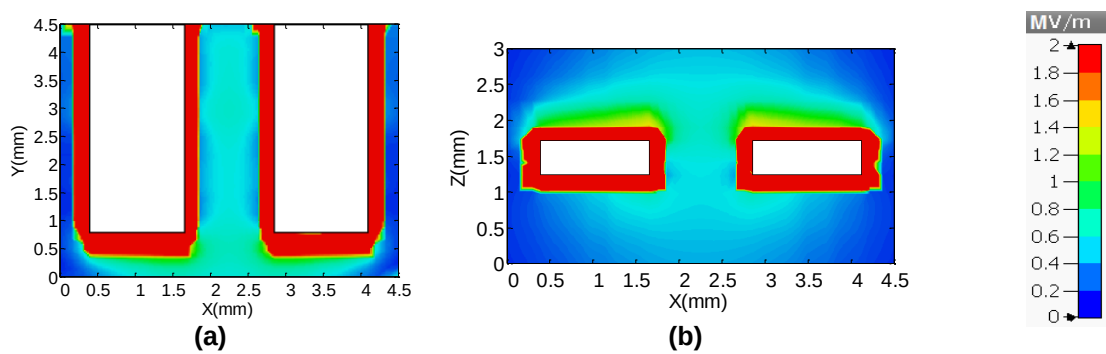


Figure 113 Distribution spatiale du champ électrique appliqué dans un échantillon biologique exposé à l'aide du système à deux électrodes isolées. Résultats pour l'impulsion incidente 3 ns, coupe longitudinale (a) et coupe transversale (b). Les résultats correspondent à l'instant $t = 7$ ns ou l'amplitude du champ appliqué est maximale.

IV.2.8.3 Conclusion

Pour résumer cette partie, le système à deux électrodes a été modifié pour assurer une exposition isolée du milieu biologique. Nous avons couvert les électrodes par une couche de silicone. Le système a été caractérisé numériquement dans les domaines fréquentiel et temporel. Par comparaison au cas du système à deux électrodes en contact avec le milieu biologique, la bande passante du système à électrodes isolées s'est élargie de 200 MHz à 570 MHz. La caractérisation temporelle a montré que pour une tension incidente de 3.1 kV de l'impulsion 3 ns, une intensité du champ appliqué de 0.6 MV/m crête-à-crête est obtenue au lieu de 2.5 MV/m en cas des électrodes sans la couche de silicone.



IV.3. Conclusion du chapitre

Dans ce dernier chapitre, nous avons proposé et caractérisé trois applicateurs nsPEFs à électrodes sans contact direct avec le milieu biologique exposé.

Le premier applicateur est basé sur une cellule TEM contenant une cuvette en plastique remplie du milieu biologique. La caractérisation fréquentielle de la cellule TEM a montré qu'elle possède une large bande passante allant jusqu'à 650 MHz. Le deuxième applicateur est basé sur la même structure de la cuvette biologique présentée dans le chapitre précédent (chapitre III) mais avec les électrodes couvertes d'une couche de silicone pour les isoler du milieu biologique. Les résultats ont montré que cette isolation a permis d'élargir la bande passante de la cuvette de 260 MHz à 380 MHz et 540 MHz pour, respectivement, les cuvettes de distances inter-électrodes de 1-mm et 4-mm. Le dernier applicateur est le système à deux électrodes isolées du milieu biologique avec une couche de silicone. Après isolation, la bande passante de ce système s'est élargie de 200 MHz à 570 MHz.

La capacité de ces applicateurs à transmettre des nsPEFs a été évaluée dans le domaine temporel avec l'impulsion de durée 3 ns et d'amplitude 3.1 kV. Les résultats ont montré l'adaptation de ces systèmes isolés à l'impulsion de durée 3 ns. Les cuvettes 1-mm et 4-mm et le système à deux électrodes sont capables de fournir, respectivement, des champs d'intensités 1.2 MV/m, 0.6 MV/m et 0.6 MV/m. Par comparaison avec ces applicateurs, le champ délivré par la cellule TEM est relativement faible de 50 kV/m.

L'isolation des électrodes a donc permis d'élargir les bandes passantes des applicateurs nsPEFs. Cela rend ces systèmes adaptés à des impulsions ultracourtes.



Conclusion générale et perspectives





Conclusion générale et perspectives

Ces travaux de recherche ont porté sur l'étude des applicateurs pour l'exposition des milieux biologiques aux ondes électromagnétiques pour des applications différentes. Plus précisément, les travaux menés consistaient à développer des dispositifs spécifiques soit pour l'évaluation des effets sanitaires des signaux de télécommunications sans fil, soit pour des applications thérapeutiques comme l'ablation par des micro-ondes des tumeurs cancéreuses ou le traitement du cancer par des nsPEFs. La caractérisation a été effectuée avec des moyens expérimentaux et en s'appuyant sur la modélisation numérique.

Dans le premier chapitre, nous avons positionné l'objet de notre étude. Dans un premier temps, nous nous sommes concentrés sur l'effet thermique des ondes EM et son application dans l'ablation thermique des tumeurs cancéreuses. Nous avons cité les techniques les plus connues d'ablation thermique. Nous avons montré que l'ablation par des micro-ondes présente plusieurs avantages par rapport à l'ablation par des radiofréquences. Nous avons aussi montré que de nombreuses études se focalisent sur les effets athermiques possibles des signaux de télécommunications sans fils sur la santé humaine. Cependant, à ce jour les expérimentations menées n'ont pas permis de conclure qu'une exposition aux champs EM des téléphones mobiles et de leurs stations de base pouvait avoir des effets sanitaires néfastes.

Ensuite, nous nous sommes intéressés aux effets des champs électriques pulsés nanoseconde de hautes intensités sur les milieux biologiques, avec comme perspectives des applications biomédicales prometteuses. Ce type de signal est appliqué à des milieux biologiques et il possède la propriété de pouvoir affecter le milieu intracellulaire des cellules. Il présente la particularité de pouvoir induire par exemple une perméabilisation des membranes sous-cellulaires, contrairement aux impulsions (ms- μ s, kV/m) utilisées jusqu'alors. Ces dernières affectent principalement la membrane plasmique et interviennent d'ores et déjà dans des protocoles de traitement anticancéreux, connus sous le nom d'électrochimiothérapie.

Enfin, nous nous sommes focalisés sur les systèmes d'exposition des milieux biologiques aux ondes EM. Premièrement, une description non exhaustive des différentes parties d'un système d'AMW a été donnée en mettant l'accent sur la partie applicateur basée sur différentes structures d'antennes. Il a été montré que les antennes développées possèdent des diamètres relativement grands, ce qui les rend limitées à l'ablation par voie percutanée et non endoscopique. Deuxièmement, nous avons présenté un bref état de l'art sur les différents systèmes d'exposition qui ont été utilisés dans la littérature pour étudier l'effet sanitaire des signaux de



télécommunication sans fil (les ondes radiofréquences). Il a été montré que peu sont les systèmes qui répondent aux besoins des biologistes concernant la possibilité de la visualisation en temps réel sous l'objectif du microscope du milieu biologique exposé. Cette caractéristique est considérée principale pour une interprétation complète des effets biologiques obtenus. Finalement, nous avons montré que l'utilisation des impulsions haute intensité de durée nanoseconde exige la mise en place de systèmes d'exposition capables de générer ce type de signaux. Ils doivent permettre d'exposer le milieu biologique tout en répondant aux contraintes physiques et biologiques afin d'assurer la reproductibilité des expériences bioélectromagnétiques. Une description non exhaustive des différents types d'applicateurs nsPEFs existants a été réalisée.

Dans le deuxième chapitre, deux applicateurs pour, respectivement, l'ablation thermique micro-onde des tumeurs cancéreuses du foie et l'évaluation des effets sanitaires du GSM-1800 MHz ont été étudiés. Le premier est basé sur une antenne triaxiale formé d'un câble coaxial introduit dans une aiguille de biopsie. L'antenne a été conçue pour rayonner à 2.45 GHz. L'originalité de ce dispositif est qu'il permet l'AMW des tumeurs du foie par voie endoscopique due à ses dimensions miniaturisées qui rend possible de l'insérer dans une sonde endoscopique. L'antenne a été plongée dans un liquide équivalent aux tissus cancéreux du foie. La distribution du SAR dans le milieu exposé a été étudiée. Le résultat a montré la capacité de l'antenne à confiner l'énergie au voisinage de sa partie active avec une valeur du DAS très forte, d'environ $220 \text{ W/kg/W}_{\text{inc}}$, capable d'induire une élévation de température supérieure à 60°C . La zone d'ablation obtenue est d'environ 1-cm de large. L'antenne permet une ablation bien localisée.

Le deuxième applicateur est basé sur une cellule transverse électromagnétique qui permet l'observation microscopique des effets biologique en temps réel à l'aide d'une ouverture percée dans sa plaque inférieure. La caractérisation électromagnétique de cet applicateur a été réalisée expérimentalement et numériquement. Il a été montré que la cellule TEM contenant le milieu biologique remplie dans une boîte de Petri présente une large bande passante de 3 GHz. En plus, une évaluation du débit d'absorption spécifique (DAS) dans la solution a été réalisée et a montré une forte inhomogénéité de la distribution du DAS due au couplage à travers l'ouverture de la plaque métallique inférieure. Pour améliorer l'homogénéité du DAS dans la solution lors de l'observation microscopique, l'ouverture a été fermée par un métal transparent appelé : oxyde d'indium-étain (ITO).



Dans le troisième chapitre, deux applicateurs spécifiques pour l'exposition des milieux biologiques aux nsPEFs, avec contact direct électrodes/milieu biologique, ont été proposés et caractérisés dans les domaines temporel et fréquentiel. Le premier est basé sur une cuvette d'électroporation qui a été modifiée pour permettre l'observation microscopique en temps réel des cellules biologiques exposées. Deux cuvettes de distances inter-électrodes de 1-mm et 4-mm ont été considérées. La caractérisation fréquentielle numérique et expérimentale a montré que les bandes passantes des cuvettes 1-mm et 4-mm, pour un coefficient de réflexion inférieur à -10 dB sont de 260 MHz et 270 MHz respectivement. Ensuite, la caractérisation temporelle de la cuvette a été réalisée en étudiant sa réponse à des impulsions de durées différentes. Il a été montré que la cuvette est adaptée pour une utilisation avec des impulsions de durée égale à 3 ns et de fronts montée d'environ 0.5 ns. Enfin, l'étude dosimétrique effectuée a montré que la distribution spatiale du champ électrique est homogène dans tout le milieu exposé entre les électrodes. L'intensité du champ délivré par la cuvette 1-mm est de 4 MV/m, quatre fois plus forte que celle délivrée par la cuvette 4-mm.

Un deuxième système basé sur la géométrie de deux électrodes en parallèles distantes de 1.2-mm pour l'exposition nsPEF in vivo des tumeurs cancéreuses a été aussi proposé et caractérisé. Cet applicateur permet la visualisation en temps réel sous l'objectif du microscope. Sa bande passante s'étend jusqu'à 200 MHz. L'étude de la réponse temporelle a montré l'adaptation du système aux impulsions relativement courtes (3 ns). Le petit gap entre les électrodes a permis l'exposition du milieu biologique à des champs électriques très intenses de l'ordre de 3.6 MV/m. Une bonne homogénéité dans la distribution spatiale du champ a été aussi obtenue.

Dans le quatrième chapitre, des applicateurs spécifiques pour l'exposition des milieux biologiques aux nsPEFs, sans contact électrodes/milieu biologique, ont été présentés. Le premier applicateur est une cellule transverse électromagnétique de petites dimensions. Le milieu biologique a été isolé des électrodes en le plaçant dans une cuvette en plastique positionnée entre le septum et la plaque inférieure de la cellule TEM. La caractérisation électromagnétique a montré que la cellule TEM contenant le milieu biologique présente une large bande passante de 1.7 GHz et qu'elle est adaptée aux impulsions de durée 3 ns. Des niveaux de champs de l'ordre de dizaines de kV/m ont été évalués dans la solution.

Les autres applicateurs sont basés sur la cuvette biologique et le système à électrodes présentés précédemment, mais avec les électrodes isolées du milieu biologique par une couche de silicone. La caractérisation numérique a montré que la bande passante de ces systèmes a été



élargie par rapport aux cas des mêmes systèmes avec le milieu biologique placé en contact direct avec les électrodes. Cela les rend adaptés aux impulsions ultra-courtes.

Ce travail nous permet d'émettre des perspectives concernant différentes parties.

Concernant l'antenne triaxial d'AMW, une voie qui sera nécessaire à poursuivre, est d'effectuer une dosimétrie in situ dans un milieu inhomogène représentatif du tissu cancéreux à traiter. Une autre étape importante, consistera à insérer l'antenne dans un modèle de tube digestif pour évaluer la limitation de ce câble en termes de flexibilité. Le câble du quel est fabriqué l'antenne étant semi-rigide, il est possible que sa distorsion dans le tube digestif ne soit pas pratique et affecte ses performances électromagnétiques. Le développement d'un câble flexible ayant un diamètre assez réduit peut être une bonne solution (indisponible dans les câbles flexibles commercialisés présents à ce jours).

Pour les applicateurs nsPEFs, des mesures temporelles avec des impulsions haute tension plus courtes seront importantes. Cela permet de préciser la limite temporelle de chaque applicateur en terme de la durée minimale d'impulsion qu'il peut transmettre sans distorsion. Le plus intéressant sera aussi de continuer les expérimentations biologiques que nous avons déjà commencer en utilisant ces dispositifs.

Pour les applicateurs nsPEFs isolés basés sur la cuvette biologique et le système a deux électrodes, la prochaine étape consistera à fabriquer ces dispositifs pour les caractériser expérimentalement et tester leur efficacité dans l'exposition des cellules biologiques aux impulsions plus courtes de durée inférieures à 3 ns.



Liste des publications et communications

Revue internationale à comité de lecture

1. S. M. Bardet, L. Carr, **M. Soueid**, D. Arnaud-Cormos, P. Leveque and R. P. O'Connor, "Multiphoton imaging reveals that nanosecond pulsed electric fields collapse tumor and normal vascular perfusion in human glioblastoma xenografts". Acceptée le 13 septembre 2016 pour publication dans la revue "Scientific Reports", numéro du papier [Paper#SREP34443].
2. **M. Soueid**, S. Kohler, L. Carr, S. M. Bardet, R. P. O'Connor, P. Leveque, and D. Arnaud-Cormos, "Electromagnetic Analysis of an Aperture Modified TEM Cell Including an ITO Layer for Real-Time Observation of Biological Cells Exposed to Microwaves". Progress In Electromagnetics Research, 149, 193-204, 2014.

Soumise :

1. **M. Soueid** et al., "Delivery devices for biological cells exposure to nanosecond and sub-nanosecond pulsed electric fields", Medical and Biological Engineering and Computing Journal.

Communications Internationales

1. **M. Soueid**, N. Ghazie, L. Carr, R. P. O'Connor, P. Leveque, and D. Arnaud-Cormos, "nsPEF characterization of a delivery device based on 1-mm Gap thin electrodes for the exposure of biological cells", The 3rd IEEE Middle East Conference on Antennas and Propagation MECAP'16, Beirut, Lebanon, september 2016.
2. N. Ghazie, **M. Soueid**, P. Leveque, D. Arnaud-Cormos, M. Kenaan, A. Harmush, "Characterization and dosimetry of TEM cells for bioelectromagnetic studies", The 3rd IEEE Middle East Conference on Antennas and Propagation MECAP'16, Beirut, Lebanon, septembre 2016.
3. L. Carr, S. M. Bardet, **M. Soueid**, D. Arnaud-Cormos, P. Leveque & R. P. O'Connor, "Super-resolution microscopy reveals microtubule buckling and breaking following nanosecond pulsed electric field exposure in U87 human glioblastoma cells",



BioEM2016, Joint Meeting of the BioElectroMagnetics Society and the European BioElectromagnetics Association, Ghent, Belgium, Jun 2016.

4. L. Carr, S. M. Bardet, **M. Soueid**, D. Arnaud-Cormos, P. Leveque & R. P. O'Connor, "Calcium-independent disruption of microtubule growth following nanosecond pulsed electric field exposure in U87 human glioblastoma cells", BioEM2015, Joint Meeting of the BioElectroMagnetics Society and the European BioElectromagnetics Association, Pacific Grove, CA, United States, Jun 2015.
5. S. M. Bardet, L. Carr, **M. Soueid**, D. Arnaud-Cormos, P. Leveque & R. P. O'Connor, "*In vivo* multiphoton microscopy shows that a single 10 nanosecond pulsed electric field is sufficient to disrupt vasculature in xenografted human glioblastoma ", BioEM2015, Joint Meeting of the BioElectroMagnetics Society and the European BioElectromagnetics Association, Jun 2015, Pacific Grove, CA, United States.
6. **M. Soueid**, J. Jacques, C. Yardin, S. Fontanier, R. O'Connor, P. Leveque, D. Arnaud-Cormos, "Microwave hyperthermia versus nanosecond pulsed electric field for *in vivo* tumors applications," 2015 IEEE MTT-S International Microwave Symposium, Phoenix, AZ, May 2015, pp. 1-4.
7. D. Arnaud-Cormos, **M. Soueid**, R. O'Connor, Y. Percherancier, I. Lagroye, B. Veyret, P. Leveque, "Delivery system setup and characterization for biological cells exposed to nanosecond pulsed electric field," 2015 IEEE MTT-S International Microwave Symposium, Phoenix, AZ, May 2015, pp. 1-4.

Communications nationales

1. **M. Soueid**, J. Jacques, C. Yardin, S. Fontanier, R. O'Connor, P. Leveque, D. Arnaud-Cormos, "Dosimétrie d'applicateurs micro-onde et champ électrique pulsé : comparaison de techniques et applications *in vivo*", in Proc. of 19èmes Journées Nationales Micro-ondes (JNM), Bordeaux - France, juin 2015.
2. **M. Soueid**, L. Carr, R. O'Connor, P. Leveque, D. Arnaud-Cormos, "Condition de réalisation d'une cellule TEM modifiée pour la visualisation en temps réel des cellules biologiques aux champs électromagnétiques", Quatrième colloque francophone PLUridisciplinaire sur les Matériaux, l'Environnement et l'Electronique (PLUMEE 2015), juin 2015, Limoges, France, pp. 132-135, 2015.
3. **M. Soueid**, L. Carr, S. M. Bardet, R. O'Connor, P. Leveque, D. Arnaud-Cormos, "Delivery devices for the exposure of biological cells to high intensity pulsed electric



fields nanosecond", Conseil scientifique LabEx Sigma-Lim, Limoges, France, mars 2015.

4. **M. Soueid**, S. Kohler, R. O'Connor, P. Leveque, D. Arnaud-Cormos, "Characterization of a TEM Cell-Based Setup for the Exposure of Biological Cell Suspensions to High-Intensity nanosecond Pulsed Electric Fields (nsPEF)", Troisieme colloque francophone PLUridisciplinaire sur les Matériaux, l'Environnement et l'Electronique (PLUMEE 2013), May 2013, Bacau, Romania, pp. 270-273, 2013.





Références bibliographiques

- [1] P. A. Valberg, T. E. van Deventer, et M. H. Repacholi, « Workgroup Report: Base Stations and Wireless Networks—Radiofrequency (RF) Exposures and Health Consequences », *Environ. Health Perspect.*, vol. 115, n° 3, p. 416-424, mars 2007.
- [2] J. P. McGahan et G. D. Dodd, « Radiofrequency Ablation of the Liver », *Am. J. Roentgenol.*, vol. 176, n° 1, p. 3-16, janv. 2001.
- [3] C. L. Brace, « Microwave Ablation Technology: What Every User Should Know », *Curr. Probl. Diagn. Radiol.*, vol. 38, n° 2, p. 61-67, mars 2009.
- [4] J. C. Weaver, « Electroporation: a general phenomenon for manipulating cells and tissues », *J. Cell. Biochem.*, vol. 51, n° 4, p. 426-435, avr. 1993.
- [5] M. M. la Peña, P. Elez-Martínez, et O. Martín-Belloso, « Food Preservation by Pulsed Electric Fields: An Engineering Perspective », *Food Eng. Rev.*, vol. 3, n° 2, p. 94-107, mars 2011.
- [6] F. André et L. M. Mir, « DNA electrotransfer: its principles and an updated review of its therapeutic applications », *Gene Ther.*, vol. 11 Suppl 1, p. S33-42, oct. 2004.
- [7] K. H. Schoenbach, S. J. Beebe, et E. S. Buescher, « Intracellular effect of ultrashort electrical pulses », *Bioelectromagnetics*, vol. 22, n° 6, p. 440-448, sept. 2001.
- [8] J. C. Lin, « Studies on microwaves in medicine and biology: From snails to humans », *Bioelectromagnetics*, vol. 25, n° 3, p. 146-159, avr. 2004.
- [9] « WHO | Cancer », WHO. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>. [Consulté le: 13-sept-2016].
- [10] O. S. Nielsen, M. Horsman, et J. Overgaard, « A future for hyperthermia in cancer treatment? », *Eur. J. Cancer*, vol. 37, n° 13, p. 1587-1589, sept. 2001.
- [11] G. Carrafiello, D. Laganà, M. Mangini, F. Fontana, G. Dionigi, L. Boni, F. Rovera, S. Cuffari, et C. Fugazzola, « Microwave tumors ablation: Principles, clinical applications and review of preliminary experiences », *Int. J. Surg.*, vol. 6, p. S65-S69, janv. 2008.
- [12] « Microwave coagulation therapy for hepatocellular carcinoma », *Gastroenterology*, vol. 108, n° 4, p. A1163, avr. 1995.
- [13] R. C. G. Martin, C. R. Scoggins, et K. M. McMasters, « Safety and Efficacy of Microwave Ablation of Hepatic Tumors: A Prospective Review of a 5-Year Experience », *Ann. Surg. Oncol.*, vol. 17, n° 1, p. 171-178, août 2009.
- [14] J. M. Bertram, D. Yang, M. C. Converse, J. G. Webster, et D. M. Mahvi, « A Review of Coaxial-Based Interstitial Antennas for Hepatic Microwave Ablation », *Crit. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 34, n° 3, p. 187-213, 2006.



- [15] J. Teissie, M. Golzio, et M. P. Rols, « Mechanisms of cell membrane electroporation: A minireview of our present (lack of?) knowledge », *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.*, vol. 1724, n° 3, p. 270-280, août 2005.
- [16] P. T. Vernier, Z. A. Levine, et M. A. Gundersen, « Water Bridges in Electroporated Phospholipid Bilayers », *Proc. IEEE*, vol. 101, n° 2, p. 494-504, févr. 2013.
- [17] P. T. Vernier, Y. Sun, et M. A. Gundersen, « Nanoelectropulse-driven membrane perturbation and small molecule permeabilization », *BMC Cell Biol.*, vol. 7, p. 37, 2006.
- [18] « Membrane plasmique », Wikipédia. 14-juin-2016.
- [19] M. Edidin, « Lipids on the frontier: a century of cell-membrane bilayers », *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 4, n° 5, p. 414-418, mai 2003.
- [20] F. Fogolari, A. Brigo, et H. Molinari, « The Poisson-Boltzmann equation for biomolecular electrostatics: a tool for structural biology », *J. Mol. Recognit. JMR*, vol. 15, n° 6, p. 377-392, déc. 2002.
- [21] A. D. ANGELIS, « Electro-optical pump-probe system suitable for the investigation of electroporated biological cells », thesis, Université de Limoges.
- [22] T. D. T. VU, « Contribution à la modélisation du comportement électromagnétique de milieux biologiques exposés à des impulsions de champ électrique nanosecondes », thesis, Université de Limoges.
- [23] « Mise à jour de l'expertise relative aux radiofréquences RAPPORT. d'expertise collective ». [En ligne]. Disponible sur: <http://docplayer.fr/9647611-Mise-a-jour-de-l-expertise-relative-aux-radiofréquences-rapport-d-expertise-collective.html>. [Consulté le: 21-sept-2016].
- [24] « NCRP | », NCRP | Bethesda, MD. [En ligne]. Disponible sur: <http://ncrponline.org/>. [Consulté le: 21-sept-2016].
- [25] J. J. L. I. M. J, van R. E, S. R, de S. R, T. T, V. L, V. B, et X. Z, Exposure to high frequency electromagnetic fields, biological effects and health consequences (100 kHz – 300 GHz). 2009.
- [26] A. P. O'Rourke, D. Haemmerich, P. Prakash, M. C. Converse, D. M. Mahvi, et J. G. Webster, « Current status of liver tumor ablation devices », *Expert Rev. Med. Devices*, vol. 4, n° 4, p. 523-537, juill. 2007.
- [27] G. S. Gazelle, S. N. Goldberg, L. Solbiati, et T. Livraghi, « Tumor Ablation with Radio-frequency Energy », *Radiology*, vol. 217, n° 3, p. 633-646, déc. 2000.
- [28] M. Nikfarjam, V. Muralidharan, et C. Christophi, « Mechanisms of Focal Heat Destruction of Liver Tumors », *J. Surg. Res.*, vol. 127, n° 2, p. 208-223, août 2005.
- [29] S. N. Goldberg, G. S. Gazelle, E. F. Halpern, W. J. Rittman, P. R. Mueller, et D. I. Rosenthal, « Radiofrequency tissue ablation: importance of local temperature along the



electrode tip exposure in determining lesion shape and size », *Acad. Radiol.*, vol. 3, n° 3, p. 212-218, mars 1996.

[30] M. G. Lubner, C. L. Brace, J. L. Hinshaw, et F. T. Lee, « Microwave Tumor Ablation: Mechanism of Action, Clinical Results, and Devices », *J. Vasc. Interv. Radiol.*, vol. 21, n° 8, p. S192-S203, août 2010.

[31] C. J. Simon, D. E. Dupuy, et W. W. Mayo-Smith, « Microwave Ablation: Principles and Applications », *RadioGraphics*, vol. 25, n° suppl_1, p. S69-S83, oct. 2005.

[32] F. Duck, « Preface and Acknowledgements », in *Physical Properties of Tissues*, London: Academic Press, 1990, p. v.

[33] A. de la Hoz, « Microwave Heating as a Tool for Sustainable Chemistry. Edited by Nicholas E. Leadbeater », *ChemSusChem*, vol. 4, n° 5, p. 666-666, mai 2011.

[34] K. A. Simo, V. B. Tsirlin, D. Sindram, M. T. McMillan, K. J. Thompson, R. Z. Swan, I. H. McKillop, J. B. Martinie, et D. A. Iannitti, « Microwave ablation using 915-MHz and 2.45-GHz systems: what are the differences? », *HPB*, vol. 15, n° 12, p. 991-996, déc. 2013.

[35] S. Padma, J. B. Martinie, et D. A. Iannitti, « Liver tumor ablation: Percutaneous and open approaches », *J. Surg. Oncol.*, vol. 100, n° 8, p. 619-634, déc. 2009.

[36] T. Shibata, Y. Iimuro, Y. Yamamoto, Y. Maetani, F. Ametani, K. Itoh, et J. Konishi, « Small Hepatocellular Carcinoma: Comparison of Radio-frequency Ablation and Percutaneous Microwave Coagulation Therapy », *Radiology*, vol. 223, n° 2, p. 331-337, mai 2002.

[37] S. Jahangeer, P. Forde, D. Soden, et J. Hinchion, « Review of current thermal ablation treatment for lung cancer and the potential of electrochemotherapy as a means for treatment of lung tumours », *Cancer Treat. Rev.*, vol. 39, n° 8, p. 862-871, déc. 2013.

[38] S. Gabriel, R. W. Lau, et C. Gabriel, « The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz », *Phys. Med. Biol.*, vol. 41, n° 11, p. 2251-2269, nov. 1996.

[39] L. Crocetti, E. Bozzi, P. Faviana, D. Cioni, C. D. Pina, A. Sbrana, G. Fontanini, et R. Lencioni, « Thermal Ablation of Lung Tissue: In Vivo Experimental Comparison of Microwave and Radiofrequency », *Cardiovasc. Intervent. Radiol.*, vol. 33, n° 4, p. 818-827, mai 2010.

[40] N. C. Yu, S. S. Raman, Y. J. Kim, C. Lassman, X. Chang, et D. S. K. Lu, « Microwave Liver Ablation: Influence of Hepatic Vein Size on Heat-sink Effect in a Porcine Model », *J. Vasc. Interv. Radiol.*, vol. 19, n° 7, p. 1087-1092, juill. 2008.

[41] T. Seki, M. Wakabayashi, T. Nakagawa, M. Imamura, T. Tamai, A. Nishimura, N. Yamashiki, et K. Inoue, « Percutaneous microwave coagulation therapy for solitary metastatic liver tumors from colorectal cancer: a pilot clinical study », *Am. J. Gastroenterol.*, vol. 94, n° 2, p. 322-327, févr. 1999.



- [42] C. L. Brace, P. F. Laeseke, L. A. Sampson, T. M. Frey, D. W. van der Weide, et F. T. Lee, « Microwave Ablation with Multiple Simultaneously Powered Small-gauge Triaxial Antennas: Results from an in Vivo Swine Liver Model », *Radiology*, vol. 244, n° 1, p. 151-156, juill. 2007.
- [43] A. S. Wright, F. T. Lee, et D. M. Mahvi, « Hepatic Microwave Ablation With Multiple Antennae Results in Synergistically Larger Zones of Coagulation Necrosis », *Ann. Surg. Oncol.*, vol. 10, n° 3, p. 275-283.
- [44] F. Oshima, K. Yamakado, A. Nakatsuka, H. Takaki, M. Makita, et K. Takeda, « Simultaneous microwave ablation using multiple antennas in explanted bovine livers: relationship between ablative zone and antenna », *Radiat. Med.*, vol. 26, n° 7, p. 408-414, sept. 2008.
- [45] N. A. Durick, P. F. Laeseke, L. S. Broderick, F. T. Lee, L. A. Sampson, T. M. Frey, T. F. Warner, J. P. Fine, D. W. van der Weide, et C. L. Brace, « Microwave Ablation with Triaxial Antennas Tuned for Lung: Results in an in Vivo Porcine Model », *Radiology*, vol. 247, n° 1, p. 80-87, avr. 2008.
- [46] « Téléphonie mobile et santé : comprendre l'indice DAS - CNET France ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.cnetfrance.fr/produits/telephonie-mobile-et-sante-comprendre-l-indice-das-39198690.htm>. [Consulté le: 21-sept-2016].
- [47] « Elaboration de valeurs limites d'exposition - Valeurs limites d'exposition - Actions des pouvoirs publics - Site Radiofréquences ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.radiofrequences.gouv.fr/spip.php?article44>. [Consulté le: 21-sept-2016].
- [48] A. L. Garner, N. Chen, J. Yang, J. Kolb, R. J. Swanson, K. C. Loftin, S. J. Beebe, R. P. Joshi, et K. H. Schoenbach, « Time domain dielectric spectroscopy measurements of HL-60 cell suspensions after microsecond and nanosecond electrical pulses », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 32, n° 5, p. 2073-2084, oct. 2004.
- [49] K. H. Schoenbach, F. E. Peterkin, R. W. Alden, et S. J. Beebe, « The effect of pulsed electric fields on biological cells: experiments and applications », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 25, n° 2, p. 284-292, avr. 1997.
- [50] M. S. Bretscher, « The molecules of the cell membrane », *Sci. Am.*, vol. 253, n° 4, p. 100-108, oct. 1985.
- [51] T. Kotnik et D. Miklavcic, « Analytical description of transmembrane voltage induced by electric fields on spheroidal cells. », *Biophys. J.*, vol. 79, n° 2, p. 670-679, août 2000.
- [52] J. M. Crowley, « Electrical breakdown of bimolecular lipid membranes as an electromechanical instability », *Biophys. J.*, vol. 13, n° 7, p. 711-724, juill. 1973.
- [53] G. Pucihar, T. Kotnik, B. Valic, et D. Miklavcic, « Numerical determination of transmembrane voltage induced on irregularly shaped cells », *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 34, n° 4, p. 642-652, avr. 2006.



- [54] T. Kotnik, P. Kramar, G. Pucihar, D. Miklavcic, et M. Tarek, « Cell membrane electroporation- Part 1: The phenomenon », *IEEE Electr. Insul. Mag.*, vol. 28, n° 5, p. 14-23, sept. 2012.
- [55] R. Stampfli, « Reversible electrical breakdown of the excitable membrane of a Ranvier node », *ResearchGate*, vol. 30, janv. 1958.
- [56] A. J. H. Sale et W. A. Hamilton, « Effects of high electric fields on microorganisms », *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.*, vol. 148, n° 3, p. 781-788, déc. 1967.
- [57] E. Neumann et K. Rosenheck, « Permeability changes induced by electric impulses in vesicular membranes », *J. Membr. Biol.*, vol. 10, n° 1, p. 279-290.
- [58] S. Haberl, D. Miklavcic, G. Sersa, W. Frey, et B. Rubinsky, « Cell membrane electroporation-Part 2: the applications », *IEEE Electr. Insul. Mag.*, vol. 29, n° 1, p. 29-37, janv. 2013.
- [59] G. Sersa, D. Miklavcic, M. Cemazar, Z. Rudolf, G. Pucihar, et M. Snoj, « Electrochemotherapy in treatment of tumours », *Eur. J. Surg. Oncol. EJSO*, vol. 34, n° 2, p. 232-240, févr. 2008.
- [60] E. W. Lee, S. Thai, et S. T. Kee, « Irreversible electroporation: a novel image-guided cancer therapy », *Gut Liver*, vol. 4 Suppl 1, p. S99-S104, sept. 2010.
- [61] M. Marty, G. Sersa, J. R. Garbay, J. Gehl, C. G. Collins, M. Snoj, V. Billard, P. F. Geertsens, J. O. Larkin, D. Miklavcic, I. Pavlovic, S. M. Paulin-Kosir, M. Cemazar, N. Morsli, D. M. Soden, Z. Rudolf, C. Robert, G. C. O'Sullivan, et L. M. Mir, « Electrochemotherapy – An easy, highly effective and safe treatment of cutaneous and subcutaneous metastases: Results of ESOPE (European Standard Operating Procedures of Electrochemotherapy) study », *EJC Suppl.*, vol. 4, n° 11, p. 3-13, nov. 2006.
- [62] M. Sack, J. Sigler, S. Frenzel, C. Eing, J. Arnold, T. Michelberger, W. Frey, F. Attmann, L. Stukenbrock, et G. Müller, « Research on Industrial-Scale Electroporation Devices Fostering the Extraction of Substances from Biological Tissue », *Food Eng. Rev.*, vol. 2, n° 2, p. 147-156, mars 2010.
- [63] « Electroporation-Based Technologies and Treatments | SpringerLink ». [En ligne]. Disponible sur: <http://link.springer.com/article/10.1007/s00232-010-9287-9>. [Consulté le: 21-sept-2016].
- [64] T. B. Napotnik, Y.-H. Wu, M. A. Gundersen, D. Miklavčič, et P. T. Vernier, « Nanosecond electric pulses cause mitochondrial membrane permeabilization in Jurkat cells », *Bioelectromagnetics*, vol. 33, n° 3, p. 257-264, avr. 2012.
- [65] B. L. Ibey, S. Xiao, K. H. Schoenbach, M. R. Murphy, et A. G. Pakhomov, « Plasma membrane permeabilization by 60- and 600-ns electric pulses is determined by the absorbed dose », *Bioelectromagnetics*, vol. 30, n° 2, p. 92-99, févr. 2009.



- [66] A. G. Pakhomov, R. Shevin, J. A. White, J. F. Kolb, O. N. Pakhomova, R. P. Joshi, et K. H. Schoenbach, « Membrane permeabilization and cell damage by ultrashort electric field shocks », *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 465, n° 1, p. 109-118, sept. 2007.
- [67] P. T. Vernier, Y. Sun, L. Marcu, S. Salemi, C. M. Craft, et M. A. Gundersen, « Calcium bursts induced by nanosecond electric pulses », *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 310, n° 2, p. 286-295, oct. 2003.
- [68] P. T. Vernier, Y. Sun, L. Marcu, C. M. Craft, et M. A. Gundersen, « Nanosecond pulsed electric fields perturb membrane phospholipids in T lymphoblasts », *FEBS Lett.*, vol. 572, n° 1-3, p. 103-108, août 2004.
- [69] J. F. R. Kerr, A. H. Wyllie, et A. R. Currie, « Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon with Wide-ranging Implications in Tissue Kinetics », *Br. J. Cancer*, vol. 26, n° 4, p. 239-257, août 1972.
- [70] R. Nuccitelli, U. Pliquett, X. Chen, W. Ford, R. J. Swanson, S. J. Beebe, J. F. Kolb, et K. H. Schoenbach, « Nanosecond pulsed electric fields cause melanomas to self-destruct », *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 343, n° 2, p. 351-360, mai 2006.
- [71] S. J. Beebe, P. M. Fox, L. J. Rec, K. Somers, R. H. Stark, et K. H. Schoenbach, « Nanosecond pulsed electric field (nsPEF) effects on cells and tissues: apoptosis induction and tumor growth inhibition », in *Pulsed Power Plasma Science, 2001. PPPS-2001. Digest of Technical Papers, 2001*, vol. 1, p. 211-215 vol.1.
- [72] S. Perni, P. R. Chalise, G. Shama, et M. G. Kong, « Bacterial cells exposed to nanosecond pulsed electric fields show lethal and sublethal effects », *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 120, n° 3, p. 311-314, déc. 2007.
- [73] M. Kuang, M. D. Lu, X. Y. Xie, H. X. Xu, L. Q. Mo, G. J. Liu, Z. F. Xu, Y. L. Zheng, et J. Y. Liang, « Liver Cancer: Increased Microwave Delivery to Ablation Zone with Cooled-Shaft Antenna—Experimental and Clinical Studies », *Radiology*, vol. 242, n° 3, p. 914-924, mars 2007.
- [74] Y. Wang, Y. Sun, L. Feng, Y. Gao, X. Ni, et P. Liang, « Internally cooled antenna for microwave ablation: results in ex vivo and in vivo porcine livers », *Eur. J. Radiol.*, vol. 67, n° 2, p. 357-361, août 2008.
- [75] J. M. Bertram, D. Yang, M. C. Converse, J. G. Webster, et D. M. Mahvi, « Antenna design for microwave hepatic ablation using an axisymmetric electromagnetic model », *Biomed. Eng. OnLine*, vol. 5, p. 15, 2006.
- [76] K. Ito, K. Saito, H. Yoshimura, Y. Aoyagi, et H. Horita, « Coaxial-slot antenna for interstitial microwave thermal therapy and its application to clinical trial », in *26th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2004. IEMBS '04, 2004*, vol. 1, p. 2526-2529.
- [77] J. C. Lin et Y.-J. Wang, « The cap-choke catheter antenna for microwave ablation treatment », *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 43, n° 6, p. 657-660, juin 1996.



- [78] R. D. Nevels, G. D. Arndt, G. W. Raffoul, J. R. Carl, et A. Pacifico, « Microwave catheter design », *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 45, n° 7, p. 885-890, juill. 1998.
- [79] S. Pisa, M. Cavagnaro, P. Bernardi, et J. C. Lin, « A 915-MHz antenna for microwave thermal ablation treatment: physical design, computer modeling and experimental measurement », *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 48, n° 5, p. 599-601, mai 2001.
- [80] A. U. Hines-Peralta, N. Pirani, P. Clegg, N. Cronin, T. P. Ryan, Z. Liu, et S. N. Goldberg, « Microwave Ablation: Results with a 2.45-GHz Applicator in ex Vivo Bovine and in Vivo Porcine Liver », *Radiology*, vol. 239, n° 1, p. 94-102, avr. 2006.
- [81] H. Itakura, K. Saito, M. Takahashi, et K. Ito, « Evaluation of heating characteristics of microwave thermal therapy using biliary stent fed by coaxial probe », in *2012 International Symposium on Antennas and Propagation (ISAP)*, 2012, p. 729-732.
- [82] K. Saito, K. Tsubouchi, M. Takahashi, et K. Ito, « Thin microwave antenna for intracavitary heating of bile duct carcinoma #x2014; Experimental evaluations on performances of antenna using a swine », in *General Assembly and Scientific Symposium, 2011 XXXth URSI*, 2011, p. 1-4.
- [83] A. Karampatzakis, S. Kühn, G. Tsanidis, E. Neufeld, T. Samaras, et N. Kuster, « Antenna design and tissue parameters considerations for an improved modelling of microwave ablation in the liver », *Phys. Med. Biol.*, vol. 58, n° 10, p. 3191, 2013.
- [84] K. Saito, S. Hosaka, S. Okabe, H. Yoshimura, et K. Ito, « A proposition on improvement of a heating pattern of an antenna for microwave coagulation therapy: Introduction of a coaxial-dipole antenna », *Electron. Commun. Jpn. Part Commun.*, vol. 86, n° 1, p. 16-23, janv. 2003.
- [85] P. Keangin, P. Rattanadecho, et T. Wessapan, « An analysis of heat transfer in liver tissue during microwave ablation using single and double slot antenna », *Int. Commun. Heat Mass Transf.*, vol. 38, n° 6, p. 757-766, juill. 2011.
- [86] C. L. Brace, « Dual-slot antennas for microwave tissue heating: parametric design analysis and experimental validation », *Med. Phys.*, vol. 38, n° 7, p. 4232-4240, juill. 2011.
- [87] K. Saito, Y. Hayashi, H. Yoshimura, et K. Ito, « Heating characteristics of array applicator composed of two coaxial-slot antennas for microwave coagulation therapy », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 48, n° 11, p. 1800-1806, nov. 2000.
- [88] C. L. Brace, P. F. Laeseke, L. A. Sampson, T. M. Frey, D. W. van der Weide, et F. T. Lee, « Microwave Ablation with a Single Small-Gauge Triaxial Antenna: In Vivo Porcine Liver Model », *Radiology*, vol. 242, n° 2, p. 435-440, févr. 2007.
- [89] I. Longo, G. B. Gentili, M. Cerretelli, et N. Tosoratti, « A coaxial antenna with miniaturized choke for minimally invasive interstitial heating », *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 50, n° 1, p. 82-88, janv. 2003.
- [90] C. Icheln, J. Krogerus, et P. Vainikainen, « Use of balun chokes in small-antenna radiation measurements », *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 53, n° 2, p. 498-506, avr. 2004.



- [91] K. Ito, M. Hyodo, M. Shimura, et H. Kasai, « Thin applicator having coaxial ring slots for interstitial microwave hyperthermia », in Antennas and Propagation Society International Symposium, 1990. AP-S. Merging Technologies for the 90's. Digest., 1990, p. 1233-1236 vol.3.
- [92] « WHO | The International EMF Project », WHO. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.who.int/peh-emf/project/en/>. [Consulté le: 21-sept-2016].
- [93] N. Kuster et F. Schönborn, « Recommended minimal requirements and development guidelines for exposure setups of bio-experiments addressing the health risk concern of wireless communications », Bioelectromagnetics, vol. 21, n° 7, p. 508-514, oct. 2000.
- [94] « Scientific report: Workshop on EMF health risk research lessons learned and recommendations for the future ». [En ligne]. Disponible sur: http://www.academia.edu/12014793/Scientific_report_Workshop_on_EMF_health_risk_research_lessons_learned_and_recommendations_for_the_future. [Consulté le: 13-juill-2016].
- [95] « Designing EMF experiments: What is required to characterize “exposure”? - Valberg - 2005 - Bioelectromagnetics - Wiley Online Library ». [En ligne]. Disponible sur: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bem.2250160608/pdf>. [Consulté le: 13-juill-2016].
- [96] N. Kuster et Q. Balzano, « Experimental and numerical dosimetry », in Mobile Communications Safety, N. Kuster, Q. Balzano, et J. C. Lin, Éd. Springer US, 1997, p. 13-64.
- [97] « Dosimetric Needs for Laboratory and Epidemiological Research in Non-thermal Effects of RF Electromagnetic Fields » IT'IS Foundation ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.itis.ethz.ch/news-events/news/publications/books-reviews/dosimetric-needs-for-laboratory-and-epidemiological-research-in-non-thermal-effects-of-rf-electromagnetic-fields/#current>. [Consulté le: 13-juill-2016].
- [98] F. Schönborn, K. Poković, A. M. Wobus, et N. Kuster, « Design, optimization, realization, and analysis of an in vitro system for the exposure of embryonic stem cells at 1.71 GHz », Bioelectromagnetics, vol. 21, n° 5, p. 372-384, juill. 2000.
- [99] « Notions concernant les paramètres S ». [En ligne]. Disponible sur: http://florentportelatine.perso.sfr.fr/electronique/hf/parametres_s.html. [Consulté le: 08-sept-2016].
- [100] A. Paffi, F. Apollonio, G. A. Lovisolo, C. Marino, et M. Liberti, « Exposure systems for bioelectromagnetic investigations in the radiofrequency range: Classification and emerging trends », in ResearchGate, 2011, p. 3159-3163.
- [101] A. w. Guy, C. k. Chou, et J. a. McDougall, « A quarter century of in vitro research: A new look at exposure methods », Bioelectromagnetics, vol. 20, n° S4, p. 21-39, janv. 1999.
- [102] H. B. Lim, G. G. Cook, A. T. Barker, et L. A. Coulton, « FDTD design of RF dosimetry apparatus to quantify the effects of near fields from mobile handsets on stress response mechanisms of human whole blood », Int. J. Numer. Model. Electron. Netw. Devices Fields, vol. 15, n° 5-6, p. 563-577, sept. 2002.



- [103] A. B. Desta, R. D. Owen, et L. W. Cress, « Non-thermal exposure to radiofrequency energy from digital wireless phones does not affect ornithine decarboxylase activity in L929 cells », *Radiat. Res.*, vol. 160, n° 4, p. 488-491, oct. 2003.
- [104] O. Zeni, A. S. Chiavoni, A. Sannino, A. Antolini, D. Forigo, F. Bersani, et M. R. Scarfì, « Lack of Genotoxic Effects (Micronucleus Induction) in Human Lymphocytes Exposed In Vitro to 900 MHz Electromagnetic Fields », *Radiat. Res.*, vol. 160, n° 2, p. 152-158, août 2003.
- [105] M. Capri, E. Scarcella, C. Fumelli, E. Bianchi, S. Salvioli, P. Mesirca, C. Agostini, A. Antolini, A. Schiavoni, G. Castellani, F. Bersani, et C. Franceschi, « In vitro exposure of human lymphocytes to 900 MHz CW and GSM modulated radiofrequency: studies of proliferation, apoptosis and mitochondrial membrane potential », *Radiat. Res.*, vol. 162, n° 2, p. 211-218, août 2004.
- [106] R. Sarimov, L. O. G. Malmgren, E. Markova, B. R. R. Persson, et I. Y. Belyaev, « Nonthermal GSM microwaves affect chromatin conformation in human lymphocytes similar to heat shock », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 32, n° 4, p. 1600-1608, août 2004.
- [107] N. Nikoloski, J. Fröhlich, T. Samaras, J. Schuderer, et N. Kuster, « Reevaluation and improved design of the TEM cell in vitro exposure unit for replication studies », *Bioelectromagnetics*, vol. 26, n° 3, p. 215-224, avr. 2005.
- [108] H. B. Lim, G. G. Cook, A. T. Barker, et L. A. Coulton, « Effect of 900 MHz Electromagnetic Fields on Nonthermal Induction of Heat-Shock Proteins in Human Leukocytes », *Radiat. Res.*, vol. 163, n° 1, p. 45-52, 2005.
- [109] G. Del Vecchio, A. Giuliani, M. Fernandez, P. Mesirca, F. Bersani, R. Pinto, L. Ardoino, G. A. Lovisolo, L. Giardino, et L. Calzà, « Effect of radiofrequency electromagnetic field exposure on in vitro models of neurodegenerative disease », *Bioelectromagnetics*, vol. 30, n° 7, p. 564-572, oct. 2009.
- [110] G. Sajin, E. Kovacs, R. P. Moraru, T. Savopol, et M. Sajin, « Cell membrane permeabilization of human erythrocytes by athermal 2450-MHz microwave radiation », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 48, n° 11, p. 2072-2075, nov. 2000.
- [111] A. Schirmacher, S. Winters, S. Fischer, J. Goeke, H.-J. Galla, U. Kullnick, E. B. Ringelstein, et F. Stögbauer, « Electromagnetic fields (1.8 GHz) increase the permeability to sucrose of the blood-brain barrier in vitro », *Bioelectromagnetics*, vol. 21, n° 5, p. 338-345, juill. 2000.
- [112] E. Bismuto, F. Mancinelli, G. d'Ambrosio, et R. Massa, « Are the conformational dynamics and the ligand binding properties of myoglobin affected by exposure to microwave radiation? », *Eur. Biophys. J.*, vol. 32, n° 7, p. 628-634, juin 2003.
- [113] A. Markkanen, P. Penttinen, J. Naarala, J. Pelkonen, A.-P. Sihvonen, et J. Juutilainen, « Apoptosis induced by ultraviolet radiation is enhanced by amplitude modulated radiofrequency radiation in mutant yeast cells », *Bioelectromagnetics*, vol. 25, n° 2, p. 127-133, févr. 2004.



- [114] O. Zeni, M. Romanò, A. Perrotta, M. b. Lioi, R. Barbieri, G. d'Ambrosio, R. Massa, et M. r. Scarfi, « Evaluation of genotoxic effects in human peripheral blood leukocytes following an acute in vitro exposure to 900 MHz radiofrequency fields », *Bioelectromagnetics*, vol. 26, n° 4, p. 258-265, mai 2005.
- [115] H. L. Gerber, A. Bassi, M. H. Khalid, C. Q. Zhou, S. M. Wang, et C. C. Tseng, « Analytical and Experimental Dosimetry of a Cell Culture in T-25 Flask Housed in a Thermally Controlled Waveguide », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 34, n° 4, p. 1449-1454, août 2006.
- [116] Y. Takashima, H. Hirose, S. Koyama, Y. Suzuki, M. Taki, et J. Miyakoshi, « Effects of continuous and intermittent exposure to RF fields with a wide range of SARs on cell growth, survival, and cell cycle distribution », *Bioelectromagnetics*, vol. 27, n° 5, p. 392-400, juill. 2006.
- [117] G. De Prisco, G. d'Ambrosio, M. L. Calabrese, R. Massa, et J. Juutilainen, « SAR and efficiency evaluation of a 900 MHz waveguide chamber for cell exposure », *Bioelectromagnetics*, vol. 29, n° 6, p. 429-438, sept. 2008.
- [118] J. Schuderer, D. Spat, T. Samaras, W. Oesch, et N. Kuster, « In vitro exposure systems for RF exposures at 900 MHz », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 52, n° 8, p. 2067-2075, août 2004.
- [119] J. Schuderer, T. Samaras, W. Oesch, D. Spat, et N. Kuster, « High peak SAR exposure unit with tight exposure and environmental control for in vitro experiments at 1800 MHz », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 52, n° 8, p. 2057-2066, août 2004.
- [120] M. L. Calabrese, G. d'Ambrosio, R. Massa, et G. Petraglia, « A high-efficiency waveguide applicator for in vitro exposure of mammalian cells at 1.95 GHz », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 54, n° 5, p. 2256-2264, mai 2006.
- [121] J. X. Zhao, « Numerical dosimetry for cells under millimetre-wave irradiation using Petri dish exposure set-ups », *Phys. Med. Biol.*, vol. 50, n° 14, p. 3405, 2005.
- [122] T. Iyama, H. Ebara, Y. Tarusawa, S. Uebayashi, M. Sekijima, T. Nojima, et J. Miyakoshi, « Large scale in vitro experiment system for 2 GHz exposure », *Bioelectromagnetics*, vol. 25, n° 8, p. 599-606, déc. 2004.
- [123] R. Araneo et S. Celozzi, « Design of a Microstrip Antenna Setup for Bio-Experiments on Exposure to High-Frequency Electromagnetic Field », *IEEE Trans. Electromagn. Compat.*, vol. 48, n° 4, p. 792-804, nov. 2006.
- [124] K. w. Linz, C. von Westphalen, J. Streckert, V. Hansen, et R. Meyer, « Membrane potential and currents of isolated heart muscle cells exposed to pulsed radio frequency fields », *Bioelectromagnetics*, vol. 20, n° 8, p. 497-511, déc. 1999.
- [125] M. Liberti, F. Apollonio, A. Paffi, M. Pellegrino, et G. D'Inzeo, « A coplanar-waveguide system for cells exposure during electrophysiological recordings », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 52, n° 11, p. 2521-2528, nov. 2004.



- [126] A. Paffi, M. Pellegrino, R. Beccherelli, F. Apollonio, M. Liberti, D. Platano, G. Aicardi, et G. D'Inzeo, « A Real-Time Exposure System for Electrophysiological Recording in Brain Slices », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 55, n° 11, p. 2463-2471, nov. 2007.
- [127] A. Paffi, F. Apollonio, G. A. Lovisolo, C. Marino, R. Pinto, M. Repacholi, et M. Liberti, « Considerations for Developing an RF Exposure System: A Review for in vitro Biological Experiments », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 58, n° 10, p. 2702-2714, oct. 2010.
- [128] C. P. Wen, « Coplanar Waveguide: A Surface Strip Transmission Line Suitable for Nonreciprocal Gyromagnetic Device Applications », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 17, n° 12, p. 1087-1090, déc. 1969.
- [129] M. L. Crawford, « Generation of Standard EM Fields Using TEM Transmission Cells », *IEEE Trans. Electromagn. Compat.*, vol. EMC-16, n° 4, p. 189-195, nov. 1974.
- [130] « J1752/3: Measurement of Radiated Emissions from Integrated Circuits -- TEM/Wideband TEM (GTEM) Cell Method; TEM Cell (150 kHz to 1 GHz), Wideband TEM Cell (150 kHz to 8 GHz) - SAE International ». [En ligne]. Disponible sur: http://standards.sae.org/j1752/3_201106/. [Consulté le: 15-juill-2016].
- [131] C. Merla, N. Ticaud, D. Arnaud-Cormos, B. Veyret, et P. Leveque, « Real-Time RF Exposure Setup Based on a Multiple Electrode Array (MEA) for Electrophysiological Recording of Neuronal Networks », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 59, n° 3, p. 755-762, mars 2011.
- [132] R. P. O'Connor, S. D. Madison, P. Leveque, H. L. Roderick, et M. D. Bootman, « Exposure to GSM RF Fields Does Not Affect Calcium Homeostasis in Human Endothelial Cells, Rat Pheochromocytoma Cells or Rat Hippocampal Neurons », *PLoS ONE*, vol. 5, n° 7, p. e11828, juill. 2010.
- [133] S. Wolke, U. Neibig, R. Elsner, F. Gollnick, et R. Meyer, « Calcium homeostasis of isolated heart muscle cells exposed to pulsed high-frequency electromagnetic fields », *Bioelectromagnetics*, vol. 17, n° 2, p. 144-153, 1996.
- [134] S. J. Beebe, P. M. Fox, L. J. Rec, E. L. K. Willis, et K. H. Schoenbach, « Nanosecond, high-intensity pulsed electric fields induce apoptosis in human cells », *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, vol. 17, n° 11, p. 1493-1495, août 2003.
- [135] A. Agarwal, I. Zudans, E. A. Weber, J. Olofsson, O. Orwar, et S. G. Weber, « Effect of cell size and shape on single-cell electroporation », *Anal. Chem.*, vol. 79, n° 10, p. 3589-3596, mai 2007.
- [136] K. H. Schoenbach, R. P. Joshi, J. F. Kolb, N. Chen, M. Stacey, P. F. Blackmore, E. S. Buescher, et S. J. Beebe, « Ultrashort electrical pulses open a new gateway into biological cells », *Proc. IEEE*, vol. 92, n° 7, p. 1122-1137, juill. 2004.
- [137] W. Frey, J. A. White, R. O. Price, P. F. Blackmore, R. P. Joshi, R. Nuccitelli, S. J. Beebe, K. H. Schoenbach, et J. F. Kolb, « Plasma membrane voltage changes during nanosecond pulsed electric field exposure », *Biophys. J.*, vol. 90, n° 10, p. 3608-3615, mai 2006.



- [138] S. E. Amari, M. Kenaan, C. Merla, B. Vergne, D. Arnaud-Cormos, P. Leveque, et V. Couderc, « Kilovolt, Nanosecond, and Picosecond Electric Pulse Shaping by Using Optoelectronic Switching », *IEEE Photonics Technol. Lett.*, vol. 22, n° 21, p. 1577-1579, nov. 2010.
- [139] M. Kenaan, S. El Amari, A. Silve, C. Merla, L. M. Mir, V. Couderc, D. Arnaud-Cormos, et P. Leveque, « Characterization of a 50- Ω exposure setup for high-voltage nanosecond pulsed electric field bioexperiments », *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 58, n° 1, p. 207-214, janv. 2011.
- [140] C. Merla, S. E. Amari, M. Kenaan, M. Liberti, F. Apollonio, D. Arnaud-Cormos, V. Couderc, et P. Leveque, « A 10- High-Voltage Nanosecond Pulse Generator », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 58, n° 12, p. 4079-4085, déc. 2010.
- [141] C. Merla, S. El-Amari, F. Danei, M. Liberti, F. Apollonio, D. Arnaud-Cormos, V. Couderc, et P. Leveque, « Microstrip-based nanosecond pulse generators: Numerical and circuit modeling », in *Microwave Symposium Digest (MTT)*, 2010 IEEE MTT-S International, 2010, p. 101-104.
- [142] S. E. AMARI, « Développement et caractérisation de générateur optoélectronique d'impulsions de champ électrique nanoseconde et subnanoseconde de forte intensité : application au domaine biomédical », thesis, Université de Limoges.
- [143] M. R. Prausnitz, « A practical assessment of transdermal drug delivery by skin electroporation », *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 35, n° 1, p. 61-76, janv. 1999.
- [144] M. Rebersek, D. Miklavcic, C. Bertacchini, et M. Sack, « Cell membrane electroporation-Part 3: the equipment », *IEEE Electr. Insul. Mag.*, vol. 30, n° 3, p. 8-18, mai 2014.
- [145] J. F. Kolb, S. Kono, et K. H. Schoenbach, « Nanosecond pulsed electric field generators for the study of subcellular effects », *Bioelectromagnetics*, vol. 27, n° 3, p. 172-187, avr. 2006.
- [146] M. Behrend, A. Kuthi, X. Gu, P. T. Vernier, L. Marcu, C. M. Craft, et M. A. Gundersen, « Pulse generators for pulsed electric field exposure of biological cells and tissues », *IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul.*, vol. 10, n° 5, p. 820-825, oct. 2003.
- [147] M.-T. Chen, C. Jiang, P. T. Vernier, Y.-H. Wu, et M. A. Gundersen, « Two-dimensional nanosecond electric field mapping based on cell electroporation », *PMC Biophys.*, vol. 2, n° 1, p. 9, 2009.
- [148] A. G. Pakhomov, J. F. Kolb, J. A. White, R. P. Joshi, S. Xiao, et K. H. Schoenbach, « Long-lasting plasma membrane permeabilization in mammalian cells by nanosecond pulsed electric field (nsPEF) », *Bioelectromagnetics*, vol. 28, n° 8, p. 655-663, déc. 2007.
- [149] Y. H. Wu, D. Arnaud-Cormos, M. Casciola, J. M. Sanders, P. Leveque, et P. T. Vernier, « Moveable Wire Electrode Microchamber for Nanosecond Pulsed Electric-Field Delivery », *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 60, n° 2, p. 489-496, févr. 2013.



- [150] D. Arnaud-Cormos, P. Leveque, Y.-H. Wu, J. M. Sanders, M. A. Gundersen, et P. T. Vernier, « Microchamber setup characterization for nanosecond pulsed electric field exposure », *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 58, n° 6, p. 1656-1662, juin 2011.
- [151] C. Dalmay, J. Villemejeane, V. Joubert, A. Silve, D. Arnaud-Cormos, O. Français, L. M. Mir, P. Leveque, et B. Le Pioufle, « A microfluidic biochip for the nanoporation of living cells », *Biosens. Bioelectron.*, vol. 26, n° 12, p. 4649-4655, août 2011.
- [152] P. Kumar, C. E. Baum, S. Altunc, J. Buchenauer, S. Xiao, C. G. Christodoulou, E. Schamiloglu, et K. H. Schoenbach, « A Hyperband Antenna to Launch and Focus Fast High-Voltage Pulses Onto Biological Targets », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 59, n° 4, p. 1090-1101, avr. 2011.
- [153] S. Altunc, C. E. Baum, C. G. Christodoulou, E. Schamiloglu, et C. J. Buchenauer, « Focal waveforms for various source waveforms driving a prolate-spheroidal impulse radiating antenna (IRA) », *Radio Sci.*, vol. 43, n° 4, p. RS4S13, août 2008.
- [154] S. Kohler, T. D. T. Vu, P. T. Vernier, P. Leveque, et D. Arnaud-Cormos, « Characterization of a TEM cell-based setup for the exposure of biological cell suspensions to high-intensity nanosecond pulsed electric fields (nsPEFs) », in *Microwave Symposium Digest (MTT)*, 2012 IEEE MTT-S International, 2012, p. 1-3.
- [155] C. L. Brace, P. F. Laeseke, D. W. van der Weide, et F. T. Lee, « Microwave Ablation With a Triaxial Antenna: Results in ex vivo Bovine Liver », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 53, n° 1, p. 215-220, janv. 2005.
- [156] Q. Balzano, C. Chou, R. Cicchetti, A. Faraone, et R. Y. S. Tay, « An efficient RF exposure system with precise whole-body average SAR determination for in vivo animal studies at 900 MHz », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 48, n° 11, p. 2040-2049, nov. 2000.
- [157] A. Paffi, C. Merla, R. Pinto, G. A. Lovisolo, M. Liberti, C. Marino, M. Repacholi, et F. Apollonio, « Microwave Exposure Systems for In Vivo Biological Experiments: A Systematic Review », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 61, n° 5, p. 1980-1993, mai 2013.
- [158] « Définition | Microscope inversé | Futura Santé ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-microscope-inverse-7804/>. [Consulté le: 15-sept-2016].
- [159] A. Paffi, M. Liberti, F. Fratta, F. Apollonio, C. Merla, R. Pinto, et G. Lovisolo, « A TEM cell system for in vivo exposure at 2.45 GHz », in *2012 6th European Conference on Antennas and Propagation (EUCAP)*, 2012, p. 1099-1101.
- [160] J. X. Zhao, H. Lu, et J. Deng, « DOSIMETRY AND TEMPERATURE EVALUATIONS OF A 1800 MHz TEM CELL FOR IN VITRO EXPOSURE WITH STANDING WAVES », *Prog. Electromagn. Res.*, vol. 124, p. 487-510, 2012.



- [161]** C. Iftode et S. Miclaus, « DESIGN AND VALIDATION OF A TEM CELL USED FOR RADIOFREQUENCY DOSIMETRIC STUDIES », *Prog. Electromagn. Res.*, vol. 132, p. 369-388, 2012.
- [162]** S. Kohler, R. P. O'Connor, T. D. T. Vu, P. Leveque, et D. Arnaud-Cormos, « Experimental Microdosimetry Techniques for Biological Cells Exposed to Nanosecond Pulsed Electric Fields Using Microfluorimetry », *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 61, n° 5, p. 2015-2022, mai 2013.
- [163]** T. Yasin, R. Baktur, et C. Furse, « A comparative study on two types of transparent patch antennas », in *General Assembly and Scientific Symposium, 2011 XXXth URSI*, 2011, p. 1-4.
- [164]** D. Moretti, A. Garenne, E. Haro, F. Poullietier de Gannes, I. Lagroye, P. Lévêque, B. Veyret, et N. Lewis, « In-vitro exposure of neuronal networks to the GSM-1800 signal », *Bioelectromagnetics*, vol. 34, n° 8, p. 571-578, déc. 2013.
- [165]** M. G. Moisescu, P. Leveque, J.-R. Bertrand, E. Kovacs, et L. M. Mir, « Microscopic observation of living cells during their exposure to modulated electromagnetic fields », *Bioelectrochemistry*, vol. 74, n° 1, p. 9-15, nov. 2008.
- [166]** S. Kohler, N. Ticaud, M.-M. Iordache, M. G. Moisescu, T. Savopol, P. Leveque, et D. Arnaud-Cormos, « SETUP FOR SIMULTANEOUS MICROWAVE HEATING AND REAL-TIME SPECTROFLUOROMETRIC MEASUREMENTS IN BIOLOGICAL SYSTEMS », *Prog. Electromagn. Res.*, vol. 145, p. 229-240, 2014.
- [167]** S. Kohler, P. Jarrige, N. Ticaud, R. P. O'Connor, L. Duvillaret, G. Gaborit, D. Arnaud-Cormos, et P. Leveque, « Simultaneous High Intensity Ultrashort Pulsed Electric Field and Temperature Measurements Using a Unique Electro-Optic Probe », *IEEE Microw. Wirel. Compon. Lett.*, vol. 22, n° 3, p. 153-155, mars 2012.
- [168]** C. G. Granqvist et A. Hultåker, « Transparent and conducting ITO films: new developments and applications », *Thin Solid Films*, vol. 411, n° 1, p. 1-5, mai 2002.
- [169]** H. Sato, H. Fujikake, T. Murashige, H. Kikuchi, T. Kurita, et F. Sato, « A4-sized flexible ferroelectric liquid-crystal displays with micro color filters », *J. Soc. Inf. Disp.*, vol. 13, n° 6, p. 461-468, juin 2005.
- [170]** S. Beaupré, J. Dumas, et M. Leclerc, « Toward the Development of New Textile/Plastic Electrochromic Cells Using Triphenylamine-Based Copolymers. », *Chem. Mater.*, vol. 18, n° 19, p. 4706-4706, sept. 2006.
- [171]** L. Zhao, Z. Zhou, H. Peng, et R. Cui, « Indium tin oxide thin films by bias magnetron rf sputtering for heterojunction solar cells application », *Appl. Surf. Sci.*, vol. 252, n° 2, p. 385-392, oct. 2005.
- [172]** M. Bourry, M. Sarret, et M. Drissi, « Novel ITO alloy for microwave and optical applications », in *48th Midwest Symposium on Circuits and Systems*, 2005., 2005, p. 615-618 Vol. 1.



- [173] C. T. Lee, C. M. Lee, et C. H. Luo, « The Transparent Monopole Antenna for WCDMA and WLAN », in 2006 IEEE Annual Wireless and Microwave Technology Conference, 2006, p. 1-3.
- [174] P. Prajuabwan, S. Porntheeraphat, A. Klamchuen, et J. Nukeaw, « ITO Thin Films prepared by Gas-Timing RF Magnetron Sputtering for Transparent Flexible Antenna », in 2007 2nd IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, 2007, p. 647-650.
- [175] F. Colombel, X. Castel, M. Himdi, G. Legeay, S. Vigneron, et E. M. Cruz, « Ultrathin metal layer, ITO film and ITO/Cu/ITO multilayer towards transparent antenna », IET Sci. Meas. Technol., vol. 3, n° 3, p. 229-234, mai 2009.
- [176] N. Neveu, M. Garcia, J. Casana, R. Dettloff, D. R. Jackson, et J. Chen, « Transparent microstrip antennas for CubeSat applications », in 2013 IEEE International Conference on Wireless for Space and Extreme Environments (WiSEE), 2013, p. 1-4.
- [177] T. Yasin, R. Baktur, et C. Furse, « A study on the efficiency of transparent patch antennas designed from conductive oxide films », in 2011 IEEE International Symposium on Antennas and Propagation (APSURSI), 2011, p. 3085-3087.
- [178] M. Soueid, S. Kohler, L. Carr, S. M. Bardet, R. P. O'Connor, P. Lévêque, et D. Arnaud-Cormos, « Electromagnetic analysis of an aperture modified TEM cell including an ITO layer for real-time observation of biological cells exposed to microwaves », Prog. Electromagn. Res., vol. 149, p. 193-204, 2014.
- [179] H. Yang et S. Lee, « A variational calculation for higher order mode cutoff frequencies of a symmetrical strip line by conformal mapping », Microw. Opt. Technol. Lett., vol. 32, n° 6, p. 449-452, mars 2002.
- [180] S. Tsitsos, A. A. P. Gibson, et A. H. I. McCormick, « Higher order modes in coupled striplines: prediction and measurement », IEEE Trans. Microw. Theory Tech., vol. 42, n° 11, p. 2071-2077, nov. 1994.
- [181] S. KOHLER, « Contribution au développement et à la dosimétrie multi-échelles de dispositifs pour l'exposition de cellules biologiques à des impulsions électriques nanosecondes et subnanosecondes de haute intensité », thesis, Université de Limoges.
- [182] M. Clemens et T. Weil, « Discrete Electromagnetism with the Finite Integration Technique », Prog. Electromagn. Res., vol. 32, p. 65-87, 2001.
- [183] S. KOHLER, « Contribution au développement et à la dosimétrie multi-échelles de dispositifs pour l'exposition de cellules biologiques à des impulsions électriques nanosecondes et subnanosecondes de haute intensité », thesis, Université de Limoges.





Contribution au développement et à la caractérisation d'applicateurs pour les études bioélectromagnétiques portant sur les ondes radiofréquences et les impulsions électriques nanosecondes de haute intensité

Résumé : Dans cette thèse, nous proposons et étudions des systèmes d'exposition en vue d'explorer les effets biologiques sanitaire et thérapeutique des ondes électromagnétiques sur le vivant. Nous proposons une antenne micro-onde pour l'ablation thermique des tumeurs cancéreuses du foie à 2.45 GHz. Son originalité réside en ses dimensions miniatures et la possibilité de l'insérer dans le foie par voie endoscopique. Pour cette antenne, un débit d'absorption spécifique (DAS) supérieur à 50 W/kg/W_{inc} a montré une zone exposée de 1-cm de diamètre. Nous proposons ensuite une cellule transverse électromagnétique (TEM) avec une ouverture fermée par un matériau transparent conducteur l'Indium tin oxyde (ITO). Cette cellule TEM peut être utilisée pour évaluer les effets sanitaires potentiels des signaux de télécommunications sans fils. Ce système permet l'observation microscopique en temps réel du milieu biologique exposé, à travers son ouverture fermée par l'ITO. L'influence de la présence de l'ouverture et de la couche d'ITO sur le DAS dans le milieu exposé a été évaluée. Les valeurs du DAS obtenues à 1.8 GHz dans le milieu exposé dans la cellule TEM avec l'ouverture fermée ou non par l'ITO étaient de 1.1 W/kg/W_{inc} et 23.6 W/kg/W_{inc}, respectivement. Une excellence homogénéité du DAS a été obtenue dans le milieu en présence de l'ITO. Enfin, nous proposons plusieurs dispositifs spécifiques pour l'exposition des cellules biologiques aux champs électriques pulsés nanosecondes de haute intensité (nsPEFs). Les effets biologiques des nsPEFs sont utilisés pour des applications dans le domaine médical et en biotechnologie. Nous proposons deux dispositifs à électrodes en contact direct avec le milieu biologique et trois dispositifs à électrodes isolées. Nous démontrons l'adaptation de ces dispositifs aux impulsions courtes de durée 3-ns et la capacité de ceux à électrodes en contact à fournir des champs intenses de l'ordre de quelques MV/m. Nous illustrons aussi l'importance des dispositifs isolés pour délivrer des impulsions ultracourtes.

Mots-clés : Bioélectromagnétisme, hyperthermie, champs électriques pulsés nanosecondes (nsPEFs), système d'exposition, électroporation.

Contribution to the development and characterization of delivery devices for bioelectromagnetic studies on radiofrequency waves and intense nanosecond pulsed electric fields

Abstract : In this thesis, we propose and study exposure systems to explore healthy and therapeutic biological effects of EM signals. We propose a microwave antenna for thermal ablation of liver tumors at 2.45 GHz. Its original feature consists in its reduced dimensions that permits the endoscopic insertion in the zone to be treated. For this antenna, a specific absorption rate (SAR) greater than 50 W/kg/W_{inc} showed an exposed zone of 1-cm diameter. We propose a transverse electromagnetic cell (TEM) with an aperture sealed with a transparent conducting material Indium tin oxide (ITO). This TEM cell can be used to study the potential effects of wireless communication systems on biological cells. This delivery device allows real-time observation of biological cells during exposure across the aperture sealed with ITO. The effect of the aperture and the ITO layer presence on the SAR in the exposed sample was evaluated. The SAR values obtained at 1.8 GHz in the sample exposed in the TEM cell with the sealed or non-sealed aperture of 20-mm diameter were 1.1 W/kg/W_{inc} and 23.6 W/kg/W_{inc}, respectively. An excellent homogeneity of SAR was achieved in the medium in the presence of ITO. Finally, we propose several devices for the exposure of biological medium to nanosecond pulsed electric field with high intensity (nsPEFs). The biological effect of nsPEFs are used in biotechnology and medicine. We propose two devices with electrodes in direct contact with the biological medium and three devices with isolated electrodes. We demonstrate their adaptation for 3-ns duration pulses and the suitability of those with electrodes in contact with the biological medium to provide high intensities fields in the order of several MV/m. We demonstrate the importance of the isolated devices for delivering ultrashort pulses.

Keywords : Bioelectromagnetism, hyperthermia, nanosecond pulsed electric fields (nsPEFs), exposure system, electroporation.

