

Introduction générale

1

Chapitre I : Etat de l'art

Introduction

I. Les fonctions rénales	9
I.1. L'excrétion des déchets.	9
I.2. La structure des reins.	10
I.2.1. Le néphron : unité fonctionnelle.	11
I.2.2. La filtration glomérulaire.	11
I.3. Conséquence de la perte des fonctions rénales.	12
I.3.1. Conséquence de la perte des fonctions d'excrétion du métabolisme azoté.	12
I.3.2. Conséquence de la perte des fonctions de régulation hydro-électrolytique.	13
I.3.3. Conséquence de la perte des fonctions endocrines et des fonctions du métabolisme phosphocalcique.	14
I.4. Critère de décision de l'hémodialyse.	15
II. Principes physico-chimiques de l'hémodialyse	15
II.1. Description du système.	15
II.2. Surveillance du patient hémodialysé.	17
II.2.1. Surveillance lors d'une séance.	17
II.2.2. Surveillance à long terme de l'hémodialyse.	18
III. Contexte du projet	18
III.1. Problématique du suivi de l'hémodialyse.	18
III.2. Solutions développées.	19
III.3. Développement de la société HEMODIA.	21
III.3.1. Cahier des charges.	21
III.3.2. Développement du MIMESIS et du MIMEDIA.	22
III.3.3. Projet MICROMEDIA.	24
III.4. Marché potentiel.	24
III.4.1. Evaluation qualitative des marchés.	24
III.4.2. Evaluation quantitative des marchés visés.	26
IV. Développement des capteurs chimiques à effet de champs (ChemFETs)	27
IV.1. Electrodes à ions spécifiques.	27
IV.2. Principes de fonctionnement des ChemFETs.	28
IV.3. Principe physico-chimique de détection.	29
IV.4. Détermination du potentiel chimique ψ .	30
IV.4.1. Etude de l'interface Solide-Electrolyte.	30
IV.4.2. Interface Electrolyte/Isolant/Silicium (EIS).	32
IV.5. Méthode de mesure.	35
V. Avantages et inconvénients des ChemFETs	35
V.1. Avantages des ChemFETs.	35
V.2. Inconvénients des ChemFETs et solutions proposées.	37
VI. Utilisation des ChemFETs dans le cadre de l'hémodialyse	38
VI.1. Détection des ions sodium et potassium.	38
VI.2. Détection de l'urée et de la créatinine.	40

Chapitre II : Conception et réalisation technologique des capteurs chimiques ChemFETs

Introduction	43
I. Principe de l'ISFET-REFET	44
II. Conception de l'ISFET	46
II.1. Etude théorique sur substrat de type P.	47
II.2. Cahier des charges de la structure réelle.	47
II.3. Détermination des paramètres technologiques et simulations.	48
II.3.1. Choix de la grille.	48
II.3.2. Détermination de la tension de seuil pour un substrat de type P.	49
II.3.3. Etude de la concentration surfacique (Na) en fonction de l'implantation.	50
II.3.4. Choix du substrat.	51
II.3.5. Optimisation des contacts P+ et N+.	52
II.3.6. Détermination des paramètres géométriques de la grille.	53
II.3.7. Tableau récapitulatif des paramètres simulés.	55
II.3.8. Simulation du procédé technologique (ATHENA™).	55
II.3.9. Simulation électrique (ATLAS™).	58
III. Description du procédé de fabrication ISFET	59
IV. Caractérisation du procédé de fabrication ISFET	72
V. Assemblage et encapsulation	74
V.1. Présentation de l'encapsulation.	74
V.2. Description des différentes étapes de l'assemblage.	74
V.2.1. Assemblage de la puce sur le circuit imprimé.	75
V.2.2. Connexions électriques.	76
V.2.3. Enrobage du capteur.	77
V.3. Résultats obtenus sur l'encapsulation.	79
VI. Réalisation des couches sensibles	80
VII. Conclusion	84

Chapitre III : Caractérisation électrique et chimique des capteurs

Introduction	88
I. Méthode de caractérisation	89
I.1. Appareils de mesures.	89
I.2. Méthode de caractérisation.	89
I.3. Préparation des solutions.	90
II. Caractérisation des MOSFET	91
II.1. Effet de la polarisation du drain.	91
II.2. Effet de la tension de commande V_{gs} .	92
II.3. Effet de la polarisation du caisson.	93
III. Caractérisation des ISFETs	94
III.1. Fonctionnement des transistors ISFETs.	94

III.2. Effet de la polarisation du caisson.	95
III.3. Effet des électrodes.	96
IV. Caractérisation chimique	98
IV.1. Sensibilité au pH.	98
IV.2. Stabilité, temps de réponse et durée de vie des capteurs.	100
IV.2.1. Temps de réponse et stabilité.	101
IV.2.2. Durée de vie.	101
IV.3. Reproductibilité des mesures.	103
IV.4. Reproductibilité du procédé technologique.	103
IV.5. Perturbations extérieures	105
IV.5.1. Effet des paramètres extérieurs.	105
IV.5.2. Effet des ions influents : sodium et potassium.	107
IV.5.3. Mesure en dynamique.	108
V. Détection enzymatique	110
V.1. Mesures effectuées par l'IFOS.	110
V.2. Mesure de l'urée.	113
V.3. Mesure de la créatinine.	116
VI. Conclusion	121
 Conclusion générale	 123
 Références Bibliographiques	 129
 Annexes	 139

Introduction générale

L'essor des biotechnologies industrielles dans le monde depuis 20 ans a accéléré le développement d'une activité fondamentale : la bioélectronique. Ces technologies mal connues sont principalement présentes dans des équipements pour l'analyse biomédicale, le contrôle et la maintenance industrielle en continu (chaînes de l'eau, etc.). De plus, en marge des équipements «classiques», la bioélectronique est en passe d'offrir des produits intégrant la biologie, les techniques informatiques et l'électronique (biopuces, ordinateurs à base de composants biologiques).

Avec les progrès considérables réalisés dans les technologies hospitalières, l'émergence des productions biotechnologiques à l'échelle industrielle (protéines pour de nombreuses applications, vitamines, vaccins, réactifs, produits biomédicaux de haute technologie) et la modernisation de pans entiers de l'industrie agro-alimentaire (boissons, plats cuisinés, panification, lait, arômes, additifs), la vente des équipements de bioélectronique a été multipliée par 50 dans le monde depuis 1990 [1]. De fait, le développement conséquent du secteur pharmaceutique et biomédical à travers la génétique appliquée, notamment pour la mise au point de médicaments, de vaccins, de produits thérapeutiques à base de protéines nouvelles, représente actuellement le marché industriel le plus important, suivi de près par les industries des enzymes produisant pour l'agro-alimentaire ou la chimie fine.

Grâce aux progrès et la complémentarité des différentes entités issues des microtechnologies, les chercheurs et industriels envisagent aujourd'hui la conception de systèmes complexes globaux, intégrant dans un espace réduit des dizaines de fonctions spécifiques. Ainsi, pourraient être envisagées des chaînes de traitement entièrement constituées de microsystèmes couvrant à la fois les parties capteur, circuits intégrés de traitement, actionneur et source d'énergie. A ce titre, le projet de recherche MICROMEDIA décrit dans cette thèse, s'inscrit dans le cadre du développement des microtechnologies pour l'amélioration des techniques d'analyses médicales et vise la mise au point de capteurs chimiques jetables pour la détection des ions H^+ , K^+ et Na^+ , de l'urée et de la créatinine.

Les capteurs chimiques ne sont rien d'autre que des instruments analytiques qui permettent de transformer la concentration d'une espèce (ions, molécules, complexes...) présente dans une phase liquide ou gazeuse en un signal analogique mesurable. Leurs principes reposent toujours

sur l'association d'un système de reconnaissance et d'un transducteur physico-chimique qui assure la conversion d'information chimique en un signal électrique. Le type de transducteur utilisé (électromagnétique, thermique, électrochimique) permet de définir différentes familles de capteurs chimiques. La famille de capteurs qui nous intéresse est la famille des capteurs électrochimiques et plus précisément les capteurs potentiométriques de type capteurs chimiques à effet de champ CHEMFETs. Selon le système de reconnaissance utilisé on parlera, d'ISFET si le capteur est sensible aux ions ou de BioFET si le détecteur est d'origine biologique (enzymes, anticorps...).

Depuis 1970, lorsque Piet Bergveld présenta pour la première fois le principe de fonctionnement de l'ISFET [2], les capteurs chimiques à effet de champ ont fait et font encore l'objet de nombreuses recherches centrées sur deux thèmes principaux : l'analyse de l'eau afin de mesurer et de contrôler les diverses pollutions des eaux de rivières ou des eaux usées, et l'analyse du sang avec un engouement plus marqué pour les applications en glycémie et en dialyse.

Bien que l'utilisation de ces capteurs présente, pour l'analyse médicale et environnementale, de nombreux avantages : faible coût de production, faible consommation électrique, taille réduite, rapidité de mesure et simplicité d'utilisation, peu d'applications ont vu le jour (hormis pour la détection du pH). L'engouement déclenché initialement par les perspectives d'applications s'est émoussé au fil du temps. Deux raisons peuvent expliquer cet échec commercial. La première raison est bien sur d'ordre économique. Le terme de faible coût, couramment employé pour décrire le principal avantage de l'ISFET n'est compatible avec la réalité industrielle que si ces capteurs sont fabriqués en très grande série (plus d'un million d'unités) avec un procédé d'assemblage innovant. La deuxième raison est liée aux inconvénients bien connus des capteurs chimiques : l'encombrement de l'électrode de référence, la stabilité des molécules, le prix et les problèmes d'immobilisation des enzymes, la sélectivité et la sensibilité des couches sensibles et les dérives temporelles liées au milieu d'utilisation. Jusqu'à présent, ces inconvénients, plus importants que les avantages, ont empêché l'émergence de ce type de capteurs, mais en modifiant le contexte scientifique et industriel, le développement des biotechnologies leur donne une nouvelle chance de réussite.

Ainsi, à l'instigation de la société HEMODIA, le projet de recherche décrit dans ce mémoire propose d'utiliser des capteurs chimiques à effet de champ ChemFETs afin d'améliorer le confort du patient hémodialysé par un suivi de la qualité de l'épuration lors d'une séance de dialyse. L'objectif final est de proposer sur le marché un dispositif de suivi de la courbe d'épuration en intégrant directement ce dispositif dans une machine d'hémodialyse ou en concevant un analyseur indépendant pouvant se connecter sur n'importe quel circuit existant.

Les travaux présentés dans ce mémoire de thèse sont ainsi consacrés à la conception, à la réalisation technologique et à la caractérisation in vitro de capteurs chimiques en vue d'une application à l'hémodialyse.

Dans le premier chapitre, nous replacerons les études dans leurs contexte général : l'apport des capteurs chimiques dans le domaine de la dialyse. Nous présenterons quelques notions élémentaires sur l'hémodialyse ainsi que la problématique liée au suivi de l'épuration. Nous passerons en revue les solutions concurrentes afin de démontrer le caractère innovant de notre système. Puis, nous expliciterons le principe de fonctionnement des capteurs utilisés.

Le deuxième chapitre sera entièrement consacré à l'étude et au développement des capteurs chimiques ChemFETs. Nous mettrons en avant la stratégie choisie, qui consiste à concevoir des capteurs génériques, dont le procédé technologique pourra être modifié sur simple demande afin de se calquer sur de nouveaux cahiers des charges. Nous présenterons tout d'abord la phase de conception des microcapteurs chimiques, puis les simulations technologiques à l'aide des logiciels de simulation ATHENA et ATLAS qui permettront la mise au point du procédé technologique. Le programme de simulation complet, ajouté en annexe de ce mémoire sera enlevé, pour des raisons de confidentialités, du rapport final. Ce procédé sera réalisé dans la centrale technologique du LAAS-CNRS, et les composants seront montés sur des circuits imprimés et encapsulés en vue d'utilisation en milieu liquide. Pour finir, nous présenterons brièvement une technique de réalisation de couches sensibles utilisant les techniques de la photolithographie développée en parallèle par Mme Marie-Laure Pourciel-Gouzy.

Le dernier chapitre présentera les caractérisations électriques effectuées sur des capteurs tests puis traitera des résultats physico-chimiques obtenus sur les ISFETs (sensibilité, sélectivité et stabilité). Ces capteurs seront ensuite adaptés à la détection enzymatique grâce à une membrane hydrophile déposée sur la partie sensible des capteurs. Ces membranes seront déposées par microgouttes et par la technique de photolithographie. Les EnFETs ainsi réalisés permettront de mesurer la créatinine et l'urée dans des solutions tampon et dans du dialysat.

Nous parachèverons ce manuscrit par un ensemble de conclusions sur les capteurs réalisés et leurs applications dans le domaine de l'hémodialyse. Nous présenterons ainsi les perspectives possibles pour des applications à d'autres domaines que le médical.

Chapitre 1 :

Etat de l'art : Dialyse et analyses sanguines

Chapitre 1 :

Chapitre 1 : Etat de l'art : Dialyse et analyses sanguines

Introduction

L'insuffisance rénale chronique terminale (IRCT), touche un nombre de patients non connu précisément en France. Il était estimé à 35 000 en 1995 et à 45 000 en 2001 [1]. Deux tiers de ces patients sont traités par épuration extrarénale (EER) et un tiers sont transplantés. Jusque dans les années soixante, le décès était l'issue inexorable de toute insuffisance rénale chronique terminale. Puis les progrès en chirurgie et en immunologie ont permis d'utiliser l'épuration extrarénale comme méthode de suppléance des reins et de mettre en œuvre les premières transplantations rénales. L'épuration extrarénale permet, depuis son développement dans les années soixante, la survie de ces patients. Les évolutions ont été constantes afin d'améliorer l'efficacité de l'épuration extrarénale ainsi que la durée et la qualité de vie des patients. Les techniques d'épuration extrarénale disponibles sont l'hémodialyse et la dialyse péritonéale [2]. L'hémodialyse est une épuration intermittente par voie sanguine. La dialyse péritonéale utilise le péritoine comme membrane d'échange.

L'hémodialyse permet l'épuration des substances de déchet et la normalisation des électrolytes plasmatiques. Répétées régulièrement plusieurs fois par semaine, d'où le nom d'hémodialyse périodique, ces épurations permettent la survie théoriquement illimitée des malades dont les reins sont fonctionnellement détruits. D'abord accueillie avec scepticisme, l'hémodialyse périodique a apporté, conjointement à la transplantation rénale qui en est contemporaine, une évolution décisive dans le traitement de l'urémie chronique parvenue au stade ultime. Au cours de ces dernières années, elle a bénéficié de progrès techniques incessants qui ont permis d'abrégé notablement la durée du traitement tout en augmentant sa sécurité et son efficacité. De plus, elle a suscité un nombre considérable de recherches sur le mécanisme de manifestations de l'insuffisance rénale chronique, qui ont déjà conduit à une amélioration notable du traitement de l'urémie. L'objectif des travaux de recherches présentés dans ce mémoire, propose d'améliorer le confort du patient hémodialysé grâce à un suivi en continu et en temps réel de l'efficacité de l'épuration au cours d'une séance d'hémodialyse.

I. Les fonctions rénales

I.1. L'excrétion des déchets

Les reins sont les principaux organes intervenant dans le nettoyage du sang. A partir du sang, ils produisent l'urine, qui est ensuite stockée dans la vessie avant d'être évacuée.

La formation de l'urine se fait en trois temps :

1. Une filtration du sang permet la formation d'un premier liquide. Seuls les lipides, les protéines et les éléments figurés du sang ne passent pas dans ce liquide.
2. Une réabsorption à partir de ce liquide permet à l'organisme de récupérer les éléments qui lui sont essentiels (en particulier le glucose et l'eau) ; 99% de l'eau de ce liquide sont réabsorbés : l'urine est concentrée.
3. Le rein sécrète de plus quelques déchets dans l'urine. L'urine est alors véhiculée dans les uretères et stockée dans la vessie.

Au total, 1600 litres de sang sont traités chaque jour, produisant 180 litres de liquide filtrés qui donneront 1 l à 1,8 l d'urine [3].

Le tableau I.1 compare les déchets concentrés dans l'urine et dans le plasma sanguin.

Eléments	eau	protéines	lipides	glucose	sodium	potassium	urée
Plasma (g/l)	910	70	3	0,9	3,3	0,18	0,3
Urine (g/l)	950	0	0	0	3 à 6	0,5 à 3	12 à 30

Tableau I.1 : Comparaison des éléments concentrés dans l'urine et le plasma sanguin

On voit sur ce tableau que l'urine n'élimine pas toutes les molécules du sang (protéines, lipides, glucose). Par contre, les excédents de sels minéraux (comme le sodium et le potassium) et surtout les déchets du métabolisme comme l'urée, sont concentrés, puis éliminés.

I.2. Structure des reins

L'appareil urinaire comprend les reins et les voies urinaires (figure I.1).

Le rein est la voie principale d'excrétion des déchets métaboliques non volatils et du maintien du volume et de la composition ionique des fluides de l'organisme (homéostasie). L'homme possède deux reins de 150 g, situés de chaque côté de la colonne vertébrale, en dehors du péritoine [4]. Chacun d'entre eux reçoit 1 litre de sang par minute.

Les voies urinaires comprennent :

- les uretères, par où s'écoule l'urine élaborée par les reins,
- la vessie, réservoir imperméable et contractile,
- l'urètre, par où l'urine accumulée dans la vessie est rejetée au-dehors.

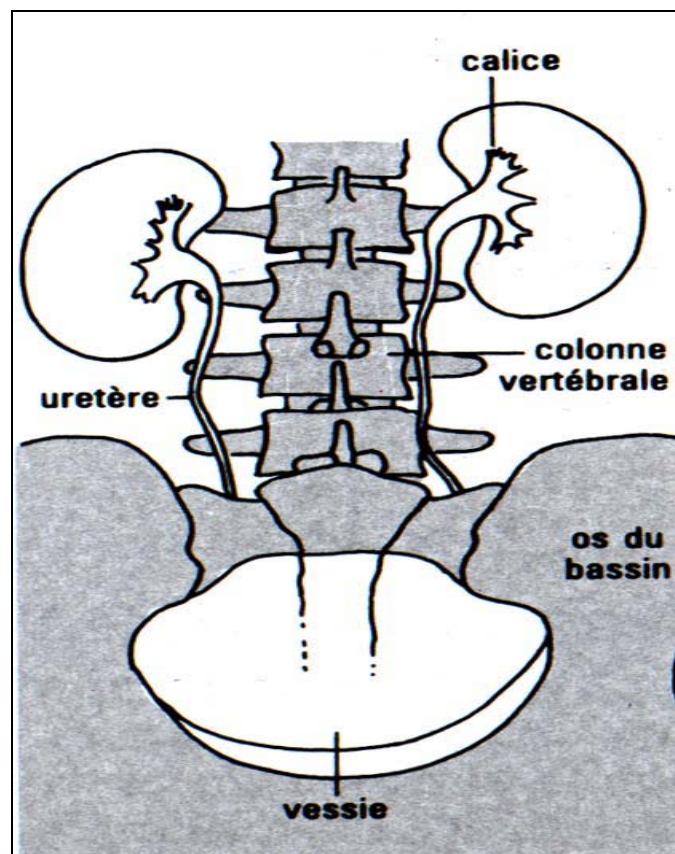


Figure I.1. : Schéma descriptif de l'appareil urinaire

I.2.1. Le néphron : unité fonctionnelle

Le néphron est l'unité fonctionnelle du rein. Chaque rein en comprend environ 1,2 million avec des variations importantes de 0,7 à 1,5 million (déterminées génétiquement) qui pourraient expliquer la susceptibilité à certaines maladies rénales. Chaque néphron est constitué de deux parties (figure I.2), le glomérule et le tubule attaché. Le glomérule est un fin réseau capillaire alimenté par une seule artériole afférente. Le tubule est formé successivement d'un tube proximal, une anse de Henlé, un tube distal et un tube collecteur. L'ultrafiltrat d'origine glomérulaire est ensuite modifié le long de son parcours tubulaire [5].

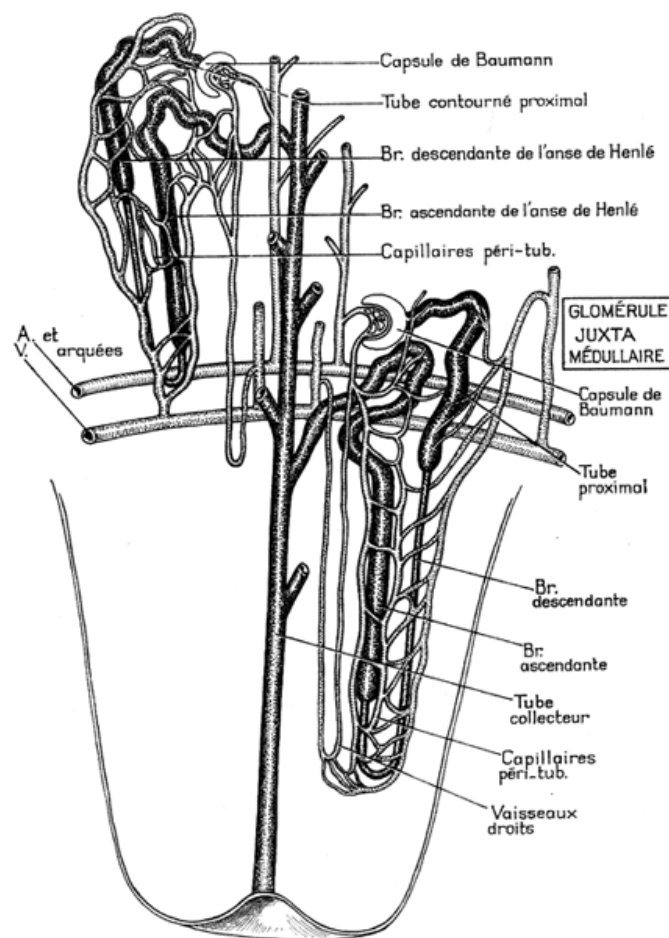


Figure I.2 : Schéma décrivant les éléments constitutifs du néphron

I.2.2. La filtration glomérulaire

Elle aboutit à l'élaboration de l'urine primitive ou ultrafiltrat plasmatique à travers la membrane basale glomérulaire. Cet ultrafiltrat plasmatique a la même composition que le plasma en ce qui concerne l'urée, la créatinine et les électrolytes. Par contre, les substances de

poids moléculaire supérieur à celui de l'albumine ne franchissent pas la membrane capillaire glomérulaire. L'insuffisance rénale traduit une diminution de la fonction rénale caractérisée par une diminution de la filtration glomérulaire. Tantôt aiguë, elle est le plus souvent réversible, tantôt chronique, elle correspond à des lésions anatomiques irréversibles du parenchyme rénal [6].

I.3. Conséquences de la perte des fonctions rénales

Les reins possèdent trois fonctions principales :

- une fonction d'épuration des déchets du métabolisme azoté ;
- une fonction de régulation de l'équilibre hydro-électrolytique ;
- une fonction endocrine associée à une fonction de régulation du métabolisme phosphocalcique.

I.3.1. Conséquences de la perte de fonction d'excrétion du métabolisme azoté

Le rein est la voie principale d'excrétion des déchets métaboliques non volatils, certains d'entre eux étant potentiellement toxiques. C'est le cas par exemple pour l'urée, la créatinine et l'acide urique. Ces métabolites s'accumulent dans le plasma et dans les tissus proportionnellement à la réduction de la masse fonctionnelle de néphrons [2]. La fonction épuratrice des reins pour chacune de ces trois substances est mesurée par sa clairance, c'est à dire par le rapport entre le poids de substance éliminée par minute dans l'urine et le poids de cette même substance contenue dans 1 ml de plasma [4].

L'urée est le plus important des métabolites azotés. Sa concentration est égale dans tous les liquides de l'organisme (au sein des globules ou du plasma) et diffuse librement à travers les parois cellulaires. Elle résulte de la dégradation des métabolites azotés issus du catabolisme cellulaire. Son élimination est essentiellement rénale. Les valeurs normales de concentration chez l'adulte sont comprises entre 0,2 et 0,6 g/L (soit 3,3 et 10 mmol/L). Tant que cette concentration plasmatique reste inférieure à 3 g/L (soit 50 mmol/L), l'urée n'exerce aucun effet toxique. Au-delà de ce taux, le patient peut être atteint de troubles digestifs et neurologiques.

La créatinine est le produit final du métabolisme de la créatine dans les cellules des mammifères. L'analyse du taux de créatinine est utilisée pour le diagnostic des fonctions rénales, de la thyroïde et du muscle, et est très importante dans le traitement par dialyse externe. La concentration normale chez l'homme est de 10 mg/L (soit 88,4 $\mu\text{mol/L}$) tandis qu'elle est de 100 mg/L (885 $\mu\text{mol/L}$) chez l'insuffisant rénal avancé. La créatinine est un témoin du dysfonctionnement rénal beaucoup plus fidèle que l'élévation du taux d'urée sanguine car sa production est relativement indépendante de l'alimentation. Son élimination est aussi essentiellement rénale. Au-delà de 600 $\mu\text{mol/L}$ il est souhaitable de créer un abord vasculaire ; on évite ainsi de léser le réseau vasculaire par des prises de sang ou des perfusions inopportunes. Une intervention chirurgicale permet de brancher directement une veine superficielle de bonne qualité sur une artère proche

Le domaine de concentration de la créatinine dans le sérum plasma est de [35-140 $\mu\text{mol/L}$].

L'acide urique tout comme la créatinine est dépourvu de toxicité mais son accumulation occasionne des crises de goutte lorsqu'il se dépose sous forme de cristaux dans les articulations. Il résulte de la dégradation naturelle des acides nucléiques.

I.3.2. Conséquences de la perte des fonctions de régulation hydro-électrolytique

Outre la fonction d'élimination des déchets azotés, le rein assure aussi le maintien des volumes des fluides de l'organisme (eau et compartiments hydriques) ainsi que le maintien du bilan (quantité) et de la composition (concentration) ionique d'un grand nombre d'ions monovalents, divalents ou trivalents : Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , Li^+ , H^+ , CO_3^- , PO_4^{3-} . Cette fonction, dite homéostasique, est assurée par la filtration glomérulaire [7].

L'état d'hydratation d'un organisme implique qu'il ne doit pas y avoir plus de perte d'eau que de gain : l'apport d'eau doit être égal à sa déperdition. L'apport d'eau est d'environ 2,5 l par jour chez un adulte et l'essentiel provient des liquides ingérés (60%) et des aliments (30%). La déperdition d'eau s'opère par plusieurs voies mais la quantité la plus élevée est excrétée par les reins dans les urines (60%).

Une relation bien précise existe entre quantité d'eau et quantité de particules dissoutes dans l'eau : chez un sujet normal, l'osmolarité des liquides organiques varie entre 180 et 300 mmol/kg. Des variations de l'osmolarité déclenchent des réponses affectant l'équilibre

hydrique. Parmi les particules des liquides organiques, des sels minéraux pénètrent dans l'organisme via les aliments solides et l'eau. Les électrolytes sont issus de la dissociation des sels, acides et bases mais le terme d'équilibre électrolytique désigne classiquement l'équilibre des ions inorganiques dans l'organisme. Lorsque le nombre de néphrons devient inférieur à 5 % du nombre normal, les reins ne s'adaptent plus ; l'hémodialyse est alors indispensable pour réguler l'eau et les électrolytes tels que le potassium et le sodium.

L'eau : En dehors de la diurèse résiduelle, le plus souvent inférieure à un litre par jour et parfois nulle, l'eau accumulée entre deux dialyses ne peut être éliminée que par l'ultrafiltration effectuée lors de la dialyse suivante. Toute ingestion excessive de liquide conduit à une inflation immédiate du capital hydrique de l'organisme. Cette non élimination de l'eau entraîne par voie de conséquence une prise de poids entre deux dialyses.

Le sodium : Le problème est le même que pour l'élimination de l'eau. Dans le cas où les reins n'assureraient plus les fonctions de régulation hydro-électrolytique, la plus grande partie du sodium ingéré entre deux dialyses doit être éliminée par ultrafiltration au cours de la dialyse suivante. Toutefois son élimination doit être contrôlée afin d'éviter les crampes, les céphalées et les chutes de tensions (hyponatrémie).

Le potassium : Sa concentration est relativement faible. Le potassium apporté par les aliments augmente rapidement la concentration de cet ion dans le secteur extra-cellulaire et peut aboutir à une hyperkaliémie. L'élimination urinaire étant très faible, le potassium doit être soustrait par les dialyses. Toutefois son élimination doit être contrôlée afin d'éviter des troubles cardiaques (kaliémie).

I.3.3. Conséquences de la perte des fonctions endocrines et des fonctions du métabolisme phosphocalcique

Chez l'insuffisant rénal, il peut exister une modification du système Rénine Angiotensine provoquant une sécrétion excessive de rénine par le rein, qui induit une hypertension artérielle [7].

De même on peut observer un défaut de production ou d'activation de l'érythropoïétine, hormone stimulant la synthèse médullaire des globules rouges dont le déficit entraîne une anémie.

Les désordres phosphocalciques sont fréquents et liés à une diminution de l'absorption intestinale du calcium par l'intermédiaire de la vitamine D dont le métabolisme actif n'a pas été hydroxylé. A long terme, les hypocalcémies et les hyperphosphorémies entraîneront des décalcifications et des lésions osseuses.

I.4. Critère de décision de l'hémodialyse

L'insuffisance rénale peut être due à des maladies du rein ou à la conséquence de pathologies telles que l'hypertension artérielle ou le diabète. Ce dysfonctionnement rénal entraîne par une succession de conséquences complexes, des complications cardiovasculaires, hématologiques, neurologiques et ostéo-articulaires qui nécessitent un traitement spécifique : la greffe ou l'hémodialyse périodique.

L'hémodialyse est nécessaire lorsque l'insuffisance rénale chronique est parvenue à son stade ultime. Ce stade est défini par un abaissement de la filtration glomérulaire résiduelle au dessous de 5 mL/min, ce qui correspond à une diminution du nombre de néphrons restants à moins de 5% de leur nombre initial. La filtration glomérulaire peut être calculée, au stade évolué de l'insuffisance rénale, comme la moyenne de la clairance de l'urée et de celle de la créatinine, mesurées sur les urines des 24 heures. En pratique chez l'adulte, ce stade correspond à une créatinémie de 1100 à 1300 $\mu\text{mol/L}$ (soit 130 à 150 mg/L). Il est souhaitable de créer une fistule artério-veineuse dès que la créatinémie atteint 600 à 800 $\mu\text{mol/L}$ (70 à 90 mg/L) et même plus tôt chez les femmes et les sujets âgés [2]. Cette fistule, placée grâce à une intervention chirurgicale, permet de brancher directement une veine superficielle de bonne qualité sur une artère proche.

II. Principes physico-chimiques de l'hémodialyse

II.1. Description du système

Le rein artificiel (dialyseur) est une machine qui imite les fonctions du rein, et traite le sang au moyen d'une circulation extracorporelle (figure I.3) : le sang d'une veine est détourné, mis en circulation par une pompe dans le rein artificiel, et retourne ensuite à l'organisme. L'échangeur ou dialyseur est l'élément qui permet l'épuration du sang. Il est composé d'une enveloppe dans laquelle se trouve une membrane semi-perméable qui sépare

le sang du liquide de dialyse (dialysat). Ils ne sont jamais en contact direct. Des échanges se produisent entre ces deux compartiments, et réalisent l'épuration et l'ultra-filtration. L'ensemble des tubulures véhiculant le sang entre le patient et le dialyseur est appelé circuit extra-corporel.

Ce processus s'appelle l'hémodialyse (hémo = sang ; dialyse = échange).

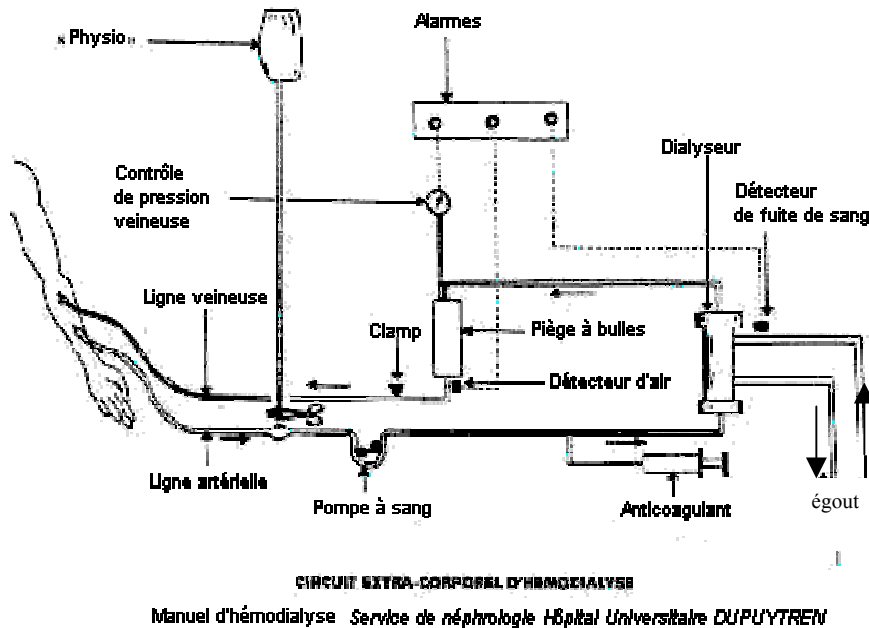


Figure I.3 : Schéma de principe d'une ligne d'hémodialyse et de la circulation extracorporelle du sang.

Le matériel de dialyse sanguine ou d'hémodialyse comprend : Un dialyseur, un générateur de bain de dialyse et un dispositif de contrôle.

Le dialyseur : Le dialyseur est le dispositif permettant l'échange entre le sang et le bain de dialyse. Il se compose d'une membrane semi-perméable et de deux compartiments (sang du malade/ dialysat). Le dialysat est un liquide composé d'eau et de sels minéraux de composition électrolytique voisine de celle du plasma sanguin normal [3]. La membrane de dialyse imite les propriétés de perméabilité de la membrane de filtration du glomérule rénal. De part et d'autre de cette membrane existent deux compartiments liquidiens : le sang circule d'un côté et le liquide de dialyse de l'autre. Les échanges permettent d'une part d'éliminer du

sang les déchets du métabolisme azoté ainsi que les excès d'eau et d'autre part de rééquilibrer la composition électrolytique du sang du patient (figure I.4).

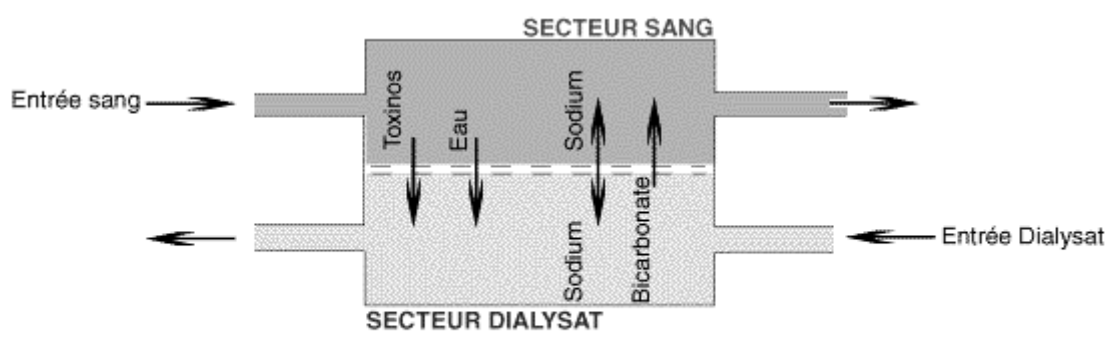


Figure I.4 : Schéma de principe du dialyseur (échange du solvant et des solutés).

Le générateur de bain de dialyse : La préparation du bain de dialyse se fait par la dilution d'une solution concentrée, à l'aide d'eau traitée. Le volume du liquide de dialyse utilisé au cours d'une séance d'hémodialyse de quatre heures, en circuit ouvert, est de 120 litres.

Le dispositif de contrôle : Les dispositifs de contrôle sont indispensables pour vérifier en permanence la composition du liquide de dialyse et pour détecter les anomalies pouvant se produire sur le circuit sanguin ou sur le circuit de dialyse. Elles concernent la pression sanguine et du liquide de dialyse, la conductivité du liquide de dialyse et la température.

II.2. Surveillance du patient hémodialysé

II.2.1. Surveillance lors d'une séance

Les accidents liés au bain de dialyse, susceptibles de se produire au cours d'une séance de dialyse sont généralement dus [5] :

- à une mauvaise dilution : solution hypo- ou hypertonique, entraînant des céphalées, vomissements, crises convulsives,
- à un problème infectieux : chocs pyrogènes dus à une pollution du bain de dialyse par des germes,
- à un problème d'adoucisseur : excès de calcium entraînant des céphalées, vomissements, hypertension.

Chapitre 1

Pour ces trois problèmes, le médecin sera prévenu, la dialyse sera interrompue immédiatement. En cas de problème d'adoucisseur, la dialyse pourra reprendre après contrôle du calcium dans l'eau et de la calcémie du patient.

II.2.2. Surveillance à long terme de l'hémodialyse

Le suivi régulier des bilans permet d'évaluer l'efficacité des séances tous les quinze jours ou tous les mois, selon les centres [5] :

Avant séance

- hématocrite, hémoglobine, urée, créatinine, acide urique, Cl^- , Na^+ , K^+ , HCO_3^- , Ca^{2+} , P,
- bilan martial (fer, ferritine ; mesure du coefficient de saturation de la sidérophilline).

Après séance

- urée, créatinine et les ions Na^+ , K^+ , HCO_3^- , Ca^{2+} .

Actuellement les patients sont connectés au circuit et dialysés sans qu'existe de suivi de l'épuration en cours de séance. On se contente au mieux, dans le cas de générateur à maîtrise d'ultrafiltration [8], de suivre la perte de poids au cours du temps (l'épuration est constatée a posteriori). Un système de capteurs permettant de mesurer en continu les concentrations sanguines ou dans du dialysat serait une avancée technique importante pour quantifier l'efficacité de dialyse et éventuellement prévenir rapidement de problème pouvant survenir lors d'une dialyse.

III. Contexte du projet

III.1. Problématique du suivi de l'hémodialyse

La préoccupation essentielle de nombreuses équipes médicales consiste à améliorer la tolérance des échanges entre secteurs physiologiques et bain de dialyse afin de réduire la fréquence des épisodes hypotensifs, tout en assurant une épuration efficace. Dans les années 70, il a été observé une réduction significative des crampes, pendant la séance de dialyse en augmentant la concentration en sodium dans le liquide de dialyse. Toutefois, l'utilisation d'un bain trop riche en sodium, peut entraîner une augmentation de la pression artérielle et une augmentation de la soif entre les séances, donc un gain de poids. Dans les années 80, plusieurs études théoriques ont permis d'établir des modèles « sodium-volume », permettant ainsi de

connaître la natrémie du patient en fonction du temps. La meilleure compréhension des transferts s'opérant entre le patient et le dialysat, ainsi que les risques engendrés par des transferts mal contrôlés ont progressivement conduit à définir la notion de dialyse personnalisée [9].

Les générateurs à maîtrise d'ultrafiltration permettent de contrôler la perte de poids désirée en fin de dialyse en fonction du poids initial avant dialyse. De même, certains générateurs à sodium variable [8] permettent d'ajuster la concentration en sodium du dialysat en fonction de la natrémie avant dialyse et celle souhaitée en fin de dialyse. Pour cela, l'estimation de la concentration en sodium du patient avant la séance nécessite a priori le prélèvement d'échantillons sanguins. Des prélèvements sont parfois effectués en fin de dialyse pour vérifier la qualité de l'épuration et le bilan électrolytique sanguin. Le patient hémodialysé étant déjà anémié par sa pathologie, les prélèvements sanguins systématiques sont déconseillés. Il n'existe à l'heure actuelle aucun contrôle continu pendant la dialyse permettant d'évaluer directement sur le sang du patient ses besoins électrolytiques. De telles mesures seraient utiles tant sur le plan de la conduite des séances pour la sécurité et le confort des patients que sur le plan de la recherche médicale permettant ainsi de mieux appréhender la cinétique des échanges et les transferts physiologiques pendant cette période d'instabilité.

L'intérêt clinique majeur serait d'adapter la concentration et le débit du bain de dialyse à la natrémie plasmatique réelle du patient, en début de séance, sans perturber son quota d'éléments figurés.

III.2. Solutions développées

Les dispositifs actuels d'évaluation de l'efficacité des dialyses ont pour unique vocation de déterminer *a posteriori* si les objectifs de la séance ont été atteints. Le sang du patient, prélevé en fin de séance, est analysé dans un laboratoire. L'objectif principal pour un service de biologie hospitalière est alors de fournir aux cliniciens des résultats fiables et expertisés, dans les délais les plus courts possible, pour une prise en charge optimale des patients. Pour se faire, des avancées technologiques permettent de disposer d'automates utilisables directement dans les services cliniques et, par conséquent, de réduire le temps de décision [9]. Néanmoins, le biologiste reste responsable de l'exécution de ces analyses et doit donc encadrer l'ensemble du processus, depuis le prélèvement jusqu'à la validation des résultats.

Chapitre 1

Les méthodes classiques employées pour analyser le sang utilisent des échantillons (quelques grammes) prélevés par ponction veineuse puis généralement centrifugés pendant 15 minutes à 4°C.

Le tableau I.2 résume les méthodes employées par des dispositifs commerciaux (CARESIDE ANALYSER, CX7Delta/STKS, Mercury 16...) [9]:

<i>éléments</i>	<i>méthodes</i>
Sodium	ISE-potentiométrie directe Conductimétrie
Potassium	ISE-potentiométrie directe
Urée	Conductimétrie (uréase) Electrode NH ₄ -membrane enzymatique
Créatinine	Jaffe cinétique (colorimétrie) Ampérométrie-membrane enzymatique

Tableau I.2 : Résumé des techniques couramment employées pour les analyses sanguines

Les inconvénients de toutes ces méthodes sont qu'elles nécessitent un étalonnage et ne permettent une analyse du sang qu'*a posteriori*. Il est donc impossible de réguler l'équilibre hydro-sodé du patient en cours de dialyse. Si l'on ajoute à cela le prélèvement du sang et la préparation des échantillons (selon la méthode employée), nous pouvons nous rendre compte que le clinicien ne dispose pas des éléments d'analyse en temps réel. De plus malgré l'automatisation de certains dispositifs, les manipulations par des personnes qualifiées, de réactifs et des échantillons restent nécessaires.

Dans le domaine de la recherche en hémodialyse, divers axes se dessinent pour apporter au rein artificiel une ébauche de régulation de l'équilibre hydro-sodé et doser en continu les molécules de petite taille (urée, glucose, créatinine). Différentes sociétés (Hospal, Fresenius) ont orienté leurs recherches sur le contrôle automatique du bain de dialyse permettant une régulation de l'équilibre hydro-sodé du patient au cours de la dialyse. Le principe de la mesure est basé sur la mesure en amont et en aval de l'hémodialyseur, de la conductivité du dialysat ayant circulé quelques minutes en circuit fermé. Cette mesure permet d'estimer la dialysance du sodium et d'en déduire la clairance de l'urée. L'inconvénient de ce modèle est qu'il ne tient pas compte du caractère non instantané du flux osmotique d'eau à

travers la membrane cellulaire ; il en résulte donc un décalage au niveau du temps de réponse et une imprécision de mesure entre la valeur de la conductivité mesurée sur le plasma et celle prédite par le modèle.

Il est possible d'estimer l'efficacité des séances sans pour autant prélever du sang. Mais ces solutions techniques sont peu probantes à deux niveaux. La première critique porte sur la lourdeur du système en place ne permettant qu'une estimation de l'efficacité à partir d'une perte de poids, donc d'une fiabilité limitée. La seconde critique est d'ordre économique, ces consommables étant très coûteux, ils ne sont que peu utilisés. C'est le cas par exemple de la société BELLCO qui présente un système, avec une cartouche d'uréase (15€) destiné à la mesure de la clairance de l'urée grâce à une mesure de différence de conductivité. Ce matériel dont l'utilisation est coûteuse n'est pas adaptable sur un autre équipement que le leur [11]. Il en est de même pour La société Baxter qui avait fait une tentative de mise sur le marché de l'Urée Monitor. Cependant un coût d'utilisation élevé pour un unique paramètre n'a pas permis son succès commercial.

La solution idéale pour estimer la qualité de l'hémodialyse serait donc de proposer un dispositif simple, fiable et peu coûteux permettant de mesurer et d'analyser en temps réel et en continu le dialysat aval sans manipulations supplémentaires.

III.3. Développement de la société HEMODIA

III.3.1. Cahier des charges

L'objectif est donc de concevoir un dispositif permettant d'analyser en continu la composition du dialysat en ions K^+ et Na^+ ainsi qu'en urée et créatinine. Ce dispositif devra respecter les critères suivants :

- le dispositif devra délivrer une réponse fiable, reproductible et précise ;
- le dispositif devra être sélectif à l'élément à détecter ;
- le temps de réponse du dispositif devra être rapide, afin de donner une mesure en temps réel ;
- le coût de fabrication devra être assez bas ;
- l'utilisation devra être simple et rapide à mettre en œuvre.

III.3.2. Développement du MIMESIS et du MIMEDIA.

La société HEMODIA a lancé en 1998 un programme de recherche et développement. Le caractère innovant de ce projet est de proposer une solution complète permettant de suivre l'épuration du sang du patient en temps réel et en continu durant la séance de dialyse. Ceci implique donc de mesurer les diverses concentrations sanguines au cours d'une hémodialyse afin :

- de connaître l'équilibre hydro-sodé du patient,
- de quantifier avec précision l'efficacité de dialyse en mesurant l'épuration de l'urée et de la créatinine.

La finalité de ce projet a permis à HEMODIA de mettre au point un dispositif appelé « MIMESIS » permettant de collecter en continu pendant la séance de dialyse un ultrafiltrat plasmatique [8]. L'association de ce dispositif avec l'analyseur appelé « MIMEDIA » permet de mesurer simultanément six index de quantification de la dialyse (figure I.5) :

- Kt/V de l'urée,
- K urée, clairance de l'urée (ml/mn),
- pourcentage de réduction d'urée : PRU (%),
- transfert de masse d'urée : N (g/séance),
- PCR, taux de catabolisme protéique (g/jour),
- NPCR (g/Kg/jour).

Ces index, considérés comme des critères objectifs de dialyse, sont actuellement largement utilisés. Ces critères basés sur la relation directe entre l'extraction de l'urée et l'évolution clinique peuvent être utilisés pour déterminer la "dose" (ou durée) de dialyse :

- l'index Kt/V (K est la clairance de l'urée du dialyseur, t la durée effective de dialyse et V le volume de diffusion de l'urée) est le plus utilisé,
- le PCR (Protein Catabolic Rate) exprime les protéines dégradées ("catabolisées") entre deux séances. Il est égal à l'apport quotidien en protéines et il reflète l'état nutritionnel du dialysé.



Figure I.5 : Photographie des dispositifs MIMESIS et MIMEDIA, développés par la société HEMODIA

Ces résultats permettent :

- de mesurer la dose de dialyse administrée, en vue d'une dialyse adéquate,
- d'apprécier l'état nutritionnel du patient,
- d'affiner une stratégie de dialyse.

Le MIMESIS est un dispositif à fibres creuses permettant de recueillir l'ultrafiltrat du plasma sans prélèvement sanguin. Situé sur la tubulure artérielle entre la pompe à sang et le dialyseur, le MIMESIS fonctionne comme un mini-ultrafiltre dont la force agissante est le gradient de pression qui règne dans cette portion du circuit extracorporel. Le volume d'eau plasmatique fourni par ce dispositif est le reflet du plasma du patient hémodialysé, il contient tous les constituants de la phase aqueuse du plasma : molécules de faible poids moléculaire (urée, créatinine) et électrolytes. La mesure des six index de quantification de la dialyse se fait par analyse logicielle à partir des concentrations en urée mesurées en début et en fin de dialyse.

L'inconvénient du dispositif est qu'il ne permet pas de faire l'analyse en temps réel et en continu. Il est certes possible d'analyser l'ultrafiltrat sur place à l'aide d'une petite machine

(MIMEDIA), mais ceci impose de manipuler (réactifs, micropipettes, etc...). Or le personnel médical est déjà surchargé et n'est pas rompu à ces techniques.

III.3.3. Projet MICROMEDIA

HEMODIA a donc démarré en janvier 2001 un programme visant la mise au point et la fabrication à l'unité de microcapteurs chimiques pour les applications à l'hémodialyse. Le choix a été fait de développer des microcapteurs chimiques jetables, donc de faible coût. Il a entraîné l'utilisation des techniques de fabrication collective des microtechnologies (compatibilité CMOS) et donc le développement de microcapteurs chimiques ChemFETs (Chemical Field-Effect Transistor).

Deux laboratoires de recherche sont associés aux travaux de recherche : le Laboratoire d'Ingénierie et Fonctionnalisation des Surfaces (IFoS) de l'école centrale de Lyon et le laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes (LAAS) du CNRS. L'IFoS et le LAAS-CNRS sont respectivement en charge des études relatives aux matériaux chimiquement sensibles et du développement technologique des microcapteurs chimiques ChemFETs. Les diverses expériences de caractérisation "in vitro" et "in vivo" se font ensuite en parallèle chez les différents partenaires.

La stratégie du projet est alors de proposer sur le marché un dispositif de suivi de la courbe d'épuration en intégrant directement ce dispositif dans une machine d'hémodialyse ou en concevant un analyseur indépendant pouvant se connecter sur n'importe quel circuit existant. Les données recueillies en continu, pourront alors être traitées, stockées et éventuellement transférées à distance. Ainsi une alarme pourra avertir le patient lorsque la valeur cible de la fin de séance sera atteinte ou au pire, signaler une anomalie survenant lors de la dialyse.

III.4. Marché potentiel

III.4.1. Evaluation qualitative des marchés

Le marché de l'hémodialyse représente plus de 22 500 patients en France et 980 000 dans le monde. Les spécialistes de l'hémodialyse s'accordent pour dire que, chaque année, il y a dans les pays industrialisés une augmentation de 4 à 5% de personnes ayant une

insuffisance rénale chronique [1]. Il s'agit donc d'un marché en croissance, tant dans les pays industrialisés que dans les pays en voie d'industrialisation qui découvrent ces techniques médicales.

Si on les compare avec les autres branches médicales telles que les services de réanimation, la néphrologie et l'hémodialyse paraissent sous équipées en instruments de diagnostic en continu pour le suivi des patients. Seules des méthodes d'analyses *a posteriori* ou bien la mesure d'un seul paramètre sont disponibles. Il apparaît donc que le développement de biocapteurs mesurant en continu les paramètres de l'hémodialyse s'inscrit dans l'évolution normale des techniques médicales.

Afin de pouvoir avoir une meilleure approche de la recevabilité du projet de biocapteurs par le corps médical, une série d'entretiens a été réalisée avec des intervenants que l'on peut classer comme suit :

- services pratiquant des hémodialyses chroniques,
- association prenant en charge des patients en centres d'auto-dialyse ou en dialyse à domicile,
- services de néphrologie avec une unité d'hémodialyse,
- chercheurs universitaires,
- sociétés pouvant intégrer les biocapteurs dans leur offre de lignes de dialyse ou être plus impliquées dans une collaboration futures,
- autorités de tutelle: Ministère de la Santé AFSSAPS.

Les résultats de cette enquête [11] ont montré que les paramètres définis dès l'origine du projet sont cohérents avec les besoins du marché définis par les personnes interrogées. C'est à dire la possibilité de mesurer en continu les paramètres suivants:

- urée, créatinine et les électrolytes H^+ , K^+ , Na^+ , c'est à dire les cinq paramètres considérés comme essentiels. Des modes d'affichages différents devront être proposés : affichage des courbes de tendances ou bien intégration dans les mesures affichées d'un index qui est familier aux utilisateurs ;
- la mesure de la concentration en Ca^{2+} a été évoquée à plusieurs reprises ;
- la mesure des gaz du sang et du taux des lactates sur des prélèvements de sang artériel intéresse tous les praticiens en charge de réanimation ;

- la mesure de plusieurs ions métalliques est régulièrement citée dans les publications de néphrologie et par certains praticiens, en particulier les désordres dans le métabolisme du magnésium devraient être surveillés chez les patients hypokaliémiques ;
- la recherche des besoins du marché pour des biocapteurs dans d'autres disciplines médicales pourrait être menée lorsque le projet Micromedia sera arrivé à maturité.

III.4.2. Evaluation quantitative des marchés visés

Les patients sous hémodialyse chronique ont normalement trois séances d'épuration par semaine, c'est à dire cent cinquante par an. Nous devons tenir compte des hémodialyses d'urgence qui sont beaucoup moins nombreuses mais pour lesquelles le coût des biocapteurs sera facilement intégré dans le montant de la prise en charge de la journée de réanimation.

D'après les chiffres de la direction des hôpitaux, le nombre de patients dialysés en France est de l'ordre de 26000, dont 5000 en autodialyse et 1800 à domicile, et en utilisant les ratios habituels, nous pouvons estimer un marché européen annuel de l'ordre de 22,5 millions de circuits par patient. Ce chiffre théorique doit être pondéré, mais une pénétration de 10% en cinq ans est considérée comme représentative pour du matériel médical à usage unique, soit 2,5 millions de biocapteurs en Europe [11].

Pour le moment il est difficile d'inclure dans un premier temps le marché représenté par les 12 à 15000 patients des pays d'Afrique du Nord en raison des systèmes de prise en charge locaux.

En France et dans certains pays européens comme l'Angleterre ou les pays bas, les critères et les taux de prises en charge des patients relevant de l'hémodialyse chronique sont soumis à l'approbation d'autorités de tutelle qui tentent généralement de maintenir l'ensemble des dépenses dans une enveloppe globale. Seule la notion de bénéfice prouvé pour le patient est susceptible de permettre une modification des prises en charge. Chaque pays fixe directement ou avec les représentants des caisses d'assurances, les conditions de remboursement liées au traitement des patients ayant une affection chronique. Il en résulte que la vitesse de pénétration du marché pourra être variable d'un état à l'autre.

IV. Développement des capteurs chimiques à effet de champ (ChemFET).

IV.1. Electrode à ions spécifiques

Les électrodes ionosensibles sont des instruments de mesure classiques destinés à la mesure de la concentration des ions spécifiques dans divers environnements. Ces capteurs sont en fait constitués de deux électrodes, l'une munie d'une membrane sélective à un type d'ion et l'autre de référence. Son principe de fonctionnement repose sur l'établissement d'un équilibre électrochimique à l'interface électrode solution ; la différence de potentiel à cette interface est alors proportionnelle au logarithme de la concentration de l'ion à détecter.

Le capteur type de cette famille est certainement celui destiné à la mesure du pH. Le potentiel hydrogène (pH) indique la concentration en ions H_3O^+ présents dans une solution ; ou plus précisément le cologarithme décimal de cette concentration exprimée en mole/litres :

$$\text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+] \quad \text{Equation I.1}$$

L'équation de NERNST décrit le comportement de l'électrode :

$$E = E_0 - 2,3 \text{ kT/e (pH)} \quad \text{Equation I.2}$$

Où :

E est la ddp mesurée aux bornes des deux électrodes

E_0 est lié au potentiel de l'électrode de référence

k est la constante de Boltzman

e est la charge élémentaire

T est la température en Kelvin

Le potentiel varie linéairement en fonction du logarithme décimal des concentrations des espèces oxydantes et réductrices.

A température ambiante (25°C), la pente est limitée à $2,3 \text{ kT/e} \approx 60 \text{ mV/unité}$. Cette pente représente la sensibilité de détection et détermine par conséquent la qualité du capteur chimique. Lorsque la sensibilité est inférieure à cette valeur maximale, on parlera de réponse non-nernstienne.

IV.2. Principe de fonctionnement des ChemFETs

En 1970, Piet Bergveld développa un nouveau procédé électronique permettant de mesurer l'activité des ions dans un milieu électrochimique et biochimique. Il utilisa le principe d'une électrode de verre et d'un transistor à effet de champ. Il mit en évidence la sensibilité aux ions H^+ d'un transistor MOS (Métal-Oxyde-Semiconducteur) sans grille métallique. Il introduisit ainsi le premier capteur chimique (ChemFET) à effet de champ, l'ISFET (Ion Sensitive Field Effect Transistor) [12].

La méthodologie de l'ISFET pour la mesure d'ions est développée sur la base du transistor MOSFET (transistor à effet de champ commandé en tension par une grille métallique). Le principe de base du transistor MOSFET est de pouvoir contrôler le courant circulant entre deux zones de semi-conducteur (source et drain) par l'application d'une tension V_{gs} sur la grille (figure I.6).

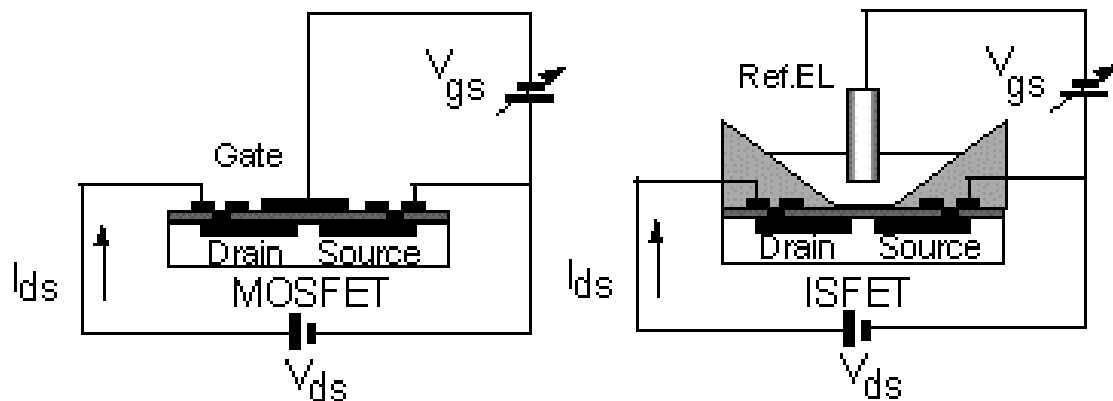


Figure I.6 : Comparaison et analogie entre les structures d'un transistor MOSFET et d'un capteur ISFET.

L'électrode de grille métallique est isolée du drain et de la source au moyen d'un oxyde de silicium (SiO_2) et commande le courant drain source (I_{ds}) électrostatiquement. L'impédance d'entrée, extrêmement élevée, de l'électrode de grille implique qu'il n'est pas nécessaire d'appliquer une grande tension d'entrée pour commander ce courant.

Dans le cas de l'ISFET, la grille métallique est remplacée par une électrode de référence, l'électrolyte à analyser et une grille isolante sensible à la concentration en ion recherché (par exemple H^+). Le système fondamental de mesure du pH-ISFET est montré dans la figure I.7.

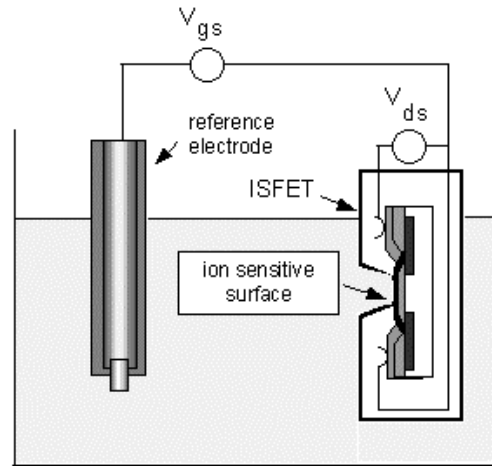


Figure I.7 : Méthode d'analyse d'une solution aqueuse grâce à un transistor ISFET et une électrode de référence.

Plusieurs matériaux ont été examinés afin de produire une iono-sensibilité. Parmi les couches sensibles à l'ion H^+ , la première à avoir été étudiée est l'oxyde de silicium SiO_2 . Après quoi, plusieurs matériaux tels que Si_3N_4 [13-15], Al_2O_3 [16-17], Ta_2O_5 [18,19], SnO_2 [20-21] ont été utilisés comme membranes sensibles au pH. Dans notre process, nous utilisons du nitrure de silicium (Si_3N_4) car le LAAS a développé, il y a quelques temps déjà, la réalisation technologique et la caractérisation d'ISFET à grille ionosensible SiO_2/Si_3N_4 en vue de mesures du pH [22].

Quand Bergveld présenta pour la première fois le composant ISFET, celui-ci fonctionnait sans électrode de référence. Cependant, des travaux ultérieurs ont indiqué que les opérations propres à l'ISFET demandent la présence d'une électrode de référence pour établir un potentiel dans l'électrolyte en contact avec le substrat en silicium [23].

IV.3. Principe physico-chimique de détection

L'équation qui régit la tension de seuil d'un MOSFET est la suivante :

$$V_t = \frac{\phi_M - \phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{ox} + Q_{ss} + Q_b}{C_{ox}} + 2\Phi_f \quad \text{Equation I.3}$$

où : $\Phi_M - \Phi_S$ reflètent la différence des travaux de sortie entre la grille métallique (Φ_M) et le silicium (Φ_S), Q_{ox} , Q_{ss} et Q_b sont respectivement les charges dans l'oxyde, à l'interface oxyde-silicium et dans la couche de déplétion du substrat silicium et Φ_f est caractéristique du niveau de dopage du substrat.

Dans le cas de l'ISFET, le même procédé de fabrication est utilisé. Cependant des contributions supplémentaires se manifestent ; en effet l'électrode métallique de grille du MOSFET étant remplacée par une électrode de référence, l'électrolyte et la couche chimiquement sensible, l'équation précédente devient :

$$V_t = E_{ref} - \psi + \chi_{sol} - \frac{\phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{ox} + Q_{ss} + Q_b}{C_{ox}} + 2\Phi_f = V_{to} - \psi \quad \text{Equation I.4}$$

Le terme E_{ref} représente le potentiel de l'électrode de référence, ψ est le potentiel chimique fonction du pH et χ_{sol} est un paramètre constant représentant le potentiel de surface du solvant.

Le principe de fonctionnement du capteur chimique ISFET est donc basé sur le piégeage d'ions au niveau de la couche sensible. Les charges piégées induisent une variation du potentiel chimique ψ et donc de la tension de seuil du transistor V_t .

IV.4. Détermination du potentiel chimique ψ

Contrairement aux électrodes à ions spécifiques, le principe physico-chimique de détection de l'ISFET est basé sur le cas d'une électrode idéalement bloquante. Dans le cas où aucune charge ne pourrait traverser l'interface électrode-électrolyte, il apparaît à cette interface une région très dense en ions, épaisse de quelques angströms, qui est le siège de réactions électriques et chimiques. L'accumulation de ces charges modifie le comportement de cette interface qui devient alors analogue à un condensateur. Plusieurs modèles ont été développés pour rendre compte et expliquer les phénomènes électrostatiques qui ont lieu à l'interface Electrolyte/Isolant/ Solide. Pour expliquer le fonctionnement de cette structure, la théorie du « Site Binding » semble être à l'heure actuelle la seule théorie utilisée [24-25].

IV.4.1. Etude de l'interface solide-électrolyte

Du fait de la dimension finie des ions et des molécules de solvant dans une solution électrolytique, il apparaît une différence entre les zones de charge d'espace d'un système solide-électrolyte. Ainsi, dans un système à électrode idéalement bloquante, la zone de charge d'espace est formée de plusieurs couches de structures différentes qui définissent la double couche électrique de HELMOLTZ [25-26]. La capacité de cette double couche est fonction du potentiel. Pour une électrode chargée négativement, la distribution des espèces est présentée

de façon simplifiée sur la figure I.8. La distribution du potentiel dans la couche diffuse est décrite par le modèle de GOUY-CHAPMAN-STERN [25-26].

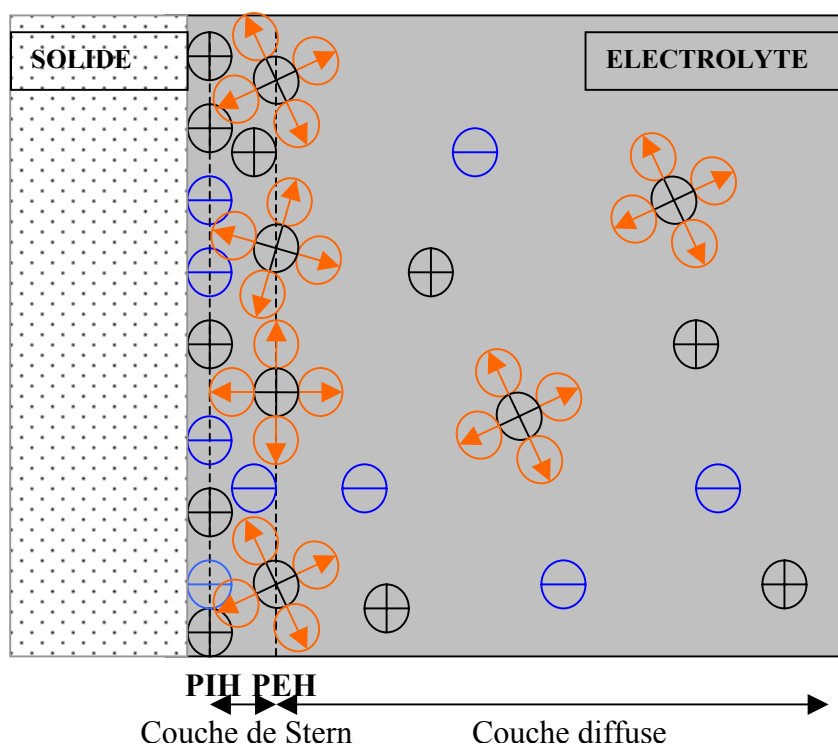


Figure I.8 : Distribution des espèces à l'interface-solide électrolyte, représentation du modèle de Gouy-Chapman-Stern.

Ce modèle considère trois régions :

La première région, la plus proche du solide est appelée couche interne. Elle contient les molécules d'eau et certaines espèces (ions ou molécules) dont on dit qu'elles sont spécifiquement adsorbées. Cette région s'étend jusqu'au lieu des centres électriques des ions spécifiquement adsorbés appelé plan interne d'HELMOTZ (PIH). Dans la littérature, cette couche interne est aussi appelée couche de HELMOTZ. L'orientation des dipôles dépend de la charge de l'électrode [26-27].

STERN a amélioré ce modèle en tenant compte de la taille des ions solvatés et en considérant que ceux-ci ne pouvaient s'approcher de la surface que jusqu'au plan interne d'HELMOTZ (PIH). La deuxième couche appelée couche de Stern est réservée aux ions solvatés. Cette région s'étend de la distance de contact entre les ions adsorbés et les ions solvatés jusqu'au centre des ions solvatés. Le centre des ions solvatés, le plus proche de la surface du solide est appelé plan externe de HELMOTZ (PEH) [26-27]. La chute de potentiel

entre l'électrode et la solution dans ce cas est linéaire et l'interface est équivalente du point de vue électrique à un condensateur plan parallèle.

Une troisième région qui s'étend du plan externe de HELMOLTZ jusqu'au sein de l'électrolyte est appelée couche diffuse. Cette couche, comprend les ions non spécifiquement adsorbés. Cette couche diffuse est comparable à la zone de charge d'espace des MOSFETs ; l'extension de cette couche dépend du potentiel et de la concentration en ions de l'électrolyte.

A partir de ce modèle, il a été montré que le champ électrique était constant et que le potentiel variait linéairement dans la couche compacte. La capacité de ce système est donc équivalente à la mise en série de la capacité de la couche diffuse et de la capacité de la couche compacte.

IV.4.2. Interface Electrolyte/Isolant/Silicium (EIS)

Dans la pratique, la sensibilité au pH mesurée par un ISFET est inférieure à la valeur prédite par la loi de NERNST. Un phénomène chimique propre aux membranes sensibles formées à partir de couche de SiO_2 est responsable de cette dérive. Il n'y a plus d'équilibre thermodynamique entre les ions dans l'isolant et les ions dans l'électrolyte, par conséquent la loi de NERNST n'est plus applicable. La théorie du site-binding, inspirée des travaux de BOUSSE, explique le procédé qui se produit à l'interface isolant-electrolyte [26-27]. Ce modèle considère les groupes Si-OH sur la couche d'oxyde comme des centres actifs dont la charge varie proportionnellement aux ions présents à la surface de l'ISFET. Ces centres actifs sont responsables de la formation de la double couche électrique décrite par la théorie de GOUY-CHAPMAN-STERN et donne le potentiel à l'interface oxyde-électrolyte.

Les ions H^+ et OH^- , présents dans une solution aqueuse sont appelés « ions déterminants le potentiel ». Ces ions sont responsables de l'état de charge à l'interface SiO_2 /électrolyte. Au contact de la solution aqueuse des groupements de silanol (SiOH) se forment à la surface de l'isolant. Ces groupements peuvent être, suivant le pH de la solution, chargés positivement, chargés négativement ou neutres. Le pH particulier pour lequel la surface de la membrane a zéro charge est appelé « pH au point de charge nulle » pH_{pcn} . La présence de ces groupements de charges amène une correction à l'équation de NERNST habituellement utilisée en électrochimie.

La figure (I.9) illustre les trois différents types de groupements silanols à la surface d'une membrane.

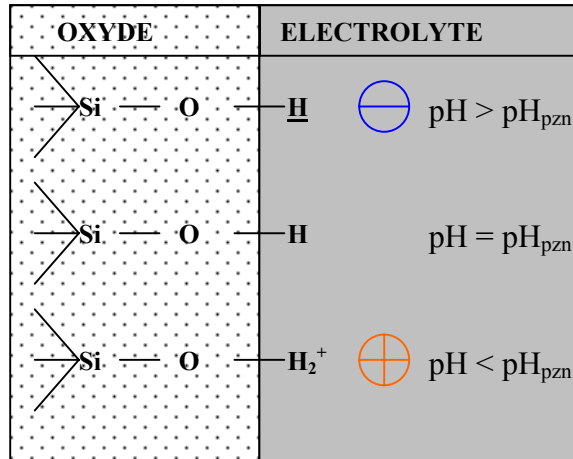
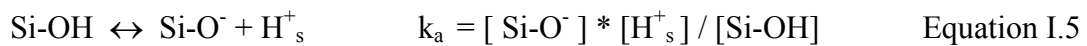


Figure I.9 : Représentation des groupements silanols à la surface d'une membrane EIS.

La manière la plus simple de calculer la relation reliant la différence de potentiel entre la surface de l'isolant et l'électrolyte (ϕ_0) et la charge de surface de l'isolant (σ_0) est d'utiliser les constantes d'équilibres k_a (constante d'acidité) et k_b (constante de basicité) des réactions de dissociation des sites hydroxyles amphotères.



$[\text{H}_s^+]$ représente la concentration en ions H^+ à la surface de l'isolant

$[\text{H}^+]$ représente la densité des ions H^+ dans l'électrolyte

La distribution des ions H^+ dans l'électrolyte est décrite à l'aide de la statistique de Boltzmann :

$$[\text{H}_s^+] = [\text{H}^+] e^{(-q \psi / kT)} \quad \text{Equation I.7}$$

La théorie du site-binding permet ainsi de montrer que :

$$[\text{H}_s^+] = (k_a / k_b)^{1/2} e^{(-q \psi / kT)} F(\psi) \quad \text{Equation I.8}$$

Chapitre 1

En prenant le logarithme de l'expression [I.8] on trouve :

$$-pH = \log(k_a/k_b)^{1/2} + q\psi / kT(\ln 10) + \log(F(\psi)) \quad \text{Equation I.9}$$

La dérivée de l'expression [I.9] montre que :

$$\psi + G(\psi) = (\ln 10) kT / q + (pH_{pcn} - pH) \quad \text{Equation I.10}$$

avec :

$$G(\psi) = kT / q \operatorname{argsh}(\psi / \beta) \quad \text{Equation I.11}$$

En résolvant l'équation précédente et en considérant le pH au point de charge nulle pH_{pcn} , le facteur significatif de la qualité de l'interface β et de la capacité de la couche de Stern (C_s), il a été montré [25-26] que le pH et ψ étaient liés par la relation suivante :

$$\psi = 2,3 \frac{kT}{q} \frac{\beta}{\beta + 1} (pH_{pzc} - pH) \quad \text{Equation I.12}$$

avec

$$\beta = \frac{2q^2 N_s}{\left(\frac{Ka}{Kb}\right)^{1/2} C_s kT} \quad \text{Equation I.13}$$

Le terme correctif β rend compte de la sensibilité finale ; ce terme est fonction de l'équilibre acide-base relatif aux réactions de surface, du nombre total de sites amphotères à la surface de l'isolant N_s , et de la capacité de la double couche (C_s).

La sensibilité de l'ISFET est alors définie par la relation suivante :

$$S = d\psi/dpH = 2,303 (kT/q) \beta / (\beta + 1) \quad \text{Equation I.14}$$

Pour un bon oxyde ($\beta \gg 1$), à $T=300K$, la sensibilité est Nernstienne ($S= 59,9mV/dec$).

IV.5. Méthode de mesure

Le principe de mesure est le suivant : la valeur du courant de drain (I_{ds}) est maintenue constante à une valeur I_0 au moyen d'un asservissement électronique. Si la valeur du pH de la solution change, la tension de seuil de l'ISFET (V_t) change ainsi que le courant de drain. La rétroaction électronique rajuste la tension fixée par l'électrode de référence de telle manière que le courant de drain soit maintenu constant à la valeur I_0 . L'écart entre la nouvelle tension de grille (V_{pH2}) et l'ancienne (V_{pH1}) est proportionnelle à la variation de pH (figure I.10).

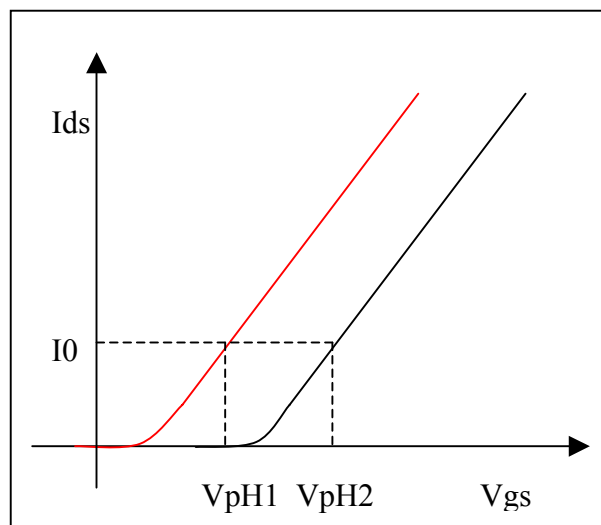


Figure I.10 : Réponse au pH d'un capteur ISFET. Variation de la tension de seuil pour des mesures $I_{ds}(V_{gs})$ effectuées dans deux solutions différentes.

Ainsi, la sensibilité au pH est déterminée de la manière suivante :

$$S = d\psi/dpH = (V_{pH2} - V_{pH1}) / (pH_2 - pH_1) \quad \text{Equation I.15}$$

V. Avantages et inconvénients des ChemFETs.

V.1. Avantages des ChemFETs

L'ISFET combine les avantages des électrodes sensibles conventionnelles ISE (Ion Selective Electrode) et de la microélectronique. Il présente ainsi une meilleure robustesse comparée aux capteurs type électrode, une taille réduite, une réponse rapide, une résistance de sortie faible et un coût de revient bas.

Dans la plupart des applications, la couche sensible chimiquement est déposée directement sur le silicium à l'emplacement de la grille et permet la détection de charges. Nous citerons parmi les différents ions qui font l'objet d'études les ions potassium K^+ , sodium Na^+ , chlore Cl^- , calcium Ca^{2+} , fluor F^- ... mais surtout l'ion hydrogène H^+ . En effet, le potentiel hydrogène (pH) est l'une des mesures de laboratoire les plus courantes, de nombreux procédés chimiques étant tributaires du pH y compris dans l'industrie. La rapidité ou les conditions de réactions chimiques peuvent être modifiées de manière importante par un changement de pH dans la solution. La solubilité de nombreux produits chimiques en soluté et leur biodisponibilité dépendent du pH. La chimie physiologique des organismes vivants a généralement des limites de pH très spécifiques. De nos jours, pratiquement tout ce que nous utilisons a été analysé par son pH à un moment ou à un autre : l'eau du robinet, les aliments, les médicaments ont tous été soumis à une prise de mesure du pH à un moment de leur conditionnement.

Dans le domaine de l'environnement, l'utilisation du capteur pH présente l'avantage d'être plus simple d'utilisation et permet ainsi de gagner du temps comparé aux méthodes standards de mesure de nutriments dans le sol par exemple qui demandent normalement une étape d'extraction et de prétraitement [28]. Citons, d'autre part, l'exemple de l'analyse de l'eau de pluie qui est un outil prédominant dans l'étude des dépôts atmosphériques des composés de l'environnement. Un simple échantillon de 20ml est nécessaire à la détermination des différents composés.

Outre les avantages communément cités de ce type de capteur (faible coût de production, faible consommation électrique, taille réduite, rapidité et simplicité d'utilisation, possibilité de système multi capteurs), le ChemFET présente comme immense avantage, la possibilité de détecter différents types d'espèces aussi variés que les ions, les protéines ou les bactéries en ne modifiant que la couche sensible. Une structure générique de type ISFET pourra donc être adaptée en ENFET, IMMUNOFET, BIOFET...

Le capteur enzymatique (ENFET) utilise des enzymes qui sont immobilisées sur l'isolant de grille de la structure ENFET. Ces enzymes interagissent avec le substrat pour effectuer une catalyse (oxydoréductase). Le ChemFET mesure alors la concentration en ions H^+ libérée lors de cette réaction [29-32].

Le capteur immunologique (IMMUNOFET) permet la détection de molécules organiques. Nous citerons la détection de protéines par réaction antigène-anticorps. De façon semblable, la détection se fait par variation de potentiel à l'interface isolant-électrolyte [33-35].

Un type particulier d'immunocapteur est le **BioFET** [36]. Il peut être classifié parmi les ImmunoFETs puisqu'il utilise l'immobilisation de molécules biochimiques et biologiques spécifiques sur l'isolant de grille. Son champ d'action couvre les espèces chimiques que l'on retrouve dans l'analyse clinique : une demande croissante pour le développement de biocapteurs miniaturisés et de faible coût pour les travaux de routine en laboratoire a participé à son essor. Le BioFET présente en outre la perspective du capteur qui pourrait être implanté dans le corps humain.

V.2. Inconvénients des ChemFETs et solutions proposées

Les capteurs chimiques de type ChemFET actuellement disponibles sur le marché offrent de sérieux désavantages, notamment au niveau de l'encombrement, de la complexité du procédé technologique et de la sélectivité. En effet, l'utilisation d'une électrode de référence ne permet pas l'intégration des capteurs. Le procédé d'isolation par du nitrure est particulièrement délicat à réaliser et les valeurs mesurées sont perturbées par le milieu extérieur ainsi que par les éléments interférents de la solution aqueuse. D'autre part, l'originalité de ces capteurs s'appuie sur la présence d'une couche biologiquement sensible devant être déposée en respectant à la fois les techniques de fabrication collective ainsi que l'intégrité des entités biologiques éventuellement présentes dans le système. Afin d'optimiser les capteurs ChemFETs, des recherches doivent être entreprises dans le domaine de la biochimie pour résoudre bon nombre de problèmes tels que :

- les restrictions et les limites de détection dans la gamme de mesure,
- la dépendance vis à vis de la technologie d'immobilisation des enzymes et le contrôle des paramètres de la couche enzymatique,
- la stabilité de fonctionnement et de stockage des capteurs.

L'objectif de notre étude a donc été dans un premier temps de réaliser une nouvelle génération de capteurs chimiques en développant d'une part, une nouvelle structure basée sur le principe du ChemFET-ReFET avec une électrode en or intégrée et un caisson d'isolation implanté. Le principe de cette méthode, consiste à utiliser deux transistors à effet de champ identiques et une électrode métallique standard insérés sur une seule et même puce. La membrane du ChemFET est sensible à l'élément à détecter alors que celle du capteur de référence ReFET est insensible à cet élément. Une mesure différentielle permet alors de s'affranchir des problèmes d'électrode de grille non idéale, des problèmes de dérives

inhérents aux transistors. La détection d'une charge électrique pouvant difficilement séparer les influences d'ions similaires, il sera à terme nécessaire d'associer au dispositif un système multi-capteurs et un traitement des données.

Le laboratoire d'Ingénierie et Fonctionnalisation des Surfaces (IFOS), associé à nos travaux a en charge les études relatives aux matériaux chimiquement sensibles en proposant de nouvelles techniques pour immobiliser les enzymes. Cette technique, associée aux dispositifs destinés à la microélectronique, a permis de réaliser des couches sensibles de manière collective, très minces (sensibilité) et très adhérentes (stabilité).

VI. Utilisation des ChemFETs dans le cadre de l'hémodialyse.

Dans le domaine des analyses médicales et notamment de l'hémodialyse, les quatre paramètres essentiels à détecter en plus du pH sont : les ions sodium Na^+ et potassium K^+ , ainsi que l'urée et la créatinine. Nous présenterons dans les chapitres suivants les résultats de nos recherches ainsi que les membranes et les techniques employées pour la détection de ces éléments. A notre connaissance, aucune de ces recherches n'a été industrialisée à ce jour.

VI.1. Détection des ions sodium et potassium

Pour la détection de l'ion sodium Na^+ , plusieurs membranes ont été envisagées. Elles peuvent être obtenues par l'incorporation des ionophores sélectifs tels que la monensine dans des membranes plastifiées [37]. La détection du potassium a été décrite pour la première fois par Moss *et al* [38]. Les membranes étaient réalisées à partir de PVC et des ionophores sélectifs tels que la valinomycine [39-43]. Malgré leur potentialité de détection du sodium, ces membranes organiques souffrent généralement de problèmes d'adhésion sur le diélectrique de l'ISFET. Un tel problème conduit à une limitation de la durée de vie du capteur. De plus un système multi-couche est nécessaire pour éviter les effets d'interfaces (piégeage d'ions) qui augmentent la dérive de l'ISFET [44]. Une alternative développée par l'IFOS semble extrêmement prometteuse. Cette technique basée sur les verres NAS permet d'obtenir des membranes sensibles très stables grâce à la technique d'implantation ionique [45-47]. Toutefois cette technique onéreuse, elle s'adresse principalement à d'autres marchés que l'hémodialyse (capteurs jetables).

Nous avons donc choisi de développer une troisième approche basée sur l'utilisation d'un polymère photosensible hydrophobe : le polysiloxane

VI.2. Détection de l'urée et de la créatinine

Des capteurs chimiques pour analyser l'urée et la créatinine ont été développés. Ce sont :

- un biocapteur à base de fibre optique,
- un capteur ampérométrique utilisant un système tri-enzyme,
- des capteurs potentiométriques sur des électrodes et sur un ENFET
- un capteur basé sur la mesure d'impédance,
- un biocapteur microcalorimétrique basé sur une paire de microcalorimètres en silicium.

Tous ces biocapteurs ont de sérieux désavantages tels que : une faible sélectivité pour le biocapteur ampérométrique et une difficulté de miniaturisation pour les électrodes à enzymes ; une faible sensibilité pour le biocapteur microcalorimétrique et le biocapteur à bases de fibre optique ; l'ENFET n'est pas reproductible et stable et nécessite une électrode de référence.

Les capteurs chimiques, que nous avons choisis de développer pour la détection de l'urée et de la créatinine sont des capteurs de type ENFET. Le principe de détection est basé sur la réalisation d'une couche enzymatique générant une réaction chimique au niveau de grille de l'ISFET. Cette réaction chimique induit une variation de pH que l'ISFET peut mesurer. De nombreux travaux de recherches ont été effectués et montrent de très bons résultats mais aucune application industrielle n'a encore vu le jour. Il a toutefois été démontré qu'un tel montage permet de mesurer la concentration en urée et en créatinine dans le sérum et dans le fluide de dialyse [48-53]. Le polymère que nous utilisons pour piéger les enzymes (uréase et créatinine deiminase) est le Polyvinyl alcool (PVA), ce polymère est photosensible, hydrophile est surtout très bon marché [54-56].

Chapitre II : Conception et réalisation technologique des capteurs

Chapitre 2 :

Chapitre 2 : Conception et réalisation technologique des capteurs chimiques ChemFETs

Introduction

Le développement industriel des capteurs chimiques nécessite une utilisation facile mais aussi et surtout un procédé de fabrication fiable, peu complexe et utilisant une technologie standard. L'évolution technologique des ISFETs ne s'est pas seulement faite par l'intermédiaire de la diversification des couches sensibles. La structure même du transistor à effet de champ a été optimisée afin de répondre aux exigences de la détection d'espèces en solution. Les capteurs chimiques de type ChemFET actuellement disponibles sur le marché offrent de sérieux désavantages, notamment au niveau de l'encombrement, de la complexité du procédé technologique et de la sélectivité. En effet, l'utilisation d'une électrode de référence ne permet pas l'intégration complète du principe de détection. Le procédé d'isolation par du nitrure est particulièrement délicat à réaliser et les valeurs mesurées sont perturbées par le milieu extérieur ainsi que par les éléments interférents de la solution aqueuse. L'objectif de ce projet est donc dans un premier temps de réaliser une nouvelle génération de capteurs chimiques en développant une nouvelle structure basée sur le principe du ChemFET-ReFET avec une électrode intégrée et un caisson d'isolation implanté.

La première partie des travaux de recherche, présentés dans ce chapitre, a consisté à élaborer un procédé de fabrication technologique générique et adaptable à tout type de capteurs chimiques de type ISFET. Les paramètres technologiques et le procédé de fabrication ont été validés à l'aide du logiciel de simulation technologique ATHENA™ et du logiciel de simulation électrique ATLAS™. Des composants de type ChemFET-ReFET en prenant en compte l'intégration sur le composant d'une électrode titane-or ont ensuite été réalisés dans la centrale technologique du LAAS-CNRS. La technologie retenue pour la fabrication des capteurs chimiques est une technologie de type planar. Elle utilise toutes les étapes de la fabrication de la technologie MOS (Metal Oxide Semiconductor). Chaque composant est ensuite reporté sur un circuit imprimé ; les connexions sont réalisées par des soudures en fil d'or (« wedge bonding ») et une encapsulation de type enrobage « glob-top » assure l'étanchéité du système.

En parallèle, une étude a été menée afin de développer un procédé de dépôt de la couche enzymatique entièrement compatible avec les techniques habituellement utilisées en salle blanche telles que le dépôt à la tournette ou encore les techniques de photolithographie. Pour cela nous avons choisi d'utiliser comme polymère un alcool polyvinylique standard (PVA) [1]. Ce développement a également suscité une étude puisque cette étape joue un rôle important dans la résolution des motifs obtenus.

I. Principe de l'ISFET-REFET

Le transistor ISFET planar a été la première structure étudiée par analogie avec le transistor à effet de champ MOSFET [2-4]. Dans cette technologie, le drain, la source et la grille qui représentent la région sensible sont placés sur la même face de la puce. Malgré la simplicité de cette structure, l'ISFET planar présente quelques limitations. La dérive des paramètres électriques et la difficulté de l'encapsulation sont les inconvénients majeurs de cette structure à cause du contact inhérent de la grille avec le liquide. Pour résoudre ce problème, diverses solutions ont été proposées et notamment des structures ISFETs où les contacts sont réalisés en face arrière. Plusieurs structures ont été proposées [5-9], toutefois la réalisation technologique est trop complexe pour être utilisée dans le cadre de transistors à faible coût de production. Nous avons donc choisi de conserver la technologie planar en y amenant quelques **améliorations**.

De plus, en vue de miniaturiser l'ISFET, il était nécessaire de réduire la taille de l'électrode de référence. Nous avons donc choisi d'intégrer une électrode en or sur la puce. Plusieurs travaux ont été réalisés dans ce domaine [10-12]. Cette électrode n'étant pas idéale, une structure de référence (REFET) pourra être associée à l'ISFET. Nous avons donc dirigé nos recherches vers la conception d'une structure ISFET-REFET avec électrode intégrée.

Le principe de cette méthode, consiste à utiliser deux transistors à effet de champ identiques et une électrode métallique standard insérés sur une même puce. La membrane de l'ISFET, est sensible à l'élément à détecter, alors que la membrane du REFET est insensible à cet élément.

Si $U(pX)$ mesure le potentiel des espèces chimiques présentes dans la solution et $U(pX_o)$ mesure le potentiel de ces mêmes espèces excepté l'espèce à détecter, alors la différence de ces deux mesures nous donne la valeur du potentiel de l'espèce à détecter.

$$\begin{aligned}
 U_{\text{ISFET}} &= U(\text{pX}) + U_{\text{dérive}} + U_{\text{électrode}} \\
 U_{\text{REFET}} &= U(\text{pX0}) + U_{\text{dérive}} + U_{\text{électrode}} \\
 U_{\text{ISFET}} - U_{\text{REFET}} &= U(\text{pX}) - U(\text{pX0})
 \end{aligned}$$

Une mesure différentielle, permet ainsi de s'affranchir de toutes les influences parasites telles que : les problèmes d'électrode de grille non idéale, les problèmes de dérives inhérents aux transistors ainsi que des problèmes de sélectivité.

C'est sur ce principe que seront réalisés nos capteurs chimiques de type : ISFET-REFET. Les figures II.1 et II.2 représentent le schéma de principe de la structure ISFET-REFET, selon une vue en coupe et une vue en trois dimensions (pour une meilleure lisibilité ces figures ont été reportées en couleur dans l'annexe III).

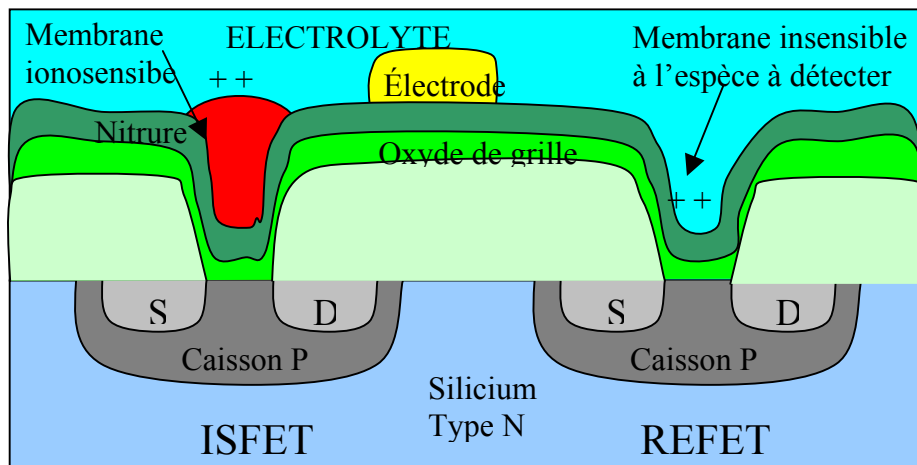


Figure II.1 : Vue en coupe d'une structure ISFET-REFET. Cette structure est composée d'une électrode intégrée et de deux transistors à effet de champs appariés réalisés sur des caissons d'isolation de type P.

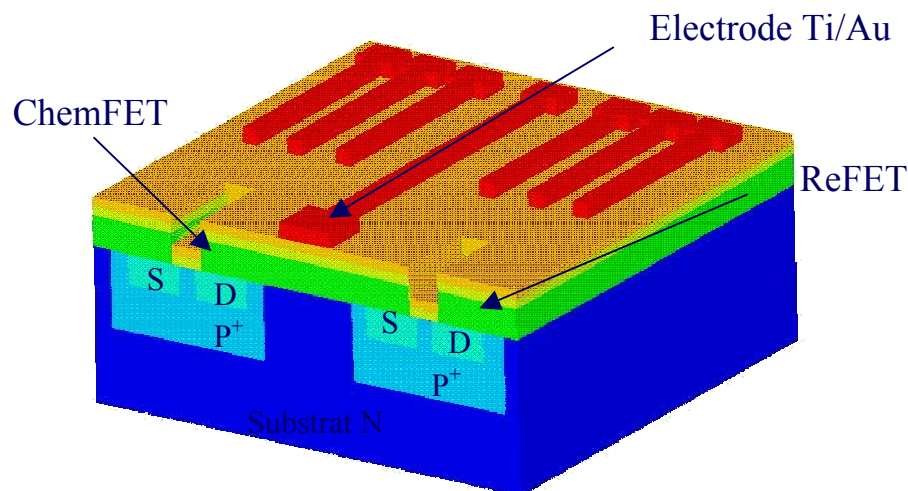


Figure II.2 : Schéma d'une vue en trois dimensions de la structure ISFET-REFET avec électrode intégrée et caissons d'isolation implantés.

II. Conception de l'ISFET

II.1. Etude théorique sur substrat de type P

Comme nous l'avons vu au chapitre précédent, le capteur chimique de type ISFET n'est rien d'autre qu'un transistor MOS, pour lequel la grille métallique a été remplacée par une électrode de référence, un électrolyte et une couche chimiquement sensible. Le piégeage des ions par cette couche sensible modifie la tension de seuil (V_T) du transistor à effet de champ. Il en résulte, pour une tension de grille (V_{GS}) fixée, une modification du courant dans le canal (I_{DS}). La variation de la tension de seuil peut être exprimée par la formule suivante [13-15]:

$$V_t = E_{ref} - \psi + \chi_{sol} - \frac{\phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{ox} + Q_{ss} + Q_b}{C_{ox}} + 2\Phi_f = V_{t0} - \psi \quad \text{équation II.1}$$

V_{t0} est fonction des paramètres technologiques du transistor.

ψ représente la différence de potentiel entre la solution et la membrane. Ce terme, fonction de l'activité de l'ion à mesurer, adapte la loi de NERNST aux structures de types ISFET.

$$\psi \approx 2,3 \frac{kT}{q} (pH_{pzc} - pH) \quad \text{équation II.2}$$

Le composant ISFET se compose donc de deux parties : un transistor conventionnel et une couche sensible. La conception du composant impose donc de se fixer un certain nombre de paramètres, tels que la tension de seuil et la transconductance. Pour appréhender le comportement du composant, il semble capital de partir des équations fondamentales régissant le fonctionnement d'un transistor MOS [16]:

Equation du courant drain-source en régime de saturation :

$$I_{DSat} = \frac{1}{2} \frac{W}{L} \mu_n C_{iso} (V_g - V_t)^2 \quad \text{équation II.3}$$

Equation de la tension de seuil V_t :

$$V_{t1} = V_{fb} + 2\phi_f + \frac{1}{C_{iso}} \sqrt{(2q\epsilon N_a (2\phi_f))} \quad \text{équation II.4}$$

avec :

$$V_{fb} = \frac{Q_{ss}}{C_{ox}} - \frac{1}{C_{ox}} \left(\int (x\rho dx) \right) + \Phi_{ms} \quad \text{équation II.5}$$

et :

$$\varphi_f = Ut \ln\left(\frac{N_a}{ni}\right) \quad \text{équation II.6}$$

Les paramètres technologiques importants, sur lesquels on peut jouer sont finalement :

- la concentration sous le canal : N_a ,
- la capacité de l'oxyde de l'isolant de grille : C_{iso} ,
- la longueur de grille développée : W ,
- la longueur de grille L .

II.2. Cahier des charges de la structure réelle

L'objectif de nos travaux de recherche a pour finalité, la commercialisation par la société HEMODIA, déjà très implantée dans le domaine de l'hémodialyse, d'un produit dont le cœur est un capteur chimique de type ISFET. Les premiers concepts et éléments ont été étudiés par le laboratoire LAAS-CNRS et font l'objet de ce mémoire.

Dès le départ, nous avons du prendre en considération les impératifs suivants :

- coût de production réduit,
- faible consommation électrique,
- fiabilité et solidité,
- faible dimension,
- rapidité et simplicité d'utilisation.

Le transistor ISFET planar a déjà fait l'objet d'une étude au LAAS-CNRS [17-20]. Son analogie avec le transistor à effet de champ MOSFET permet de concevoir et de mettre au point un procédé technologique simple à coût de production réduit. Toutefois, malgré la simplicité des structures précédemment réalisées au LAAS-CNRS, il nous fallait améliorer l'architecture et le procédé technologique. D'une part, l'étape de discrétisation, qui consistait à prédécouper les composants à l'aide d'une gravure profonde, est inadaptée à une production

industrielle, du fait de sa complexité de mise en œuvre et de la fragilité des plaquettes. D'autre part, la faible durée de vie et la dérive des paramètres électriques sont les inconvénients majeurs de cette structure à cause du contact inhérent de la grille avec le liquide.

Pour résoudre ce problème, nous avons donc utilisé un caisson d'isolation analogue au caisson de type Pwell utilisé en technologie conventionnelle CMOS. Les paramètres d'implantation de ce caisson et le recuit de diffusion imposeront les nouveaux paramètres technologiques tels que la tension de seuil, les courants de fuite et la transconductance.

Enfin, en vue de miniaturiser le capteur chimique nous avons donc choisi d'intégrer une électrode en or sur la puce. Cette électrode n'étant pas idéale, nous avons décidé de réaliser deux architectures différentes : la première consiste en une structure ISFET simple ; la taille de la puce fait 2,5 mm x 2,5 mm ; la deuxième architecture est une structure ISFET-REFET avec électrode intégrée dont les dimensions de la puce font 5 mm x 5 mm. Ces dimensions pourront, dans l'avenir être considérablement diminuées et ainsi faire chuter le coût du composant.

Les spécifications pour les composants seront donc les suivantes :

- caisson implanté (Pwell),
- courant de fuite : $I_{\text{off}} < 1 \mu\text{A}$,
- tension de seuil $V_T \approx 1.5 \text{ V}$,
- faible dérive et durée de vie supérieure à deux mois,
- courant nominal : $I_{\text{on}} > 100 \mu\text{A}$.

II.3 Détermination des paramètres technologiques & Simulations

II.3.1. Choix de la grille

Les caractéristiques de l'isolant de grille ont été fixées par l'IFOS, dans le cadre du développement des couches sensibles. Le choix du matériau sensible s'est porté sur le nitrure car ses propriétés sont bien connues. Ce matériau est un bon passivant, sensible au pH, qui résiste à l'hydratation. De plus il est adapté aux technologies MOS. Le pH_{pzc} du nitrure est estimé aux environs de 4 [19,20]. Ainsi, V_T sera égale à V_{T0} pour une solution de pH égale à 4 (équation II.2). La capacité totale se compose de la mise en série de deux capacités. La première capacité rend compte d'une couche d'oxyde épaisse de 50nm et la deuxième

Chapitre 2

capacité est due à une couche de nitrure épaisse de 50 nm. Dans la littérature, cette épaisseur varie généralement de 50 à 100 nm pour l'oxyde de silicium et de 50 à 100 nm pour le nitrure [13-15]

Pour une épaisseur de 50 nm d'oxyde ($\epsilon_r = 3,82$) :

$$C_{OX} = 67,6 \text{ nF/cm}^2$$

Pour une épaisseur de 50 nm de nitrure ($\epsilon_r = 7,8$) :

$$C_{Ni} = 138 \text{ nF/cm}^2$$

Pour une épaisseur de 50 nm d'oxyde + une épaisseur 50 nm de nitrure :

$$C_{iso} = 45,4 \text{ nF/cm}^2$$

Nous considérerons donc par la suite que la capacité équivalente C_{iso} a donc une valeur de **45 nF/cm²**

II.3.2. Détermination de la tension de seuil pour un substrat de type P

La concentration surfacique (N_A) au niveau du canal est le paramètre essentiel permettant de fixer la tension de seuil V_T . Des valeurs de V_T ont été calculées à l'aide de la formule II.4, en fonction de différents substrats uniformément dopés (N_A).

Les différentes valeurs permettant le calcul de V_T , calculées, avec le tableur Excel, sont reportées dans le tableau ci-dessous.

N_A	Φ_f	V_{FB}	V_T ($C_{ox}=67\text{nF}$)	V_T ($C_{iso}=45\text{nF}$)
1E+15	0,29	0,09	0,89	1,01
1E+16	0,36	0,03	1,45	1,85
1E+17	0,42	-0,03	3,21	4,56
1E+18	0,48	-0,08	8,98	13,58

Tableau II.1 : Calcul des tensions de seuil pour deux types de capacité d'isolant en fonction des concentrations surfaciques.

Le graphe II.3 montre la valeur de la tension de seuil V_T en fonction de la concentration de bore en surface dans le cas où l'isolant de grille se compose d'une couche d'oxyde de silicium et d'une couche de nitrure. Cette concentration est considérée comme uniformément répartie sous la grille.

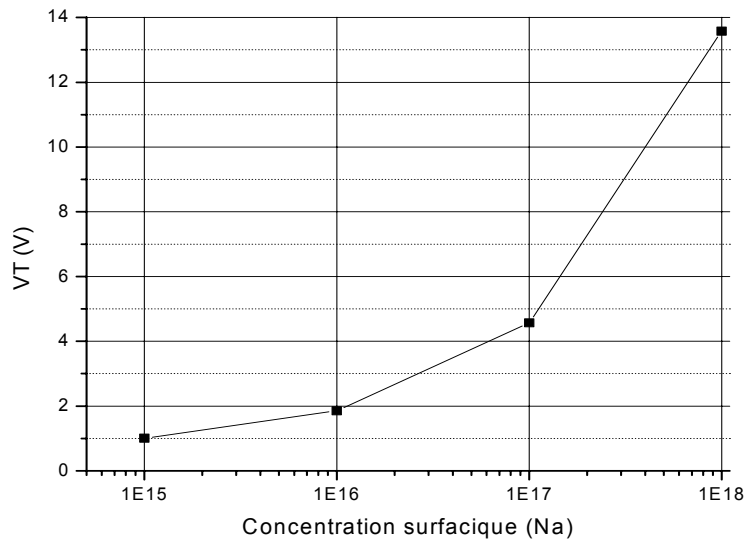


Figure II.3 : Evolution de la tension de seuil (cas d'une capacité d'isolant composée de 50 nm de SiO_2 et de 50 nm de Si_3N_4) en fonction de la concentration en surface.

Donc pour avoir une tension de seuil (V_T) de 1,5 Volt, il est théoriquement nécessaire d'obtenir une concentration en surface de $5 \cdot 10^{15}$ atomes / cm^3 .

II.3.3. Etude de la concentration surfacique (Na) en fonction de l'implantation

La technique d'implantation ionique consiste à communiquer une accélération électrostatique suffisante à des ions d'impuretés choisis afin de les faire pénétrer « en force » sur une certaine distance à l'intérieur d'un substrat. Une implantation est généralement suivie d'une étape thermique permettant non seulement de redistribuer profondément et d'activer électriquement les atomes de bore implantés dans le silicium mais aussi de corriger les défauts cristallins créés par l'implantation ionique.

Le logiciel de simulation de process ATHENA™ [21] a été utilisé pour déterminer les concentrations surfaciques de bore en fonction de la dose implantée et des recuits sur des substrats dopés au phosphore et ayant des concentrations uniformes de $1 \cdot 10^{13}$, $1 \cdot 10^{14}$ et $1 \cdot 10^{15}$ atome/ cm^3 . ATHENA™ est un logiciel de simulation bidimensionnelle du procédé de

fabrication des dispositifs à semi-conducteurs. Il utilise les modèles physiques qui décrivent les procédés thermiques et leurs évolutions et permet à l'utilisateur de s'adapter aux résultats expérimentaux en ajustant certains des coefficients ou paramètres des modèles. Dans cette analyse nous avons tenu compte de l'épaisseur d'oxyde de pré-implantation, des paramètres liés à l'implantation (dose et énergie) et des recuits de redistribution (les recuits sont détaillés dans la partie III : Description du procédé de fabrication ISFET).

Les allures des concentrations et de la tension de seuil en fonction des doses implantées sur différents types de substrat obtenues sont reportées sur les figures II.4.

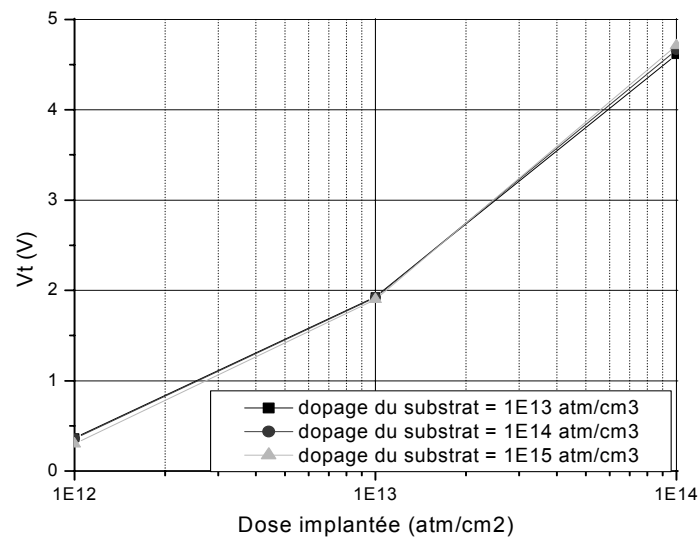


Figure II.4 : Variation de la tension de seuil (pour des substrats ayant des concentrations uniformes de 10^{13} , 10^{14} et 10^{15} atm/cm^3) en fonction des doses implantées.

Ainsi pour obtenir une tension de seuil de 1,5 Volt, il est nécessaire d'implanter une dose de Bore de $5 \cdot 10^{12} \text{ atm/cm}^2$. Nous pouvons aussi observer sur la figure II.4, que le dopage du substrat n'a qu'une légère influence sur les concentrations implantées en surface.

II.3.4. Choix du substrat

La résistivité de la plaquette influence sur la profondeur de jonction. Nous visons une profondeur de jonction pour le caisson de type p deux fois supérieure à la profondeur de jonction des caissons source et drain. La profondeur de jonction visée pour les caissons source-drain étant de l'ordre de $2,5 \mu\text{m}$, il faudra avoir une profondeur de jonction pour une dose implantée de $5 \cdot 10^{12} \text{ atm/cm}^2$, supérieure à $5 \mu\text{m}$. Grâce au logiciel de simulation

ATHENA™, nous avons estimé les profondeurs de jonction en fonction des doses implantées, pour différents substrats. Le choix du substrat s'est porté sur les plaquettes ayant une concentration uniforme de 10^{13} atm/cm³. De plus, les plaquettes de forte résistivité augmenteront l'isolation électrique du composant.

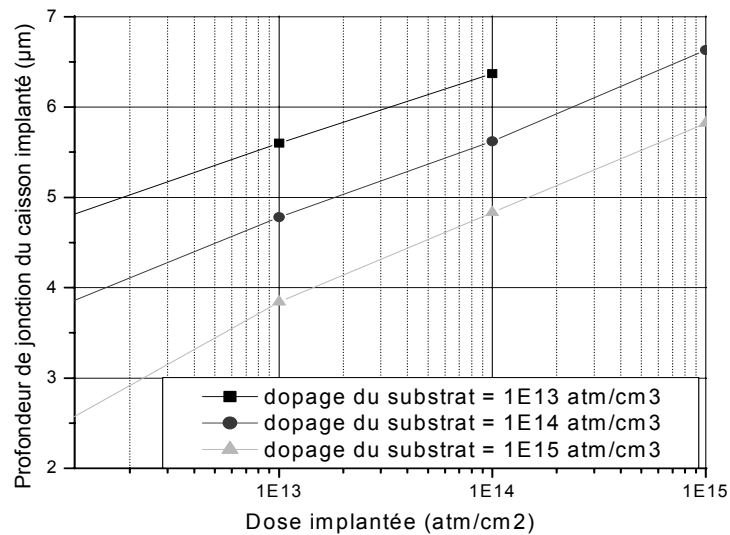


Figure II.5: Variation des profondeurs de jonction (pour des substrats ayant des concentrations uniformes de 10^{13} , 10^{14} et 10^{15} atm/cm³) en fonction des doses implantées.

Nous avons donc choisi des plaquettes standards de type N orientées <100>, ayant une résistivité de 4 Ω.cm ($N_d = 10^{13}$ at.cm³) et une épaisseur de 525 μm.

II.3.5. Optimisation des contacts P+ et N+

La réalisation des contacts N+ et P+ étant obtenue par implantation ionique, le logiciel ATHENA a ici aussi permis d'ajuster les bilans thermiques et d'obtenir ainsi les caractéristiques suivantes :

- Diffusion N+ :
 - Concentration d'arsenic en surface : $C_s = 5.10^{19}$ atm/cm³
 - Profondeur de jonction : $X_j = 2\mu\text{m}$
- Diffusion P+ :
 - Concentration de bore en surface : $C_s = 1.10^{19}$ atm/cm³
 - Profondeur de jonction : $X_j = 5\mu\text{m}$

II.3.6. Détermination des paramètres géométriques de la grille

La longueur de grille (L) est limitée par les diffusions latérales et la distance de résolution minimale de l'aligneur utilisé (pour l'aligneur MA 150 cette résolution est de 5 μm). La valeur de la diffusion latérale a été estimée à 1,5 μm , grâce au logiciel de simulation ATHENA™ (voir figure II.6). Cette valeur devra être prise en compte pour apprécier la longueur réelle du canal.

$$L = L_{\text{masque}} - 2 * \Delta x_j = 2 * 1.5 = 3 \mu\text{m}.$$

Avec : L_{masque} : longueur désirée et Δx_j : diffusion latérale

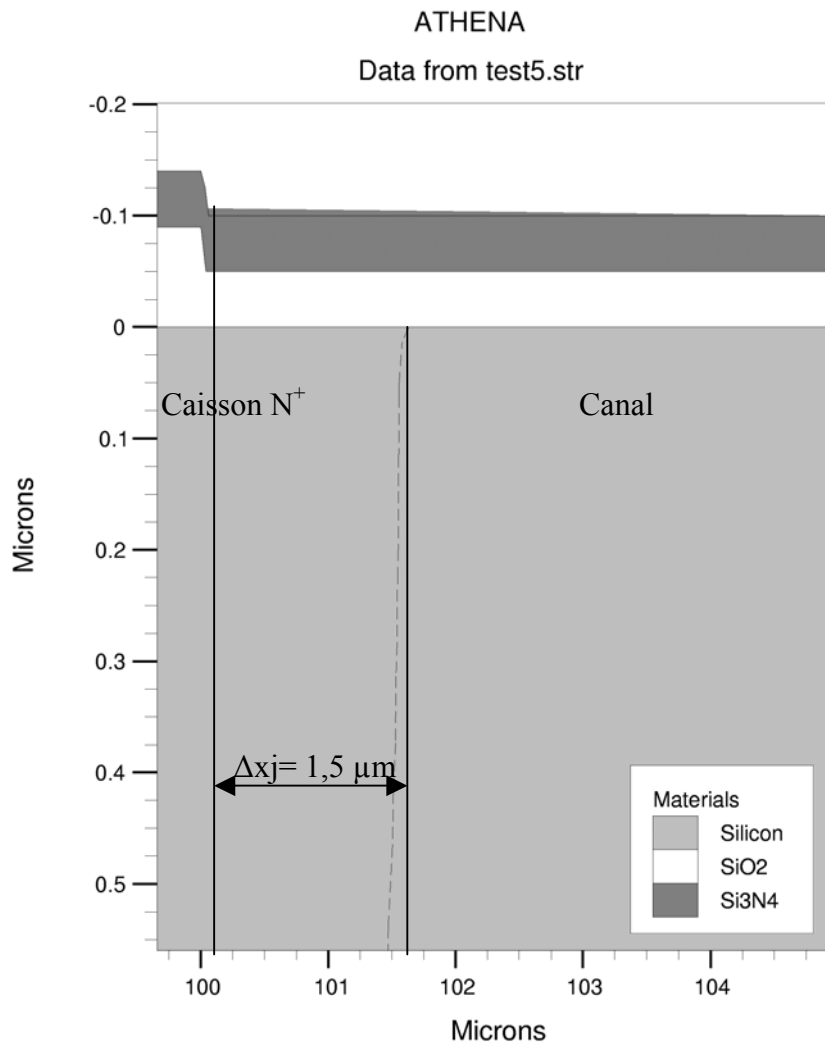


Figure II.6 : Analyse de la diffusion latérale des caissons source et drain.

La plupart des composants ISFETs dont les dimensions sont mentionnées dans la littérature ont une longueur de grille de 20 μm [13-15]. Comme nous ne connaissons pas le futur comportement de la résine enzymatique, nous avons choisi de doubler cette dimension, pour notre procédé technologique, afin d'augmenter la zone de réaction et ainsi de minimiser les erreurs dues à une éventuelle saturation des enzymes, à une mauvaise définition des motifs photolithographiés ou à un décalage des couches superposées.

La longueur de canal théorique de notre transistor sera donc de 40 μm , la longueur réelle, tenant compte des diffusions latérales sera finalement de l'ordre de 37 μm .

Le rapport W/L fixera la valeur du courant drain-source I_{DS} (équation II.3). Nous désirons travailler avec des faibles tensions d'alimentation. Afin d'être compatible avec les technologies CMOS et TTL, nous viserons une tension d'alimentation comprise entre 3 et 5 Volts. Nous désirons, de plus obtenir un courant de saturation de l'ordre de 1 mA (immunité au bruit radiofréquences) pour des tensions V_{Dsat} et V_{GS} égales à 4 Volts.

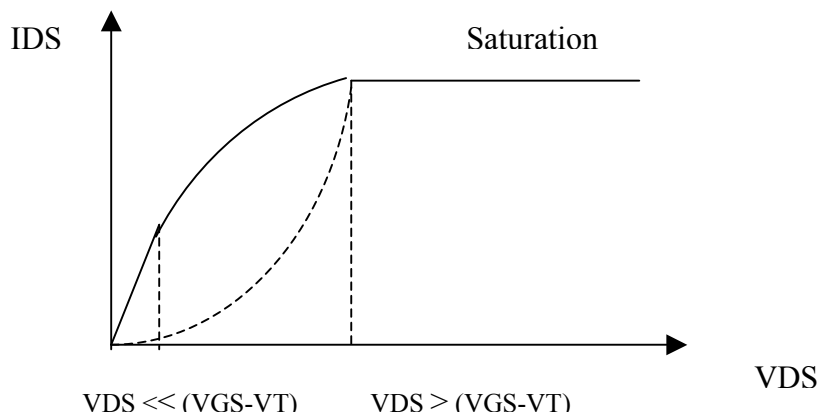


Figure II.7 : Caractéristique de transfert I_{ds} (V_{ds}) d'un transistor NMOS; mise en évidence de deux régions de fonctionnement (zone ohmique et zone de saturation).

La longueur développée peut donc être calculée par l'équation II.3 :

$$I_{DSat} = (K_p \cdot W / 2L) (V_{GS} - V_T)^2$$

Avec $K_p = \mu_n C_{iso} = 1,35 \cdot 10^{-5} \text{ A/V}$; $\mu_n = 300 \text{ cm}^2/\text{V.s}$; $L = 40 \text{ }\mu\text{m}$ et $(V_{GS} - V_T) = 2,5 \text{ V}$

Le calcul de cette expression, avec les valeurs précédemment définies, nous amène à une longueur développée de l'ordre de 950 μm . En fixant arbitrairement un rapport $W/L = 20$, nous avons finalement opté pour une longueur développée de 800 μm .

La transconductance en régime de saturation (g_{msat}) est alors donnée par l'équation II.7

$$g_{msat} = \frac{\partial I_{ds}}{\partial V_{gs}} = \frac{W}{L} \mu_n C_{iso} (V_g - V_t) \quad \text{équation II.7}$$

La transconductance calculée aura donc une valeur de $6,75.10^{-4} \text{ A/V}^2$.

II.3.7. Tableau récapitulatif des paramètres simulés

Ces paramètres se rapportant au caisson d'isolation (pwell) sont définis pour un substrat de type N dopé à $1.10^{13} \text{ atm/cm}^3$

Paramètres de la grille :

$L=40 \text{ }\mu\text{m}$;

$W=800\mu\text{m}$;

épaisseur d'oxyde = 50 nm ;

épaisseur du nitrure = 50 nm.

Paramètres du transistor :

	$C_{iso} \text{ (nF/cm}^2\text{)}$	$N_A \text{ (atom/cm}^3\text{)}$	$V_T \text{ (V)}$	Tension d'alimentation
Substrat : $1.10^{13} \text{ atm /cm}^3$	45	5.10^{15}	1.5	< 5 V

Tableau II.2 : Résumé des paramètres fixés pour la conception du transistor.

II.3.8. Simulation du procédé technologique (ATHENA™) :

Le procédé technologique a été élaboré puis validé par des simulations à l'aide du logiciel ATHENA™. Les étapes cruciales du procédé, telles que les oxydations, les implantations et les diffusions ont ainsi été optimisées. Le fichier utilisé a permis notamment d'ajuster et d'affiner les paramètres d'implantations (doses à implanter et énergies) en fonction des oxydes de préimplantation et de la totalité des recuits de diffusion. Les graphes suivants rendent compte des variations des concentrations de bore et d'arsenic au cours du procédé technologique (figures 6 et 7) et permettent de finaliser le procédé dans son intégralité. Ainsi, afin d'obtenir une tension de seuil de 1,5 V, des profondeurs de jonction désirées et une bonne activation électrique des dopants, les paramètres ont été ajustés en fonction des étapes non prises en compte dans la conception initiale telles que les différentes oxydations. Sur la figure II.8, nous pouvons suivre l'évolution du procédé technologique sur

une demi-structure. Le graphe II.8.a montre le profil de diffusion du bore après le recuit, le graphe II.8.b montre le profil de diffusion du bore et d'arsenic juste après l'implantation d'arsenic et avant le recuit sous ambiance oxydante, le graphe II.8.c montre le profil de diffusion du bore et d'arsenic après le recuit sous ambiance oxydante, enfin, le graphe II.8.d montre le profil final après métallisation. Pour une meilleure lisibilité les figures II.8 et II.9 ont été reportées en couleur dans l'annexe I)

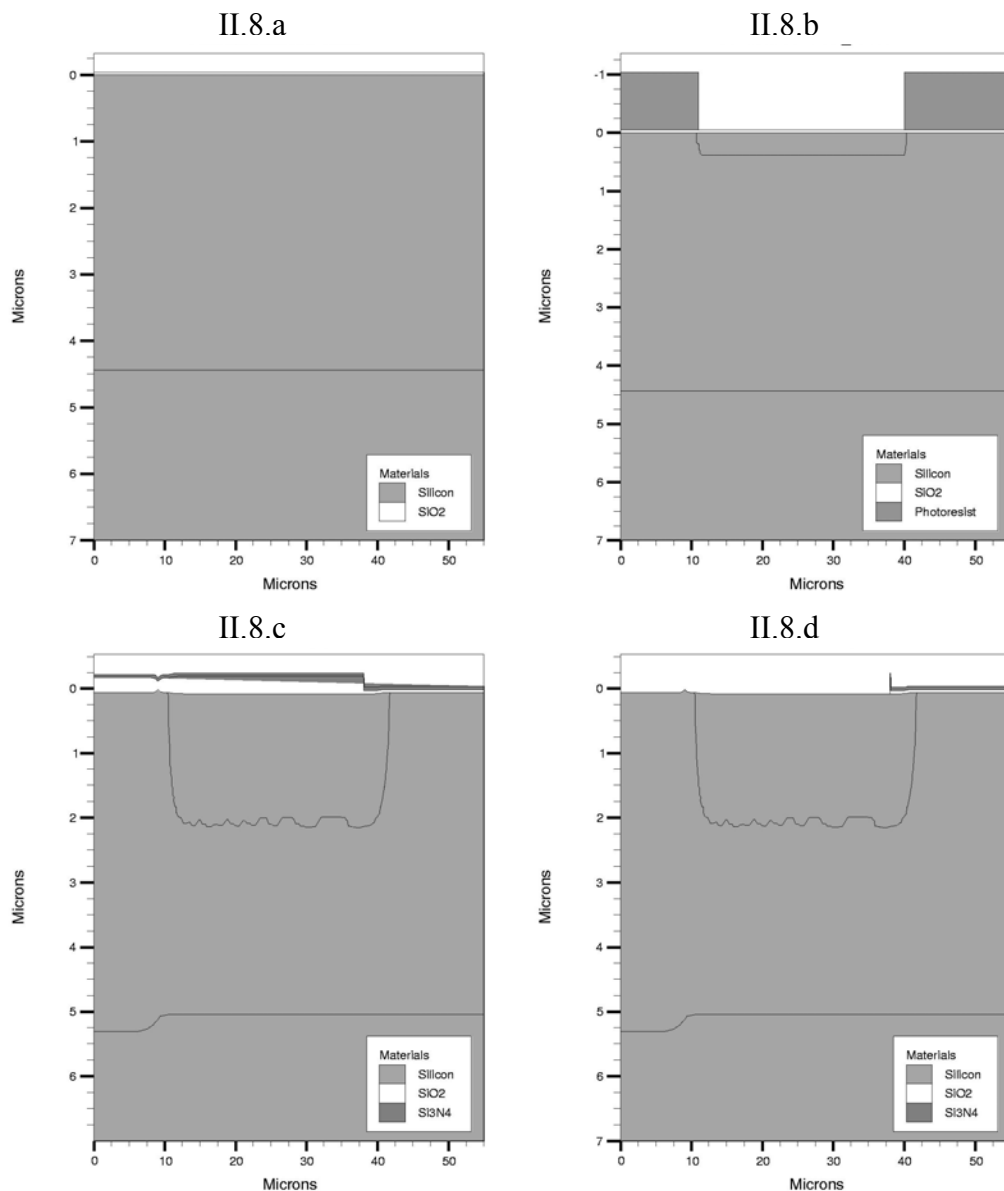


Figure II.8: Evolution des zones implantées (caissons type P et type N) au cours du procédé technologique; mise en évidence de la redistribution des dopants.

La figure II.9 rend compte de la structure complète, pour laquelle, l'oxyde de champs a été artificiellement enlevé afin de limiter les temps de simulations. Toutefois, lors de la simulation, nous avons pris en compte toutes les redistributions.

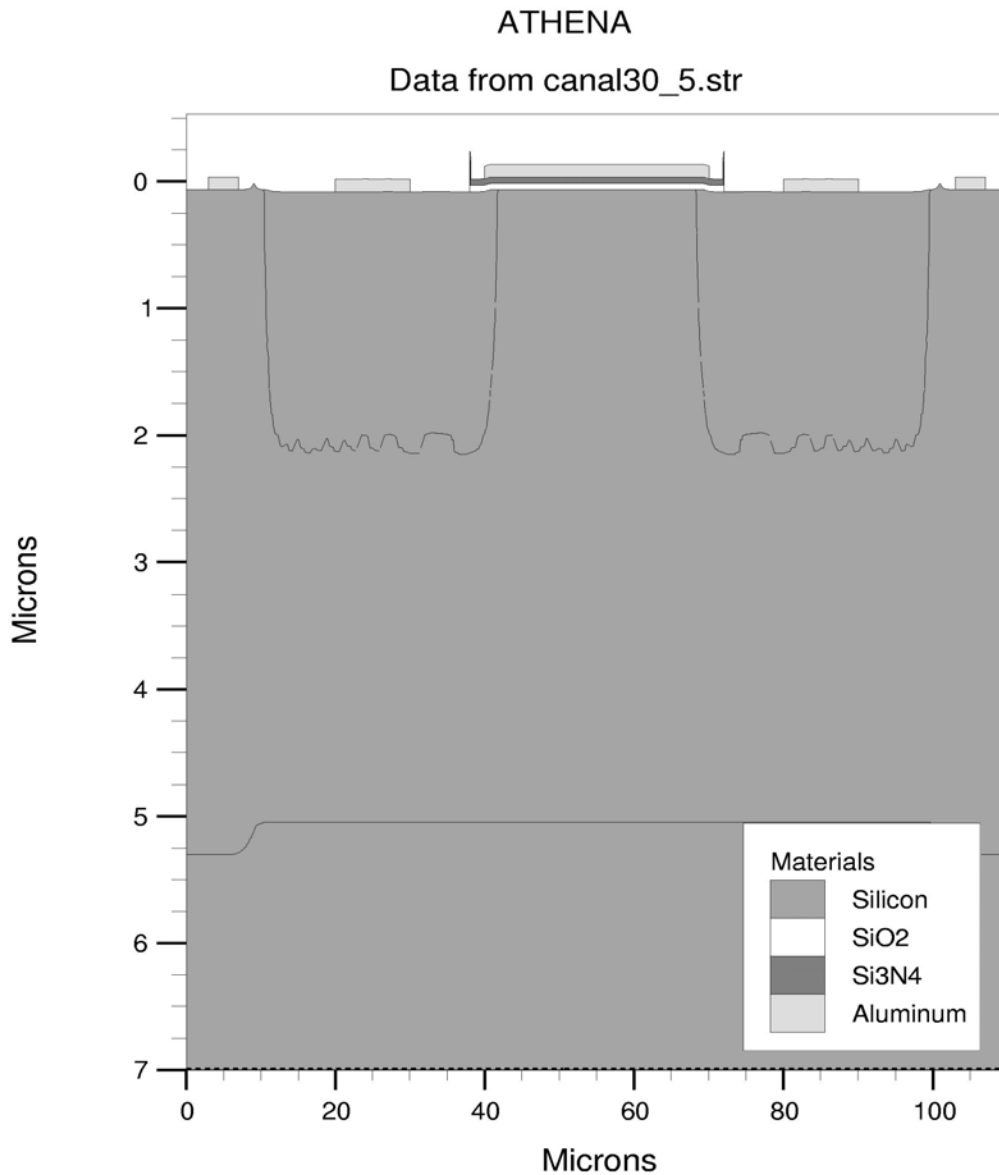


Figure II.9 : Structure complète du transistor NMOS, simulée sous ATHENA™.

A partir de cette simulation, nous avons établi le procédé technologique qui a par la suite été réalisé dans la salle blanche du LAAS. Le simulateur ATHENA™ offre la possibilité d'extraire des paramètres mesurés, les concentrations surfaciques, les profondeurs de jonction et les résistances par carré ont été relevées grâce à des extractions de paramètres.

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau II.3.

Simulation ATHENA	Dopant	Concentrations en surface (atm/cm ³)	Dose implantée (atm/cm ²)	Résistances par carré (Ω/□)	Profondeurs de jonctions (μm)
Caisson type P	Bore	$2,1.10^{16}$	10^{13}	2112	5,2
Caissons source/drain	Arsenic	$6,69.10^{19}$	10^{16}	12	1,8
Contact P+	Bore	$1,16.10^{19}$	10^{16}	29	5,2

Tableau II.3 : Résultats liés aux implantations ioniques de la simulation globale

II.3.9. Simulation électrique (ATLAS™) :

Le logiciel de simulation électrique (ATLAS™) a ensuite été utilisé avec les paramètres définis précédemment. Les caractéristiques $I_{DS}(V_{GS})$ sont reportées ci dessous.

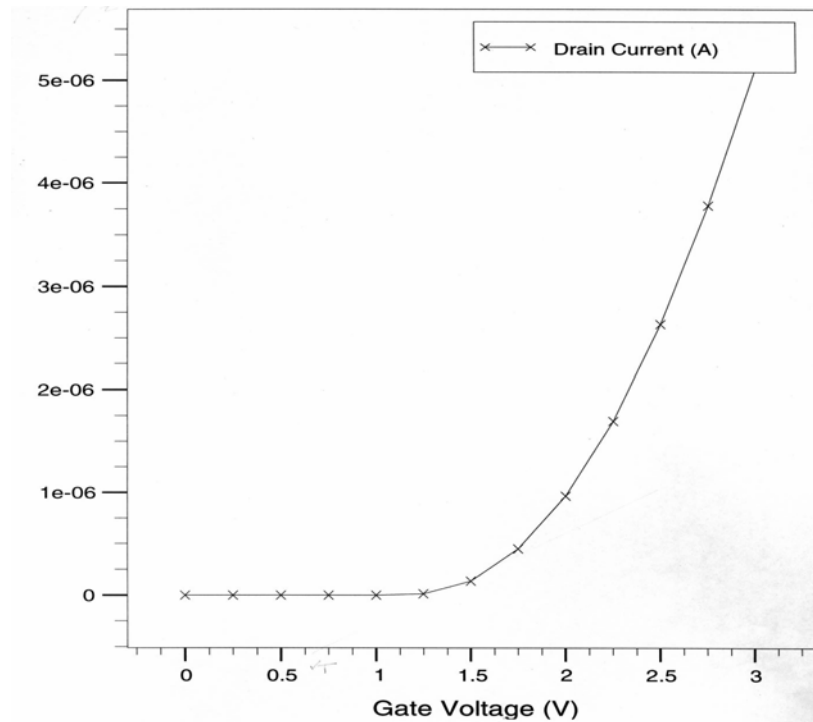


Figure II.10 : Caractéristique $I_{DS}(V_{GS})$ de la structure NMOS étudiée (simulateur électrique Atlas™).

Pour une capacité globale de 45 nF/cm² la tension de seuil mesurée serait de 1,34 V.

III. Description du procédé de fabrication ISFET

Pour effectuer le procédé technologique des ISFETs, six masques ont été conçus, dessinés et fabriqués au LAAS-CNRS. Les logiciels utilisés pour la création de ces masques sont CREMASQ et CLEWIN. Pour chaque étape du processus, les dessins des différents niveaux de masques sont présentés dans l'**annexe n°2**. Deux masques supplémentaires ont été réalisés pour la réalisation des couches sensibles.

CHOIX DU SUBSTRAT :

Dès le départ, nous avons décidé d'employer des plaquettes de silicium standard, ce choix a été motivé par le prix des substrats en vue d'une future industrialisation. La dimension des plaquettes (4 pouces) a été dictée par les équipements disponibles dans la centrale technologique du LAAS-CNRS. Nous avons choisi des plaquettes de type N ayant une résistivité de $4 \Omega \cdot \text{cm}$ ($N_d = 10^{13} \text{ at.cm}^3$).

Le choix d'une plaquette polie simple face vient du fait que notre processus technologique ne comporte pas d'intervention en face arrière. L'épaisseur de $525 \mu\text{m}$ confère au silicium une meilleure solidité mécanique. L'orientation $\langle 100 \rangle$ a été choisie pour sa faible densité d'état d'interface [20]. Afin de valider les étapes du procédé technologique, des plaquettes témoins ayant les mêmes caractéristiques que les substrats choisis ont suivi les différentes étapes de fabrication des ISFETs.

□ ETAPE 1 : NETTOYAGE DE LA PLAQUETTE

Cette étape consiste à enlever toutes les impuretés présentes à la surface des plaquettes. Le principe est de faire croître une mince couche d'oxyde qui va piéger les composés organiques et les impuretés en surface, puis d'éliminer cette couche par une attaque chimique. Pour cette étape, la procédure suivante est utilisée :

Chapitre 2

- Bain $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ (solution de H_2SO_4 : 10 cm^3 et H_2O_2 : 10 cm^3);
- Rinçage eau dé ionisée (EDI) et séchage azote ;
- Attaque lente du SiO_2 (HF : 10 %);
- Rinçage EDI et séchage azote.

□ ETAPE 2 : OXYDATION DE MASQUAGE

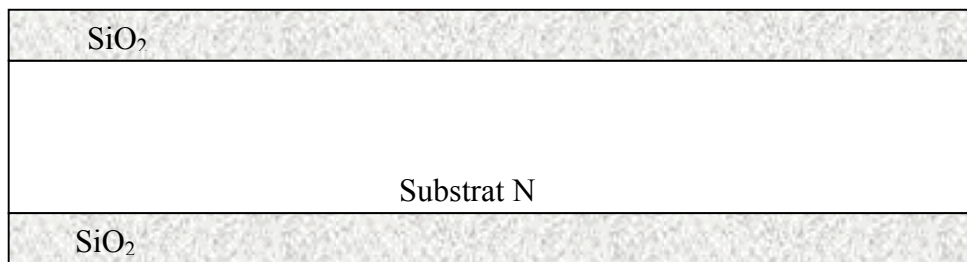


Figure II.11 : Oxydation de masquage.

Cette étape a pour but de faire croître un oxyde thermique en surface de la plaquette de 640nm d'épaisseur (figure II.11). La couche d'oxyde obtenue servira d'une part de couche de masquage pour la première implantation et d'autre part à protéger les zones de la plaquette non traitées durant les opérations suivantes. Tous les paramètres de cette oxydation ont été optimisés grâce au logiciel de simulation. Le cycle thermique employé est représenté sur la figure II.12.

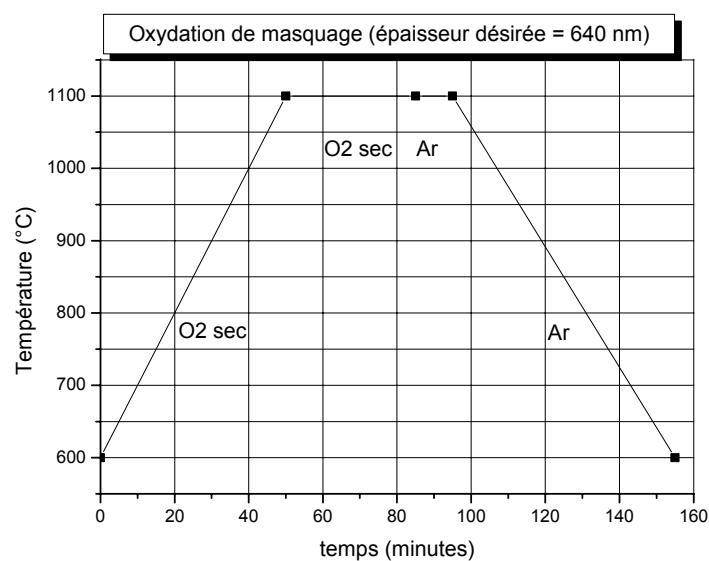


Figure II.12 : Cycle thermique de l'oxydation de masquage.

□ ETAPE 3 : PHOTOGRAVURE DU CAISSON Pwell

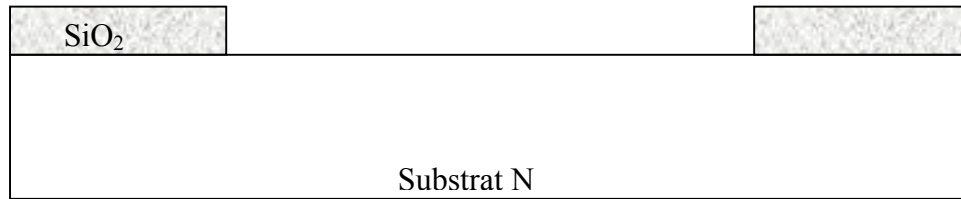


Figure II.13 : Ouverture du caisson d'isolation.

Cette étape permet d'ouvrir l'oxyde de masquage en vue d'élaborer le caisson d'isolation de type P qui délimitera l'aire active du composant et fixera les caractéristiques du capteur (concentration en surface). Cette étape comporte une photolithographie et une gravure humide. Elle suit la procédure suivante :

- Etuve (30 min) + étuve HMDS (30 min);
- Etalement (dépôt d'une résine positive : AZ 1529);
- Alignement et exposition (***MASQUE # 1***) « **FIRST** »
- Développement (AZ develop 30 sec + Rinçage);
- Inspection + recuit (115°C / 1 min);
- Gravure chimique de l'oxyde (Buffer HF : 20 min);
- Nettoyage la résine photosensible (Acétone) et Rinçage EDI .

□ ETAPE 4 : OXYDE DE PRE-IMPLANTATION

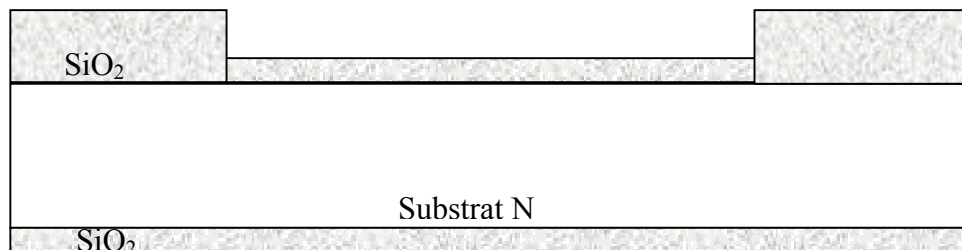


Figure II.14 : Oxydation de préimplantation.

Chapitre 2

Dans les ouvertures réalisées, on fait croître par oxydation thermique une fine couche d'oxyde ayant une épaisseur de 40 nm. C'est à travers cette couche que se fera l'implantation des divers dopants (bore et arsenic). Cette étape a été optimisée pour fixer la concentration maximale des espèces implantées à la surface du silicium et pour limiter la création de défauts au sein des zones actives.

○ Oxydation avant implantation

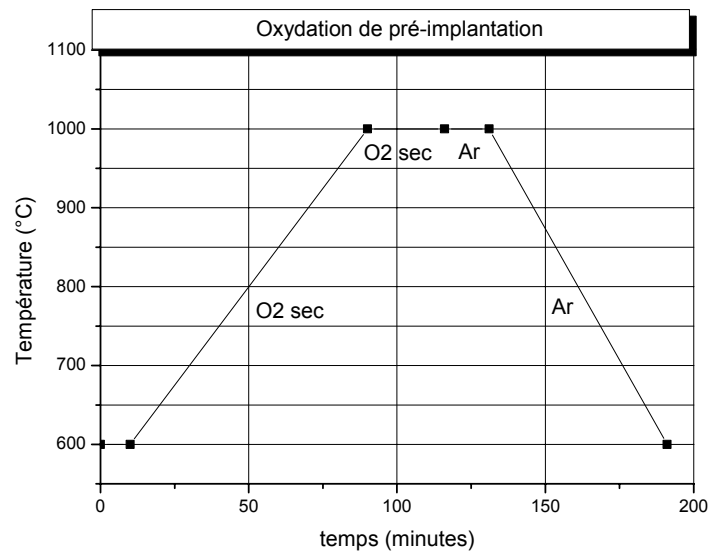


Figure II.15 : Cycle thermique de l'oxydation de préimplantation.

□ ETAPE 5 : IMPLANTATION DU CAISSON Pwell

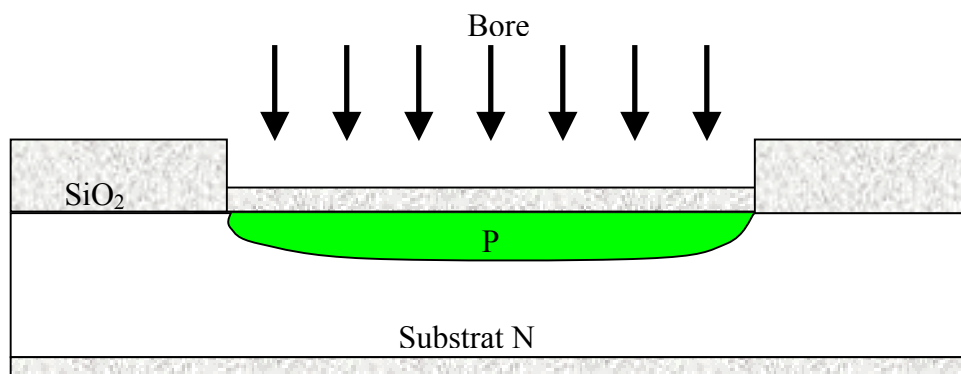


Figure II.16 : Implantation du caisson d'isolation.

Chapitre 2

Le caisson d'isolation de type P, analogue à un caisson de type Pwell dans les technologies CMOS est réalisé par implantation ionique de bore. La concentration en surface, après les différents recuits thermiques (Na) déterminera la valeur de la tension de seuil (V_T). Ce caisson assurera l'isolation électrique du composant.

○ Implantation de BORE. (voir paramètres en annexe n°1).

□ ETAPE 6 : RECUIT DE DIFFUSION DU CAISSON Pwell

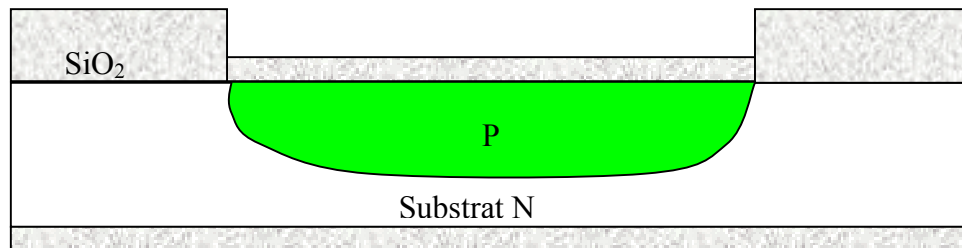


Figure II.17 : Recuit de diffusion du caisson d'isolation.

L'implantation est suivie d'une étape thermique permettant non seulement de redistribuer profondément et d'activer électriquement les atomes de bore implantés dans le silicium mais aussi de corriger les défauts cristallins créés par l'implantation ionique. L'oxyde de préimplantation est conservé et permet d'éviter une exodiffusion de bore. Le profil de la redistribution est décrit dans la figure II.18 :

○ Recuit de diffusion.

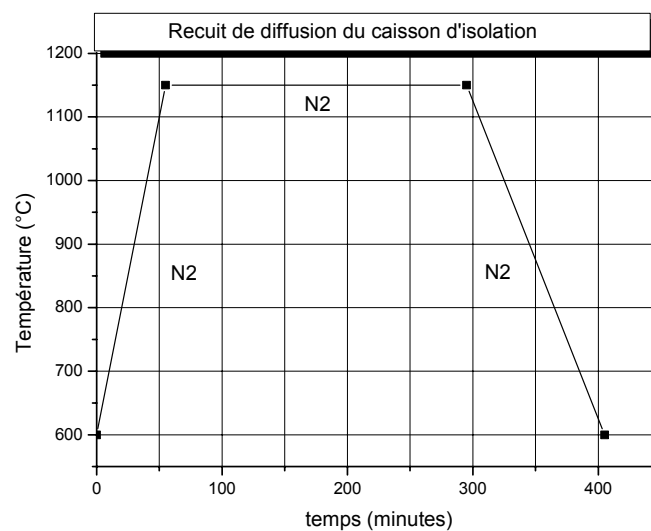


Figure II.18 : Cycle thermique du recuit de diffusion du caisson P_{well}.

□ ETAPE 7 : PHOTOGRAVURE DE LA ZONE DE CONTACT P+

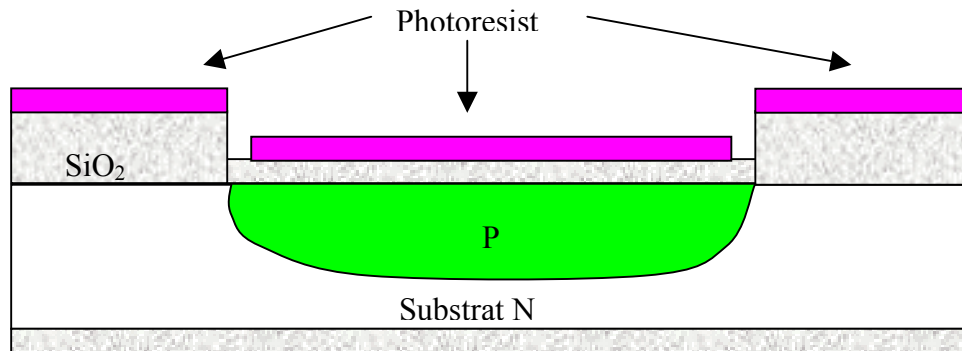


Figure II.19 : Photolithographie de la zone de contact P+.

Une résine protectrice ayant une épaisseur de 3 μm , est déposée sur la surface de la plaquette. Les zones délimitant l'anneau de garde sont ouvertes. Le but de cet anneau de garde est d'éviter les courants parasites en surface, de plus il favorisera la conduction du courant au niveau du contact électrique de la polarisation du caisson.

- Etuve (30 min) + étuve HMDS (30 min);
- Etalement (dépôt d'une résine positive : AZ 1529);
- Alignement et exposition (**MASQUE # 2**)
- Développement (AZ develop 30 sec + Rinçage);
- Inspection + recuit (115°C / 1 min);

□ ETAPE 8 : IMPLANTATION DE LA ZONE DE CONTACT P+

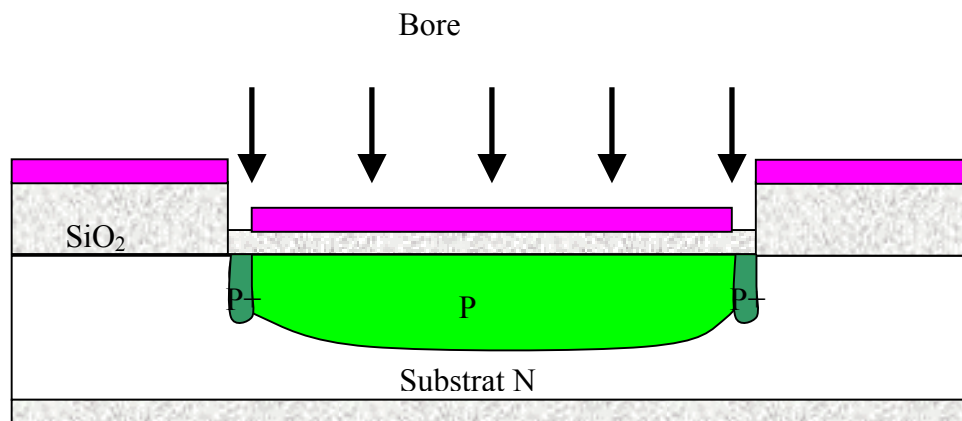


Figure II.20: Implantation de la zone de contact P+.

Chapitre 2

L'implantation se fait à travers le même oxyde de préimplantation; tous les paramètres liés à l'implantation ont été définis afin que la concentration maximale de bore se retrouvera en surface du silicium. Le masquage protecteur est assuré par la résine photosensible.

- Implantation de BORE (voir paramètres en annexe n°1) ;

- Nettoyage résine :

- Acétone + Rinçage EDI,
- Plasma O₂ (45 min),
- RT2 si nécessaire.

□ ETAPE 9 : PHOTOGRAVURE DES CAISSONS SOURCE-DRAIN N+

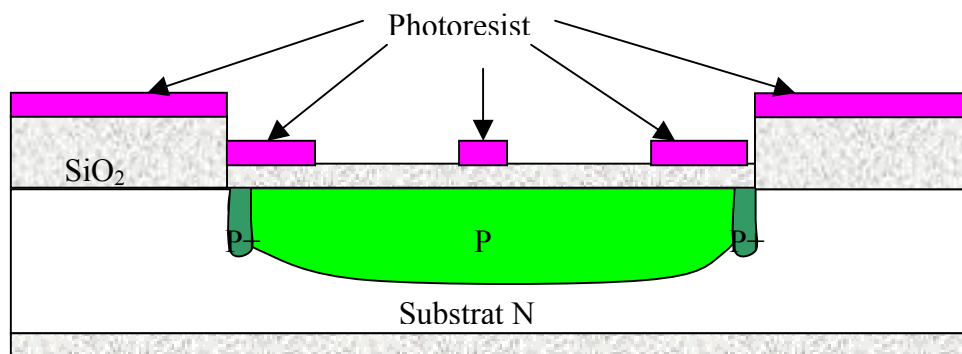


Figure II.21 : Photolithographie des caissons source-drain.

Avant d'implanter les zones actives source-drain, on réalise un masquage grâce à une résine épaisse de 3 μm .

- Etuve (30 min) + étuve HMDS (30 min);
- Etalement (dépôt d'une résine positive : AZ 1529);
- Aligement et exposition (**MASQUE # 3**)
- Développement (AZ develop 30 sec + Rinçage);
- INSPECTION + recuit (115°C / 1 min);

□ ETAPE 10 : IMPLANTATION DES CAISSONS SOURCE-DRAIN N+

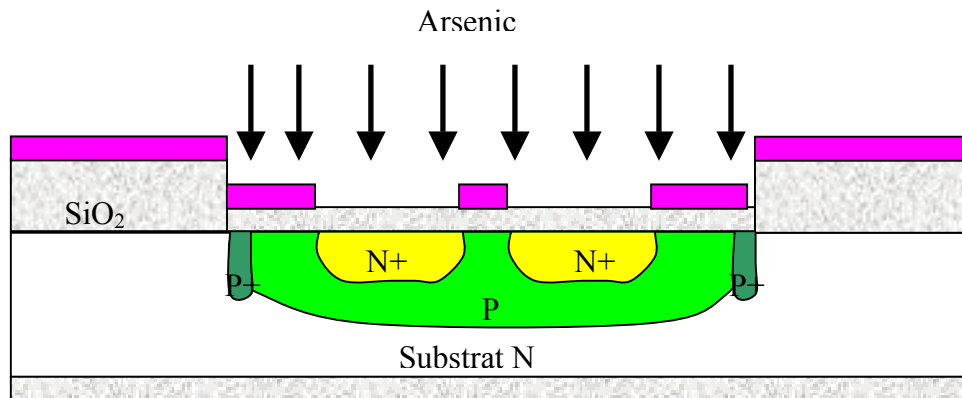


Figure II.22 : Implantation des caissons source-drain.

Les zones actives de source et drain sont réalisées par implantation ionique d'arsenic à travers l'oxyde de préimplantation. Là aussi, le masquage protecteur est assuré par la résine photosensible.

- Implantation d'ARSENIC (voir paramètres en annexe n°1) ;
- Nettoyage résine :

- Acétone + Rinçage EDI,
- Plasma O_2 (45 min),
- RT2 si nécessaire.

□ ETAPE 11 : RECUIT DE DIFFUSION ET D'ACTIVATION

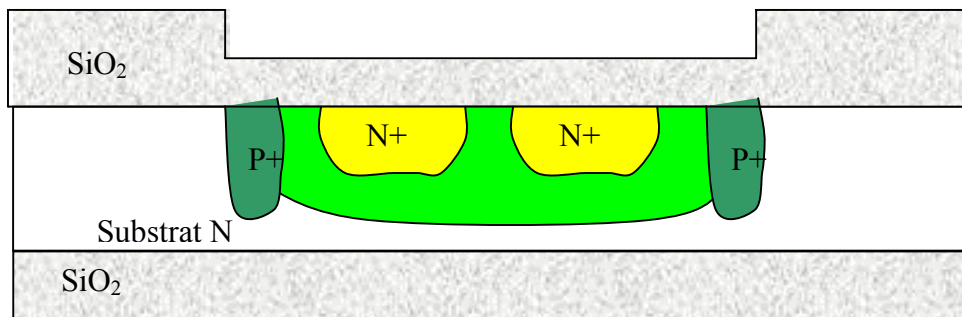


Figure II.23 : Recuit de redistribution sous ambiance oxydante.

Chapitre 2

Cette étape thermique permet de redistribuer profondément et d'activer électriquement les atomes de bore et d'arsenic implantés dans le silicium mais aussi de corriger les défauts cristallins créés par l'implantation ionique. Cette redistribution a lieu sous ambiance oxydante, faisant ainsi croître un oxyde protecteur de 500 nm. Il est à noter que nous avons tenu compte de la diffusion du caisson d'isolation durant le bilan thermique. Le profil de la redistribution est décrit dans le graphe II.24 :

○ Redistribution sous ambiance oxydante.

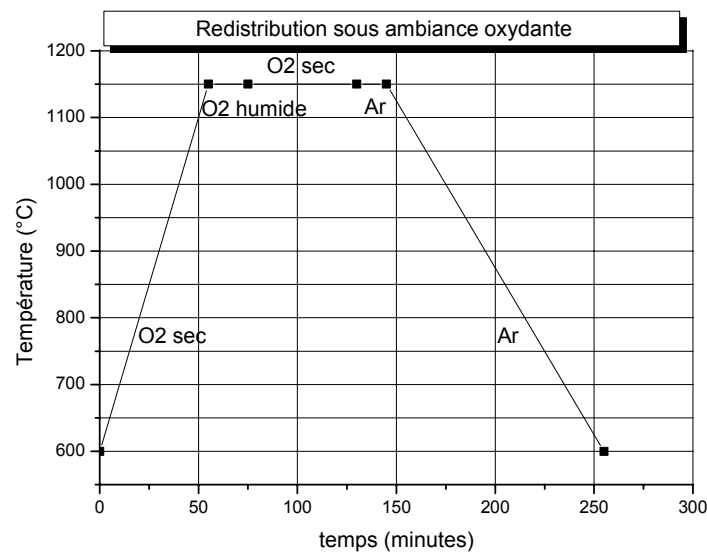


Figure II.24 : Cycle thermique de la redistribution sous ambiance oxydante.

□ ETAPE 12 : PHOTOGRAVURE DE LA GRILLE

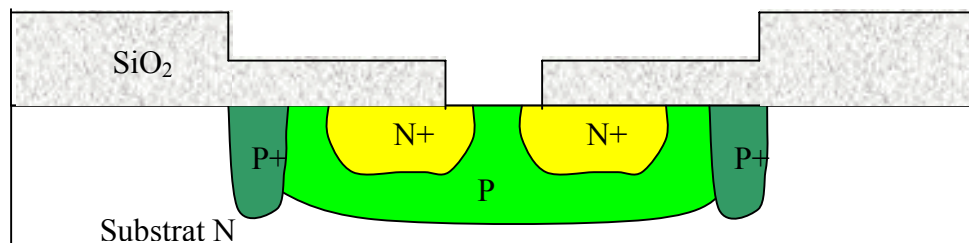


Figure II.25 : Ouverture de la grille.

Chapitre 2

L'ouverture de grille est réalisée par une attaque au Buffer HF de l'oxyde de silicium après avoir effectué une photolithographie. Cette photogravure suivra la même procédure que lors de l'étape 3 :

- Etuve (30 min) + étuve HMDS (30 min);
- Etalement (dépôt d'une résine positive : AZ 1529);
- Alignement et exposition (**MASQUE # 4**)
- Développement (AZ MIF + Rinçage);
- INSPECTION + recuit (115°C / 1 min);
- Gravure chimique de l'oxyde (Buffer HF : 10 min);
- Nettoyage de la résine photosensible (Acétone) et Rinçage EDI .

□ ETAPE 13 : NETTOYAGE RCA

Avant de procéder au dépôt d'oxyde et de nitrure qui serviront d'isolant et de couche sensible pour les capteurs chimiques, il est nécessaire de procéder à un nettoyage RCA. Après avoir mis le silicium à nu, ce nettoyage permet d'améliorer les caractéristiques d'interface entre le silicium et la couche d'oxyde. Ce nettoyage, constitué de six bains successifs, va tour à tour, enlever l'oxyde natif, faire croître un oxyde de quelques dizaines d'angströms, enlever cet oxyde et les impuretés emprisonnées, enlever les matériaux lourds et les contaminants organiques puis enlever l'oxyde formé lors des deux derniers bains. Le contrôle de la résistivité de l'eau permet de s'assurer du bon déroulement du nettoyage.

- Bain A' : HF dilué (10 %) pendant 30 sec puis rinçage à l'eau dé ionisée (EDI) et séchage.
- Bain A : HNO₃ bouillant pendant 10 min puis rinçage EDI et séchage sous azote.
- Bain A' : HF dilué (10 %) pendant 30 s puis rinçage EDI et séchage sous azote.
- Bain B : solution bouillante composée de NH₄OH (10 cm³), H₂O₂ (10cm³), H₂O (50 cm³) pendant 10 min puis rinçage EDI et séchage sous azote.
- Bain C : solution bouillante composée de HCL (10 cm³), H₂O₂ (10cm³) et H₂O (60 cm³) pendant 5 min puis rinçage EDI et séchage sous azote.
- Bain A' : HF dilué (10 %) pendant 30 sec puis rinçage EDI et séchage sous azote.

□ ETAPE 14 : OXYDATION DE GRILLE

Les plaquettes doivent être enfournées rapidement après l'étape de nettoyage RCA. Le cycle thermique suivant a été optimisé pour faire croître un oxyde propre ayant une épaisseur de l'ordre de 50 nm. Cet oxyde donnera les propriétés électriques au transistor.

- Oxydation thermique réalisée sous oxygène sec à 1000 ° C.

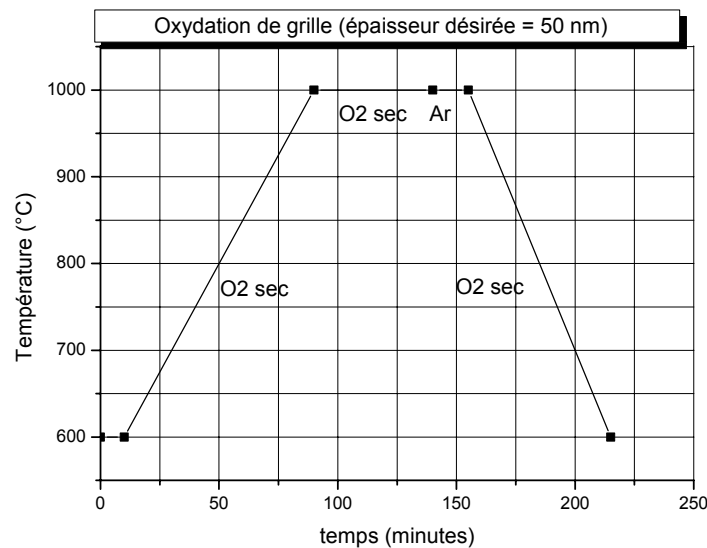


Figure II.26 : Cycle thermique de l'oxydation de grille.

□ ETAPE 15 : DEPOT DE NITRURE DE SILICIUM (Si_3N_4)

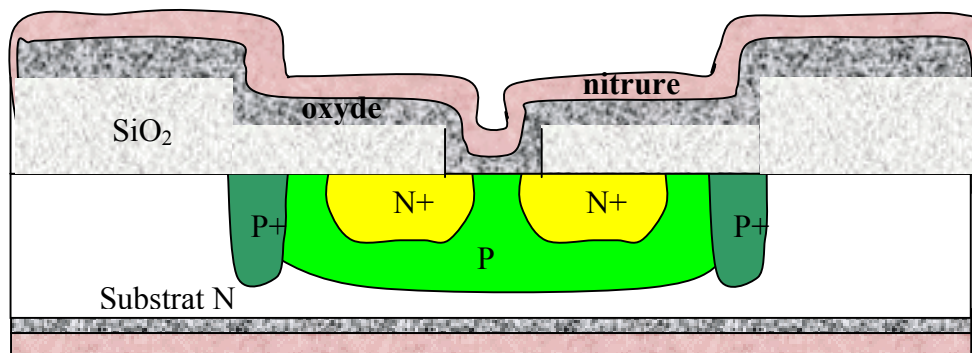


Figure II.27 : Dépôt d'oxyde de grille et nitruration.

Une couche de nitrure de 50 nm est déposée immédiatement après l'étape d'oxydation de grille par dépôt chimique en phase vapeur sous basse pression (LPCVD) sur les deux faces de la plaquette. Les sources gazeuses utilisées pour réaliser ce film sont l'ammoniaque NH_3 et

Chapitre 2

le dichlorosilane SiH_2Cl_2 . Cette couche conférera au capteur ses propriétés chimiques de détection. De plus, elle constitue une excellente barrière à la diffusion des molécules aqueuses (H_2O , H_3O^+ , OH^-).

○ Dépôt de Si_3N_4 par LPCVD.

(Température : 750°C , pression : 330 Torr, tps = 16 min)

□ ETAPE 16 : PHOTOGRAVURE OUVERTURE DES CONTACTS

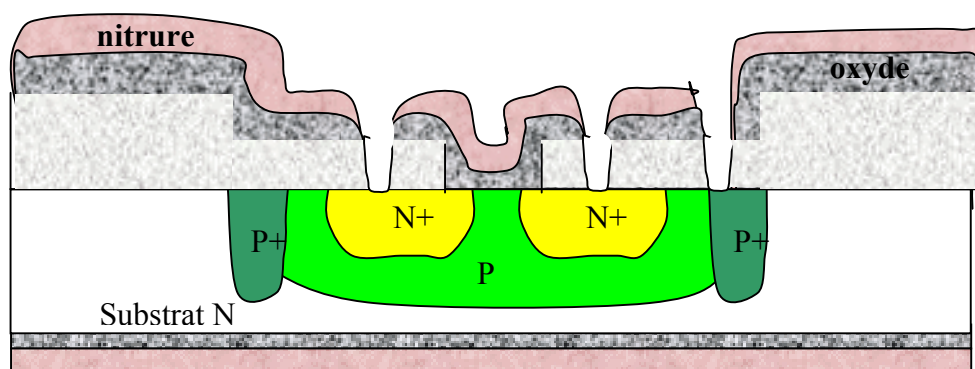


Figure II.28 : Ouverture des contacts.

L'ouverture des contacts se fait par photogravure ; pour attaquer le nitrure il est indispensable d'utiliser une gravure plasma (RIE), l'oxyde s'attaque ensuite chimiquement par du Buffer HF. L'objectif de cette étape est de définir les ouvertures qui assureront le contact électrique entre les métallisations et les zones actives du transistor (source, le drain et le substrat).

- Etallement (dépôt d'une résine positive : AZ 1529);
- Alignement et exposition (***MASQUE # 5***)
- Développement (AZ MIF + Rinçage);
- Gravure plasma pour le nitrure (GIR 100, 1,30 min);
- Gravure chimique pour l'oxyde (buffer HF, 6 min) ;
- Nettoyage du PR (Acétone) et Rinçage EDI.

□ ETAPE 17 : METALLISATION

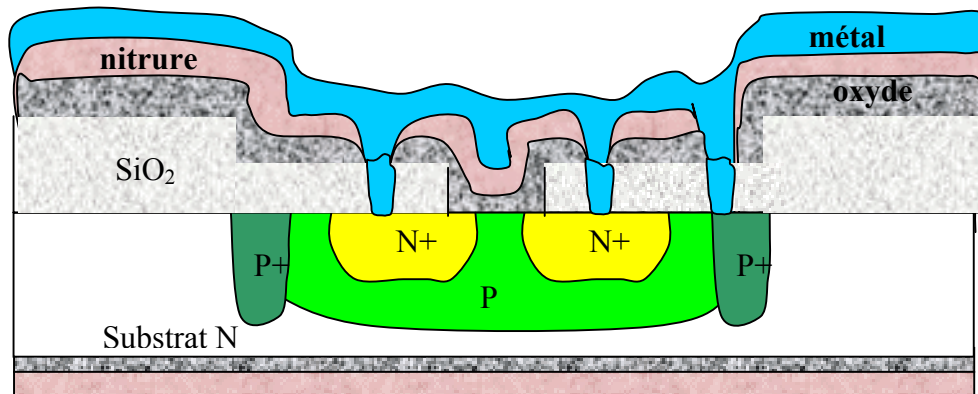


Figure II.29 : métallisations totale de la plaquette.

Une couche de métal de type titane / or (200nm/800 nm) est déposée sur toute la surface de la plaquette, par évaporation par canon à électrons. Le titane permet à l'or d'accrocher sur le nitruage.

- Dépôt d'une couche conductrice de type Ti/Au de 200 nm + 800 nm par évaporation.

□ ETAPE 18: PHOTOGRAVURE DES METALLISATIONS

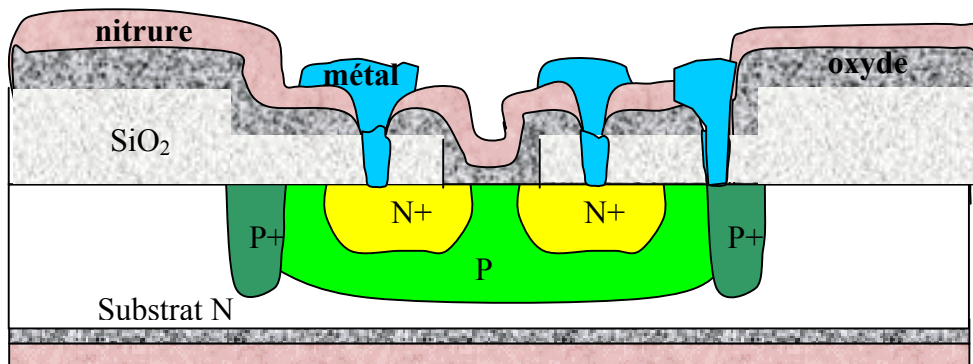


Figure II.30 : Photogravure des métallisations.

La couche de métal est ensuite photogravée. L'or est enlevé à l'aide d'une solution KI+I2 et le titane se grave avec du buffer HF. Cette photogravure suivra la procédure suivante :

Chapitre 2

- Etallement (dépôt d'une résine positive : AZ 1529);
- Alignement et exposition (MASQUE # 6)
- Développement (AZ MIF + Rinçage EDI);
- Attaque chimique du métal par une solution KI/I2 (100 s) ;
- Gravure chimique pour le titane (buffer HF 5min) ;
- Nettoyage de la résine photosensible (Acétone) et Rinçage EDI.

IV. Caractérisation du procédé de fabrication ISFET

Quatre témoins ont permis de contrôler le bon déroulement du procédé technologique. Les valeurs obtenues sont comparées aux valeurs simulées dans le tableau suivant :

<u>Paramètres</u>	<u>Valeurs simulées</u>	<u>Valeurs mesurées</u>
Épaisseur de l'oxyde de masquage	640nm	Ellipsomètre : 640 nm
Épaisseur de l'oxyde de préimplantation	40nm	Ellipsomètre : 43 nm
Épaisseur de l'oxyde finale	930nm/610nm	Tencor : 850nm/440nm
Épaisseur de l'oxyde de grille	50nm	Ellipsomètre: 60nm
Épaisseur du nitrure	50nm	Ellipsomètre : 50nm
Xj (p/substrat)	5,2 μm	SIMS : 5,5 μm
Xj (P+/P)	5,2 μm	SIMS : 6 μm
Xj (N+/P)	1,9 μm	SIMS : 1,25 μm
Résistance carrée P	2120 $\Omega/\square$	4 pointes : 2630 $\Omega/\square$
Résistance carrée P+	29 $\Omega/\square$	4 pointes : 32 $\Omega/\square$
Résistance carrée N+	12 $\Omega/\square$	4 pointes : 15,5 $\Omega/\square$
Concentration surfacique P	$2,1 \cdot 10^{16}$	SIMS : $5 \cdot 10^{16}$
Concentration surfacique P+	$1,3 \cdot 10^{19}$	SIMS : $1,2 \cdot 10^{19}$
Concentration surfacique N+	$6,6 \cdot 10^{19}$	SIMS : $4 \cdot 10^{19}$

Tableau II.4 : Caractéristiques technologiques de l'ISFET réalisé,
comparaison entre valeurs simulées et valeurs mesurées.

Nous obtenons ainsi à la fin du procédé de fabrication des plaquettes (voir figure II.31) comportant des composants ayant les caractéristiques suivantes :

- taille de la puce : 5mm x 5mm et 2,5 mm x 2 mm,
- longueur du canal : $L = 37 \mu\text{m}$,
- largeur du canal : $W = 800 \mu\text{m}$,
- grille ionosensible : SiO_2 (60nm)/ Si_3N_4 (50nm).

- Tension de seuil : $V_T = 1,4 \text{ V}$

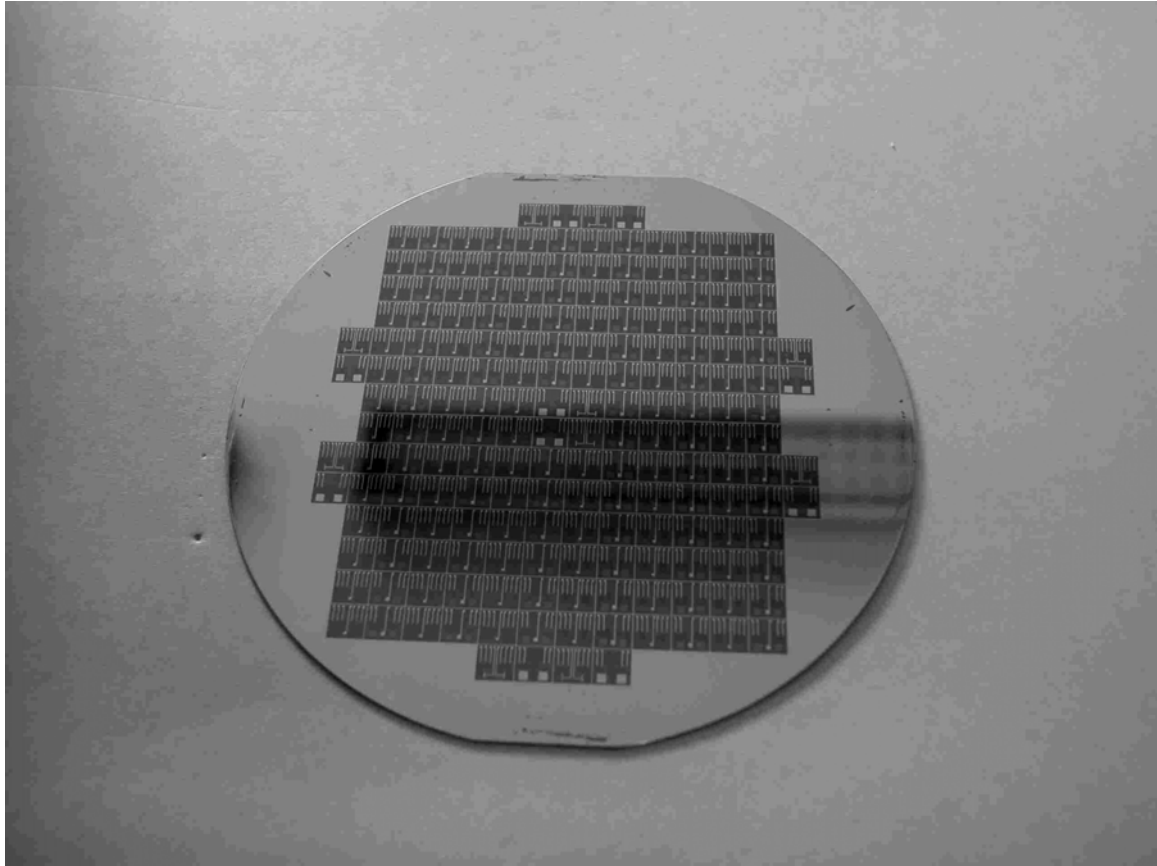


Figure II.31 : photographie d'une plaquette réalisée.

Ces ISFETs sont ensuite découpés à la scie diamantée. La figure II.32 présente une structure ISFET-REFET avec électrode intégrée et une structure ISFET générique.

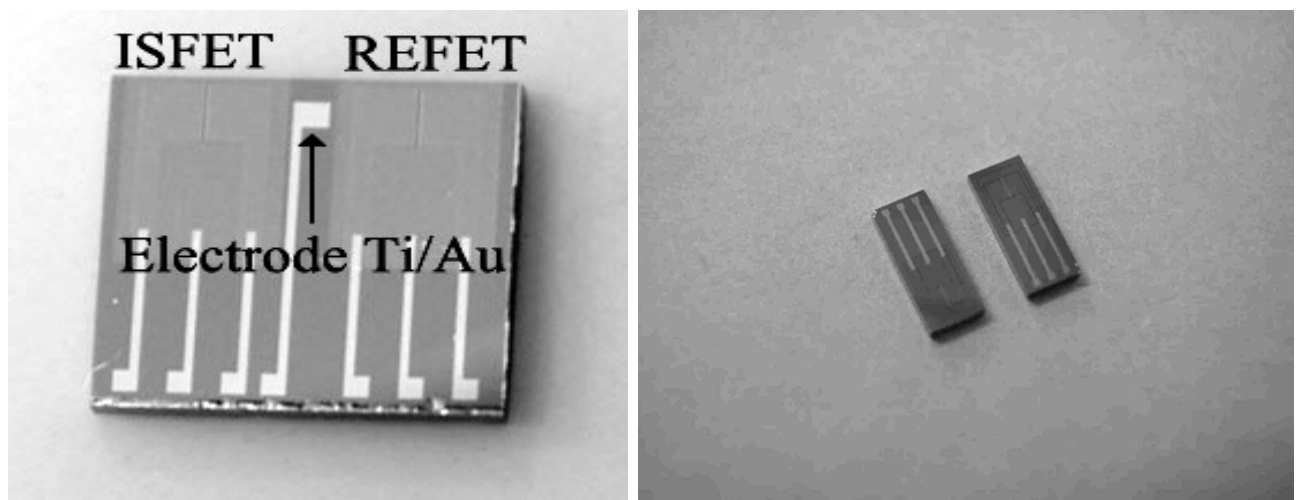


Figure II.32 : Photographie des composants découpés (structure ISFET-REFET et structure simple)

V. Assemblage et encapsulation.

Le produit devra être d'une utilisation simple et transparente, afin de ne pas compliquer les protocoles d'hémodialyse. Pour ce faire, une technique d'assemblage et d'interconnexion du micro-capteur sur le circuit imprimé a été développée, afin de proposer un produit prêt à être intégré dans la chaîne d'hémodialyse. Ce produit nécessite une technologie d'assemblage très fiable (demandé par l'application médicale) dans laquelle une partie du micro-capteur sera directement en contact avec le liquide à analyser.

L'intégration de ces capteurs dans une ligne de dialyse nécessitera la conception d'une chambre de mesure à faible coût et d'utilisation facile. HEMODIA qui a des compétences en plasturgie réalisera cette chambre de mesure ultérieurement afin de proposer un produit fini qui devra pouvoir s'intégrer facilement dans le dispositif de fluidique permettant une mesure en continu.

V.1. Présentation de l'encapsulation.

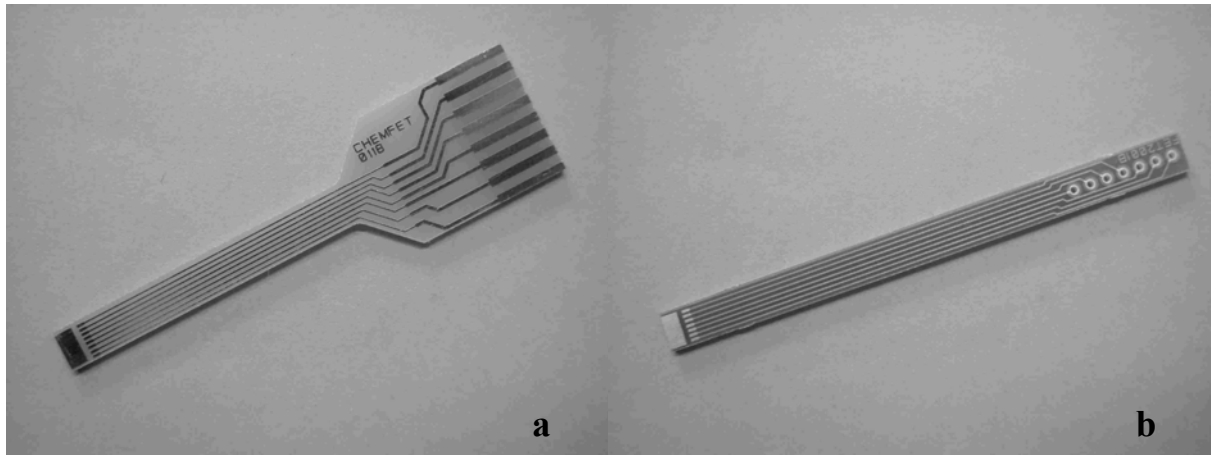
Un capteur se compose d'une partie chimiquement sensible capable de détecter les espèces recherchées et d'une partie circuit assurant les polarisations et les pistes dédiées aux mesures. Les domaines d'applications des capteurs chimiques sont variés (biomédical, agroalimentaire, traitement de l'eau ...), toutefois le milieu d'utilisation est toujours un milieu aqueux. Ceci implique donc de mettre en contact avec le milieu à analyser la partie chimiquement sensible et d'étanchéifier et isoler électriquement la partie circuit. Une attention toute particulière a été portée sur cette étape. En effet, l'encapsulation du capteur lui confère sa stabilité et sa durée de vie. De plus dans le cadre d'analyse médicale, il nous fallait déterminer la biocompatibilité du matériau. Une étude a permis de finaliser l'étape d'enrobage que l'on rencontre lors de l'assemblage. Cette partie retrace la globalité du protocole d'assemblage des capteurs chimiques ChemFETs.

V.2. Description des différentes étapes de l'assemblage.

Deux types de circuits imprimés fournis par la société CIRLY ont été utilisés (voir figure II.33) :

a : Circuit à connecteur encartable ref : FET 2001A

b : Circuit recouvert d'un vernis épargne ref : FET 2001B



Figures II.33: Circuits imprimés FET 2001A et FET 2001 B.

Un assemblage standard comprend le report du circuit intégré sur le circuit imprimé (appelé « Printed Circuit Board », PCB), les connections électriques par micro-soudure avec du fil d'or et une encapsulation de type enrobage avec une résine ou un silicone biocompatible. Toutes ces étapes seront décrites plus en détail dans la suite.

V.2.1. Assemblage de la puce sur le circuit imprimé :

Ce premier assemblage permet le maintien de la puce sur le circuit imprimé (voir figure II.34). Le collage se fait avec une époxy à 2 composants de chez POLYTEC réf : H70E

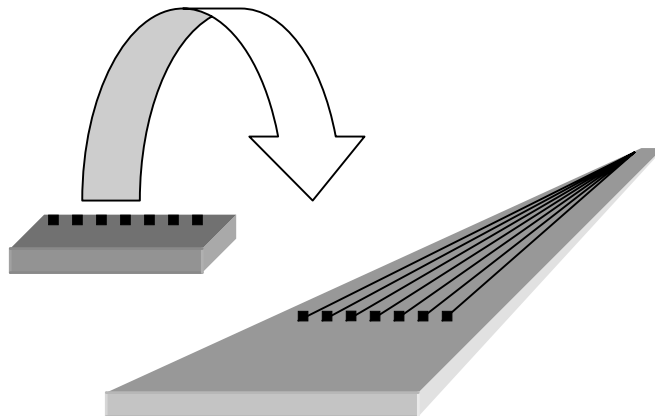


Figure II.34 : Report du circuit intégré sur circuit imprimé.

La colle est au préalable préparée en mélangeant les composants avec un rapport 1/1 en poids. A l'aide d'une seringue, on vient déposer la colle. Ensuite, on rapporte la puce de silicium en appliquant un minimum de force pour bien étaler la colle (voir figure II.35).

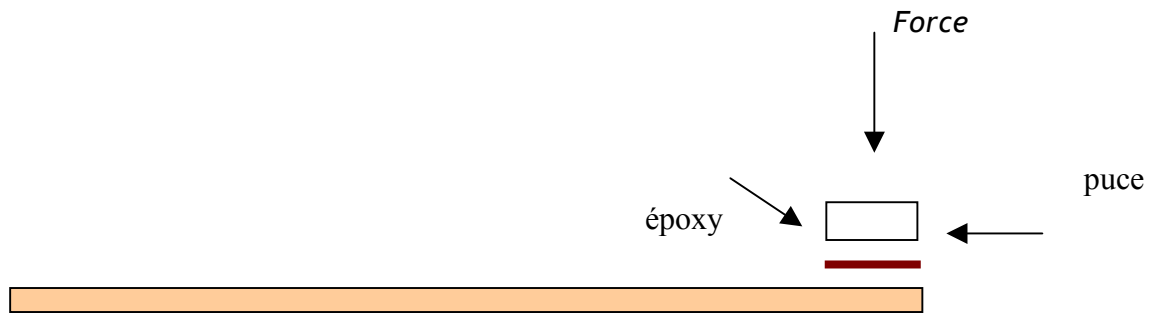


Figure II.35 : Principe du collage de la puce sur le circuit imprimé.

La polymérisation de l'époxy se fait en plaçant l'ensemble à l'étuve pendant 12 h à 60°C. Après ce passage à l'étuve, la puce en silicium adhère fortement au circuit imprimé.

Remarque : Dans le cadre d'une application biomédicale, la couche sensible est réalisée avec une résine enzymatique déposée avec les techniques traditionnelles de photolithographie, il sera alors nécessaire d'utiliser une colle se durcissant à température ambiante et ne dégazant pas en milieu aqueux.

V.2.2. Connexions électriques :

Une fois l'étape d'assemblage terminée, on peut connecter la puce au circuit. On vient donc micro-souder par « wedge bonding » des fils d'or de 25 μm de diamètre sur les plots de connexion (circuit imprimé /puce) (voir figures II.36 et II.37) .

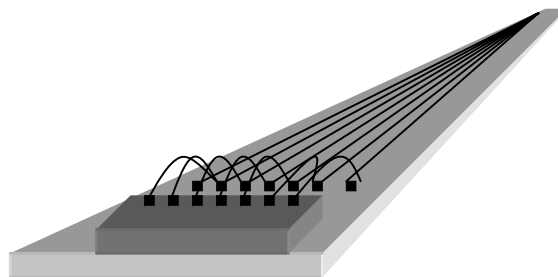


Figure : II.36 Connexions des contacts du circuit intégré aux pistes du circuit imprimé.



Figure II.37: Connexions par micro-soudures du composant sur le circuit imprimé.

Remarque: des tests effectués sur une nouvelle série de composants ont démontré la possibilité de remplacer les métallisations en or par des métallisations en aluminium.

V.2.3. Enrobage du capteur :

L'encapsulation par un enrobage de type « glob-top » (époxy ou silicone) au niveau des connexions, de la puce, et du circuit imprimé assure l'étanchéité du système (voir figure II.38).

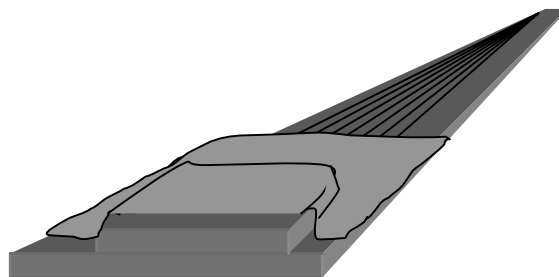


Figure II.38 : encapsulation de type « glob-top ».

Description des essais effectués :

Trois types de tests ont été effectués, afin d'optimiser la procédure d'assemblage, l'objectif étant d'améliorer la stabilité (durée de vie et fiabilité) des capteurs chimiques.

Chapitre 2

A – L'enrobage *silicone simple face* (ref : 5248 de chez loctite) de la partie supérieure du circuit intégré et du circuit imprimé (ref : FET 2001A), consiste à déposer avec une seringue un silicone biocompatible sur la totalité de la partie supérieure du circuit imprimé et les contacts sur la puce. Le séchage de l'ensemble se fait pendant 72 h à température ambiante (voir figure II.39).

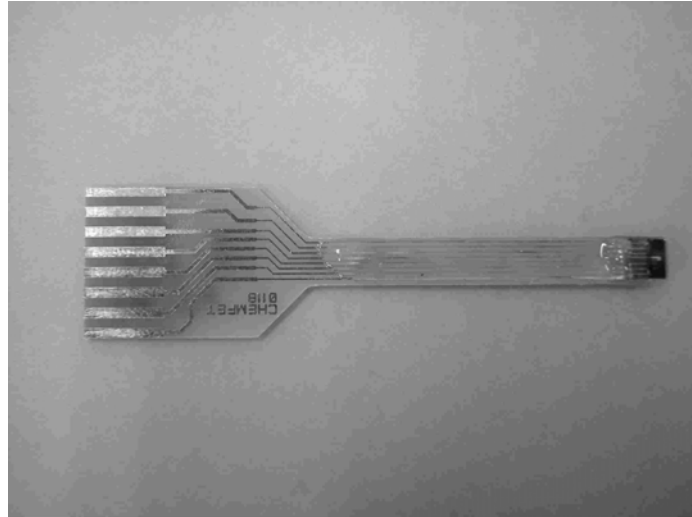


Figure II.39 : Enrobage silicone simple face.

B – L'enrobage *époxy* (ref : Poly01) *des fils et d'un PCB vernis épargne* double face (ref : FET 2001 B), consiste à protéger uniquement les parties non recouvertes par le vernis épargne et les contacts sur la puce (voir figure II.40). La polymérisation de l'époxy se fait à une température de 120°C pendant 15 minutes.

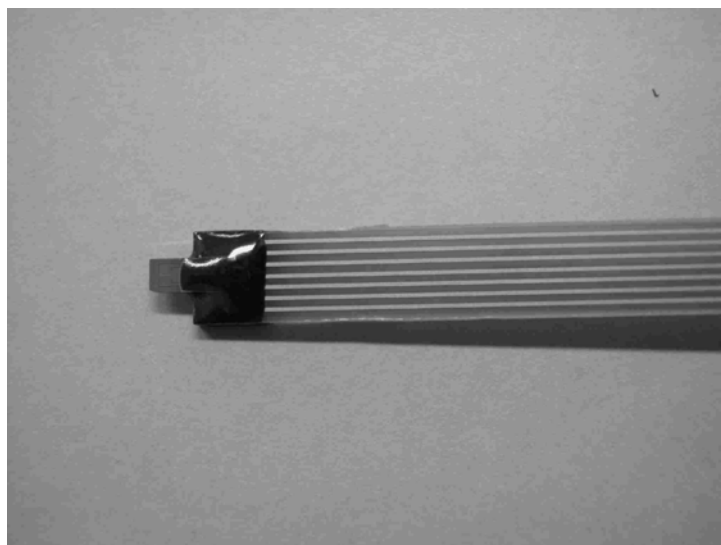


Figure II.40 : Enrobage époxy sur PCB recouvert d'un vernis épargne.

C – L'enrobage total du circuit intégré et du circuit imprimé PCB (ref : FET 2001A) consiste à déposer avec une seringue l'*époxy* (ref : Poly01) sur la totalité de la partie supérieure du circuit imprimé et les contacts sur la puce (figure II.41). Le séchage de l'ensemble se fait pendant 72 h à température ambiante. La polymérisation de l'époxy se fait à une température de 120°C pendant 15 minutes.

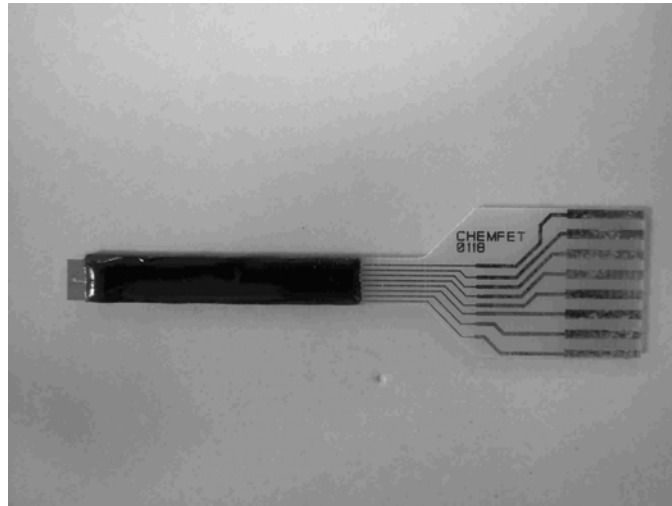


Figure II.41 : Enrobage époxy simple face.

V.3. Résultats obtenus sur l'encapsulation

Ces tests effectués sur l'encapsulation des capteurs chimiques démontrent qu'il est préférable d'utiliser un silicone biocompatible plutôt qu'une résine époxy. En effet, la stabilité est nettement meilleure pour les composants enrobés avec le silicone. Toutefois, dans le cas des composants reportés sur un circuit imprimé vernis double face dont seul les fils ont été enrobés avec de l'époxy, les mesures montrent que la durée de vie est relativement longue mais la dérive est trop importante. Ceci nous amène à conclure, d'une part que les circuits imprimés recouverts d'un vernis épargne amènent une protection supplémentaire et nécessitent moins de matériau d'enrobage et d'autre part que la qualité de l'époxy utilisé peut jouer un rôle sur la stabilité. De plus, des études complémentaires ont été entreprises afin de déterminer si l'époxy utilisée exodiffuse des éléments et si la préparation de l'époxy (proportion durcisseur-résine) modifie la porosité du matériau.

Quoi qu'il en soit, dans le domaine d'application utilisant des couches enzymatiques, la résine époxy n'est absolument pas adaptée : la température minimale de polymérisation est de 80°C tandis que les enzymes ne supportent pas une température supérieure à 40°C.

Globalement, les résultats obtenus sont satisfaisants dans le cadre de l'hémodialyse avec une utilisation unique (la durée d'une séance étant de 5 heures). Toutefois des améliorations peuvent être apportées pour augmenter la stabilité des composants, notamment en modifiant l'architecture des composants et des circuits imprimés et en intégrant au procédé technologique une étape supplémentaire afin de déposer une couronne épaisse délimitant et protégeant la zone sensible du capteur.

Un assemblage optimisé considérera donc :

- un circuit imprimé recouvert d'un vernis épargne, rallongé afin que l'on puisse reporter la totalité de la puce sur celui-ci,
- une encapsulation avec du silicone biocompatible qui recouvrira la totalité de la puce et des connexions, excepté la zone sensible,
- une puce entièrement passivée par un matériau hydrophobe à l'exception des contacts électriques et de la zone sensible.

VI. Réalisation des couches sensibles

Le principe de détection de l'urée et de la créatinine est basé sur l'utilisation de réactions enzymatiques générant une variation de pH. Pour réaliser la membrane enzymatique, il est nécessaire d'intégrer des enzymes à l'aide d'une matrice hydrophile et biocompatible. Pour réaliser cette matrice nous avons choisi d'utiliser comme polymère un alcool polyvinylique standard contenant des groupes styrylpyridiniums qui confèrent une photosensibilité à la résine négative (PVA/SbQ). Lors de la réticulation, sa structure en réseau présente des cavités d'une taille assez importante pour pouvoir contenir des éléments biologiques comme les enzymes. De plus, sa grande affinité pour l'eau permet de conserver un taux d'humidité résiduelle dans le réseau assez important pour assurer une durée de vie du matériel biologique conséquente. Le procédé classique de dépôts à la microgoutte confère de gros inconvénients tels que des problèmes de reproductibilité et des problèmes d'adhérence. De plus ce procédé n'est pas compatible avec une fabrication collective des ChemFETs.

Une étude a donc été menée par Mme Marie Laure Pourciel-Gouzy afin de développer un procédé de dépôt de la couche enzymatique entièrement compatible avec les techniques habituellement utilisées en salle blanche telles que la tournette ou encore les techniques de photolithographie [22].

L'influence de divers paramètres a été étudiée pour plusieurs taux de dilution du polymère. Dans un premier temps, l'évaluation du temps d'insolation optimal a été réalisée grâce à la mesure en continu du flux lumineux traversant la résine pendant l'exposition aux ultraviolets. En réalisant cette étude pour différentes vitesses de rotation de la tournette et en mesurant l'épaisseur des dépôts obtenus par profilométrie mécanique, nous avons pu obtenir une gamme d'épaisseurs ainsi que les temps d'insolation correspondants. Nous sommes ainsi capables de réaliser des couches dont l'épaisseur varie de 0,2 à quasiment 2 μm en modifiant uniquement des paramètres très accessibles. Le développement a également suscité une étude puisque cette étape joue un rôle important dans la résolution des motifs obtenus. Le PVA étant soluble dans l'eau sous sa forme non réticulée, c'est ce solvant qui a été utilisé toujours en vue de l'intégration de substances biologiques. La description du procédé technologique utilisé est présenté ci dessous.

La première étape (voir figure II.42) consiste à déposer la résine enzymatique (eau+PVA+enzymes) grâce à une tournette. Le contrôle de l'accélération de la vitesse et du temps de rotation a été optimisé pour obtenir une couche uniforme de 1 μm d'épaisseur.

La deuxième étape (voir figure II.43) consiste à aligner un masque sur les zones à réaliser. Le PVA étant une résine négative, seules les parties insolées seront réticulées.

La troisième étape (voir figure II.44) permet de développer, c'est à dire d'enlever la résine non réticulée. Le solvant est de l'eau.

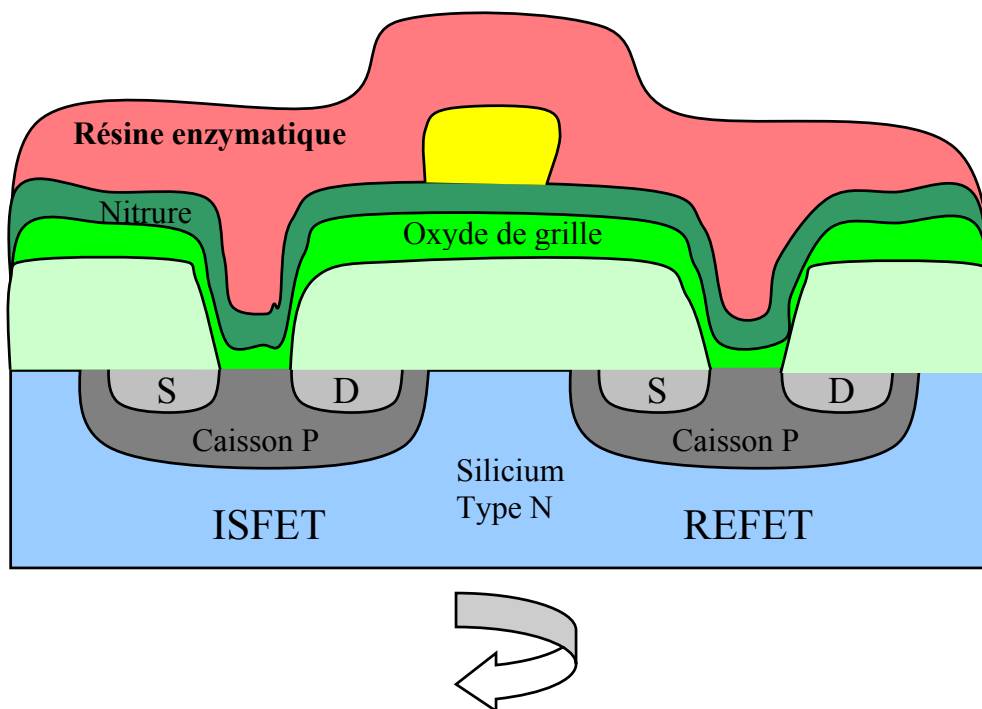


Figure II.42 : Dépôt de la résine à la tournette (étape 1).

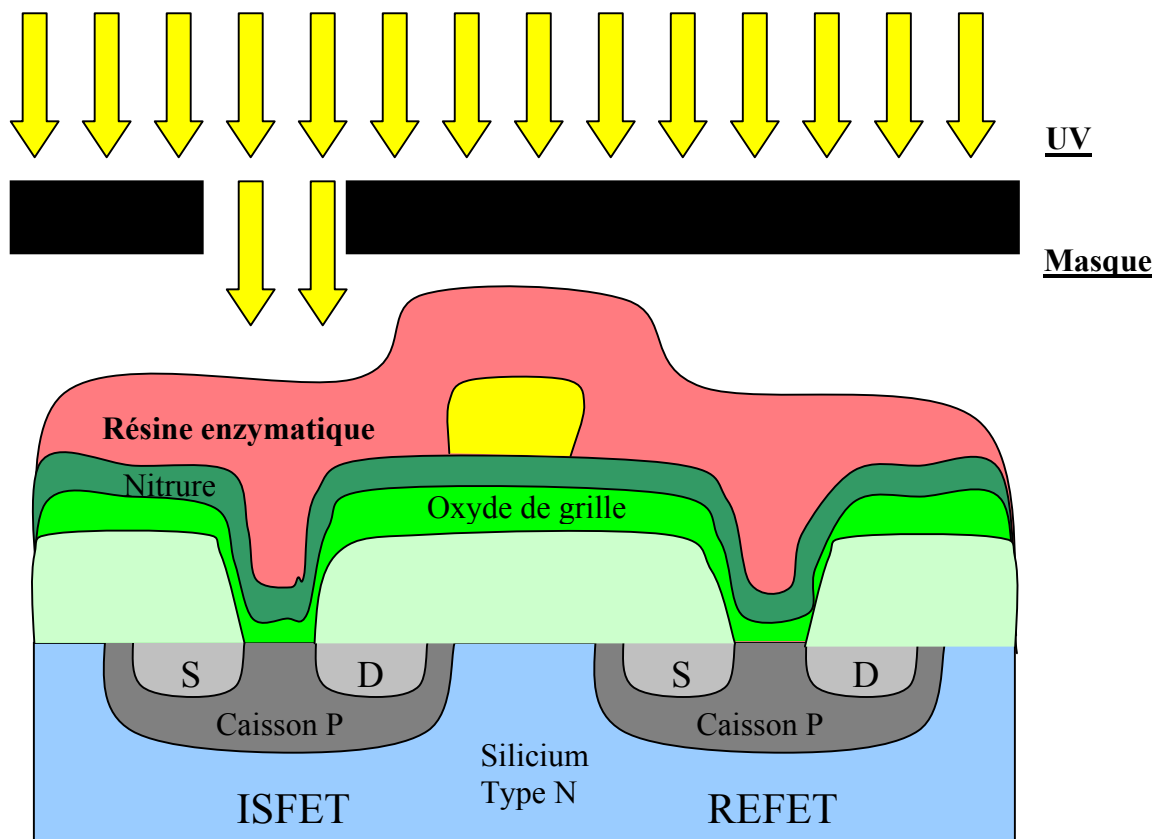


Figure II.43 : Réticulation sous insolation UV (étape 2).

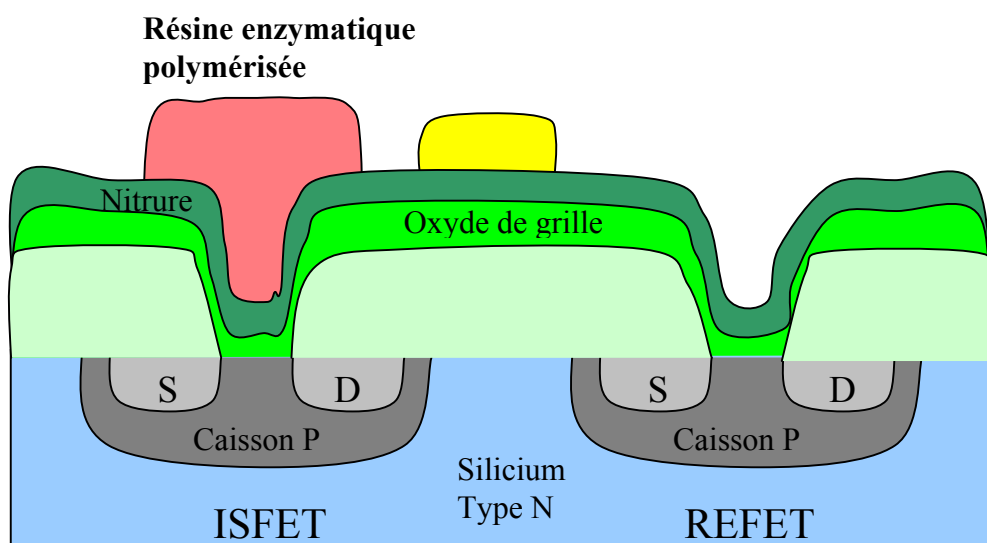


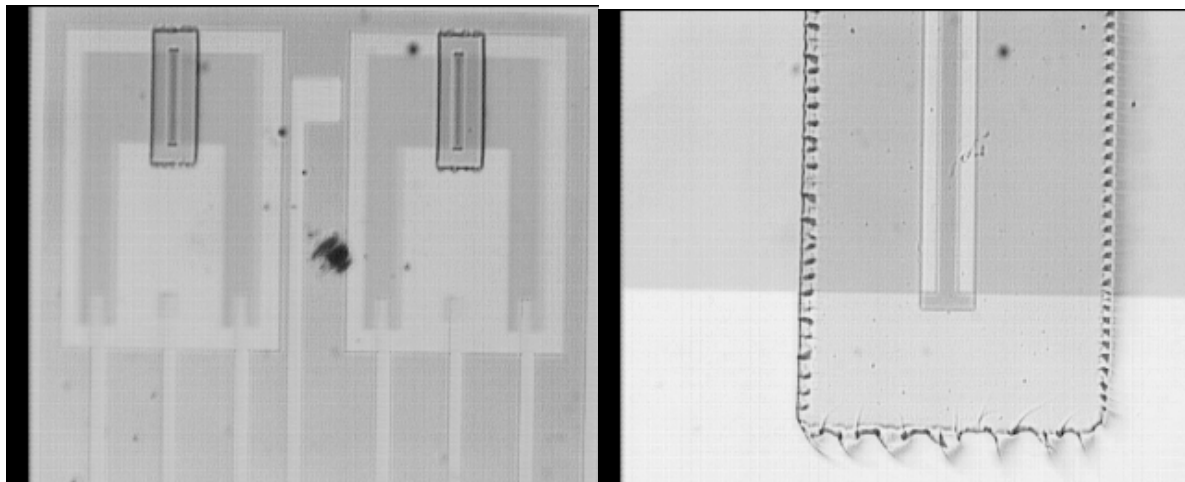
Figure II.44 : Développement dans l'eau désionisée (étape 3).

Pour une meilleure lisibilité ces figures ont été reportées en couleur dans l'annexe III).

Le procédé de réalisation de ces couches sensibles est le suivant :

- 1) Préparation de la résine enzymatique (PVA / EDI / enzyme) ;
- 2) Homogénéisation de la résine (agitateur magnétique) ;
- 3) Laisser reposer 12 heures dans l'obscurité ;
- 4) Dépôt 3 à 4 mL de résine sur la plaquette ;
- 5) Etalement à la tournette ;
- 6) Alignement (MA6) et insolation sous UV ;
- 7) Développement à L'EDI.

Ainsi, les couches enzymatiques ont été collectivement déposées sur la grille des capteurs. Il faut ensuite découper à la scie diamantée la plaquette enduite de résine et nettoyer les composants en prenant soin de ne pas détériorer les couches réalisées. Ces capteurs enzymatiques pourront alors être assemblés sur un circuit imprimé, conformément à la procédure indiquée au paragraphe VI.



ISFET avec PVA (x1.5)

ISFET avec PVA (x10)

Figure II.45 : Photographies de motifs de PVA réalisés par la technique de photolithographie.

L'optimisation de ce procédé technologique a permis la fabrication collective de motifs de PVA micrométriques (figure II.45) avec une bonne reproductibilité.

Les caractéristiques des dépôts obtenus sont les suivantes :

- obtention de couches de l'ordre de 1 μm ,
- très bonne définition (même pour des motifs de petite dimension),
- possibilité de superposer plusieurs couches,
- excellente tenue des motifs réalisés.

VII. Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons explicité un procédé technologique dans sa globalité, en partant de la conception pour finir à la réalisation des capteurs. Nous avons abouti à une structure simple ayant les caractéristiques suivantes :

- taille de la puce : 5mm x 5mm et 2,5 mm x 2 mm,
- longueur du canal : $L = 37 \mu\text{m}$,
- largeur du canal : $W = 800 \mu\text{m}$,
- grille ionosensible : SiO_2 (60nm)/ Si_3N_4 (50nm),
- tension de seuil : $V_T = 1,4 \text{ V}$.

Une attention toute particulière a été portée à l'encapsulation des capteurs, nous avons pu ainsi définir un protocole d'assemblage compatible avec le cahier des charges.

L'un des principaux avantages de la méthode développée est sa souplesse d'utilisation. Il sera donc aisé à partir du programme de simulation mis au point de concevoir d'autres procédés technologiques et de les adapter à un cahier des charges quelconque.

D'ailleurs, la réalisation des premiers capteurs a démontré la faisabilité des capteurs chimiques mais a aussi soulevé certaines questions, notamment au niveau de la conception (prix de revient, sensibilité, utilité de l'électrode de référence...). L'objectif final de ce projet étant de produire industriellement des capteurs à faible coût, il était important de redéfinir un nouveau design dont les dimensions seraient réduites. Le transistor de référence (REFET) est indispensable pour une bonne détection en milieu complexe; toutefois pour augmenter le rendement des capteurs produits sur une plaquette, il est plus rentable d'utiliser un ISFET et un REFET montés sur le même circuit imprimé. D'autre part, nous avons pu vérifier que l'électrode intégrée fonctionnait convenablement mais avait une perte de rendement alors que l'utilisation d'un simple fil d'or en guise d'électrode de référence n'amenait qu'une faible perte de rendement. Il semble donc possible de diminuer le prix de revient du transistor et d'éviter des problèmes de contamination, inhérent à la migration de l'or, en remplaçant des métallisations en or par des métallisations aluminium et en supprimant un plot de contact (celui de l'électrode intégrée). De plus, afin d'utiliser des tensions d'alimentation plus faibles et d'augmenter la solidité du capteur il fallait diminuer la tension de seuil.

Chapitre 2

Par conséquent, au vu de cette réflexion et de l'ensemble des études effectuées en simulation il nous a été possible de modifier certaines étapes du procédé technologique afin de suivre les évolutions du cahier des charges des microcapteurs :

- diminution de la tension de seuil,
- diminution de la puissance utilisée (tension de polarisation),
- amélioration de la reproductibilité des capteurs,
- définition d'un nouveau design (diminution des dimensions),
- validation définitive du procédé technologique.

Un nouveau jeu de masques a donc été réalisé et une nouvelle génération de capteurs a été fabriquée. Nous disposons donc actuellement de deux architectures de capteurs ayant des propriétés différentes. Nous présenterons dans le chapitre suivant des résultats obtenus avec les deux types de structures.

Parallèlement à la réalisation des composants, Marie Laure Pourciel-Gouzy a mis au point une technique de dépôt de couches sensibles avec les moyens de fabrication collective classiquement utilisés en microélectronique. L'optimisation de différents paramètres a permis la réalisation des membranes chimiquement sensibles, fortement adhérentes et d'épaisseur contrôlable. Ce procédé générique et fiable permettra par la suite d'intégrer différents types d'enzymes sur la grille de nos capteurs. A la fin du chapitre 3, nous présenterons donc l'application des capteurs ChemFETs à la détection de l'urée et de la créatinine.

Chapitre III : Caractérisation électrique et chimique des capteurs

Chapitre 3 :

Chapitre 3 : Caractérisation électrique et chimique des capteurs

Introduction

Comme nous l'avons vu dans le chapitre I, les techniques d'analyse sanguine sollicitent le développement de micro-capteurs biochimiques ayant les caractéristiques suivantes : réponse rapide, compatibilité CMOS, fabrication de masse, prix réduit, faible puissance et facilité d'utilisation. Les capteurs chimiques à effet de champ (ChemFETs) fournissent tous ces avantages et leur application à la détection d'espèces chimiques et biochimiques a été démontrée [1]. Cependant, jusqu'ici, leur développement industriel est encore freiné par plusieurs inconvénients liés d'une part à leur interface avec la solution liquide (fabrication d'une électrode intégrée de référence, isolation électrique, encapsulation, dérive temporelle...) et d'autre part aux techniques de réalisation des membranes sensibles. Dans le chapitre précédent, nous avons proposé de contourner ces inconvénients en développant deux structures de capteurs à faible coût. Ces capteurs ont finalement été réalisés dans la centrale technologique du LAAS-CNRS. Nous allons maintenant étudier les potentialités de ces composants.

Ce chapitre présente tout d'abord les caractéristiques électriques effectuées sur des capteurs tests puis traite des résultats physico-chimiques obtenus (sensibilité, sélectivité et stabilité) dans différentes conditions (variations des tensions de polarisation, étude de l'influence des paramètres extérieurs, étude de différentes électrodes...). Ces micro-capteurs ont ensuite été adaptés pour la détection enzymatique. Les membranes enzymatiques ont été déposées d'une part manuellement par microgouttes. Puis, pour aller plus loin et pour considérer le développement industriel des biodétecteurs, la fabrication collective des couches sensibles a été développée en utilisant les techniques de photolithographie décrites au chapitre précédent. Les deux processus technologiques sont comparés afin d'optimiser les propriétés de détection de l'urée et de la créatinine. Enfin, nous avons démontré la possibilité de mesurer ces éléments dans un milieu complexe tel que le dialysat et nous montrerons en fin de ce chapitre les caractéristiques obtenues.

I. Méthodes de caractérisation

I.1. Appareils de mesure

Le dispositif expérimental utilisé pour la caractérisation des ISFETs comprend un générateur de tension HP4140B, une cage de Faraday, une électrode de référence et un PC. Comme nous le verrons plus loin dans ce chapitre, la cage de Faraday n'est pas indispensable, elle sert toutefois à protéger le circuit contre la lumière à laquelle le capteur chimique ISFET est sensible. Le générateur de tension HP4140B permet de mesurer l'intensité du courant circulant entre le drain et la source (I_{ds}) en fonction de la tension de grille (V_{gs}). Le courant de polarisation a été imposé dans toutes les manipulations à 2 Volts. Un ordinateur permet de piloter le générateur de tension et de visualiser les valeurs recueillies sur le moniteur. Pour toutes nos mesures, nous avons appliqué une rampe de tension de vitesse dV/dt constante. Le logiciel associé à ces mesures a permis de régler les temps d'acquisition et d'automatiser les manipulations.

I.2. méthode de caractérisation

Le principe de caractérisation des composants ChemFET est relativement simple. Il consiste à mesurer le courant drain-source en fonction de la tension V_{gs} . Cette tension est appliquée sur l'électrode de référence et permet de polariser la solution. Elle est équivalente à une polarisation de grille dans le cas d'un MOSFET et applique un potentiel au niveau de la grille. Nous avons utilisé dans un premier temps une électrode de référence au calomel (XR110) remplie de solution KCl saturée, fournie par Radiometer analytical, puis dans un second temps nous avons utilisé une électrode de référence simple jonction remplie d'une solution Ag/AgCl, fournie par Orion. Les résultats obtenus par ces deux électrodes sont similaires. Le substrat et la source sont reliés à la masse. La tension de polarisation appliquée sur le drain a été fixée à 2 Volts. Le transistor ChemFET travaille alors en régime de saturation, il est alors possible de relier le courant drain-source au pH de l'électrolyte par la relation suivante :

$$I_{ds} = Kp(V_{gs} - V_{T_{pH}})^2 \quad \text{équation III.1}$$

L'exploitation des courbes $I_{ds} = f(V_{gs})$ pour un courant arbitrairement fixé à 100 μA permet de relever la tension de seuil correspondante et ainsi de déterminer la sensibilité du

capteur. Si la valeur du pH de la solution change, la tension de seuil de l'ISFET (V_{TpH}) change ainsi que le courant de drain. Ainsi, pour deux solutions de potentiel hydrogène (pH) différent, l'écart mesuré entre les tensions de grille sera proportionnel à l'écart de pH pour un courant drain-source fixé (voir équation I.15 du chapitre I).

Il existe des dispositifs électroniques appelés ISFET-mètre qui permettent directement de lire une tension de sortie proportionnelle au pH. Le principe est le même que celui énoncé précédemment. Une rétroaction électronique permet de rajuster la tension fixée par l'électrode de référence de telle manière, que le courant de drain soit maintenu constant à la valeur I_0 . L'écart entre la nouvelle tension de grille et l'ancienne est toujours proportionnel à la variation de pH.

I.3. Préparation des solutions

Afin de déterminer les caractéristiques de nos composants ISFET, nous avons dans un premier temps utilisé des solutions tampons standards de pH 4,01; 7,0 et 10,01. Puis, afin d'étendre la gamme, nous avons préparé diverses solutions électrolytiques. Pour préparer des solutions à des pH voisins de 2; 4 ; 5 ; 8 ; 10 ; 12, nous avons mélangé des solutions d'acide chlorhydrique HCL et la base TMAH(tétra méthyl amonium hydroxyde). Il était préférable de ne pas utiliser des bases classiques telles que la soude (NaOH) ou la potasse (KOH) puisque ces bases contiennent des ions K^+ et Na^+ qui perturbent les propriétés de piégeage de la membrane Si_3N_4 de l'ISFET. Pour mesurer les valeurs du pH obtenues nous avons utilisé un pH-mètre référencé EcoScan ion 6 associé à une électrode pH standard Ag/AgCl référencé Orion 91-02. L'influence des ions interférents tels que le sodium et le potassium, a été mesurée dans des solutions, préparées par nos soins, pour différent pK et pNa. Ces solutions ont été obtenues en pesant des sels de chlorure de sodium (NaCl) et de chlorure de potassium (KCL) dissous dans de l'eau désionisé. Des électrodes à ions spécifiques référencées Elite 8031Na et Elite 8230K ont permis de contrôler la teneur en sodium et potassium des solutions tests obtenues. Nous rappellerons très brièvement que le pK et pNa sont définis par les relations suivantes : $pK = -\log[K^+]$ et $pNa = -\log[Na^+]$

La détection de l'urée a été tout d'abord effectuée en diluant de l'urée en poudre, fournie par Sigma (réf : 9002-13-5), dans des solutions tampons de citrate phosphate (pH=7) puis dans du dialysat (pH=7,6). Les concentrations en urée ont été choisies dans les gammes pathologiques d'un patient hémodialysé, *i.e.* : entre 5 et 50 mmol/L.

La détection de la créatinine a été effectuée en utilisant deux méthodes différentes. Tout d'abord, les solutions analysées ont été préparées dans du dialysat en diluant des solutions liquides de créatinine fournis par Sigma (réf. 925-11). Cet ensemble dédié originalement au diagnostic contient différentes solutions de créatinine diluées dans de l'acide chlorhydrique (HCL), ceci perturbe le pH des solutions. Nous avons donc dans un second temps employé des solutions préparées en diluant la créatinine en poudre achetée de Fluka (réf. 27910) dans le dialysat. De nouveau, les concentrations ont été choisies en tenant compte des gammes pathologiques d'un patient dialysé, ie : 10 et 1000 $\mu\text{mol/L}$ pour la créatinine.

II. Caractérisation des MOSFETs

Dans un premier temps, nous avons caractérisé des composants tests dont la grille a été totalement métallisée. Ces composants de type MOSFET permettent de valider le bon déroulement du procédé technologique. Nous avons ainsi pu déterminer l'influence des paramètres primordiaux et obtenir les caractéristiques classiques du transistor MOS.

II.1. Effet de la polarisation du drain

La caractérisation des propriétés électriques des capteurs de type MOSFET a été réalisée à température ambiante. La tension de commande, appliquée à la grille (V_{gs}) est un paramètre de cette mesure ; elle a été successivement fixée à 0, 1, 2 et 3 Volt. Les caractéristiques $I_{ds}(V_{ds})$ obtenues sont reportées sur la figure III.1. Ces graphes montrent les résultats obtenus pour deux structures complémentaires MOSFET-REFET de deuxième génération. Nous pouvons vérifier, du premier coup d'œil, que ces composants sont parfaitement appariés.

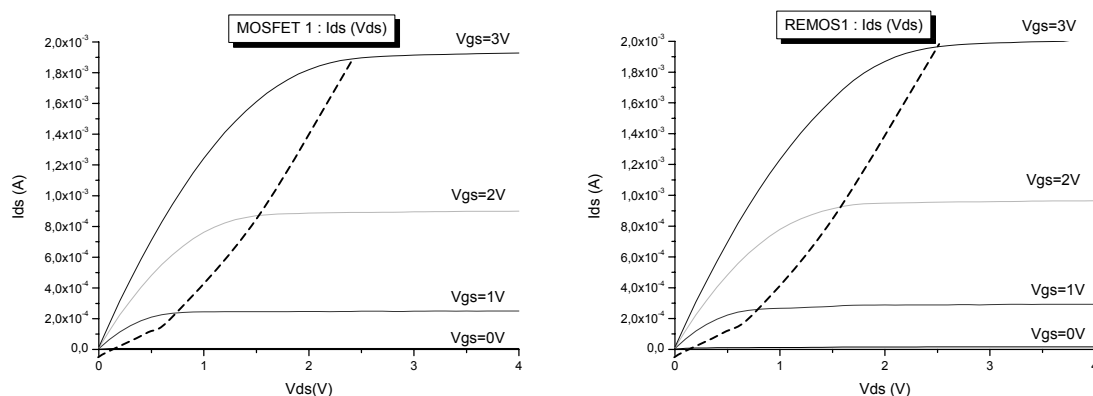


Figure III.1 : Comparaison des caractéristiques de transfert $I_{ds}(V_{ds})$ d'une structure MOSFET et de sa structure complémentaire REFET, obtenues pour différentes valeurs de V_{gs} . Ces

composants sont des transistors MOS à enrichissement, c'est à dire qu'ils se mettent à conduire à partir d'une tension de seuil positive. Nous pouvons voir dans ce cas que le transistor est fermé pour V_{gs} égale 0 V et qu'il conduit lorsque V_{gs} égale 1 V. La tension de seuil est donc inférieure à 1 Volt. La partie à gauche de la parabole en pointillés, représente la zone ohmique, la partie à droite, représente la zone de saturation. Pour être sûr de travailler en régime de saturation, nous fixerons par la suite, une tension de polarisation V_{ds} comprise entre 1 et 2 Volts. D'autre part, nous pouvons observer que dans la zone de saturation, le courant reste constant quelle que soit la valeur de V_{ds} . Ceci traduit le fait que la longueur du canal est suffisante (supérieure à 10 μm) et ne laisse pas apparaître des variations de courant dues à l'effet Early. Dans cette partie, le transistor se comporte donc comme une source de courant réglable par la tension de grille V_{gs} .

II.2. Effet de la tension de commande V_{gs} .

Nous avons ensuite déterminé les caractéristiques $I_{ds}(V_{gs})$ pour ces mêmes composants. La figure III-2 représente la réponse obtenue avec un composant de première génération ; la tension de seuil est de l'ordre de 1,5 V, comme prévue lors de la simulation. Pour les composants de deuxième génération la tension de seuil est de l'ordre de 0.5 V. Là aussi les composants sont parfaitement appairés (figure II.3).

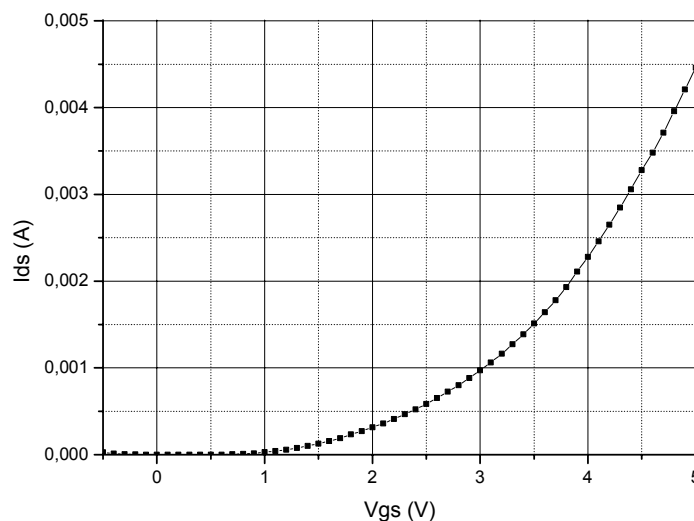


Figure III.2 : Caractéristiques de transfert $I_{ds}(V_{gs})$ obtenue pour une structure MOSFET.

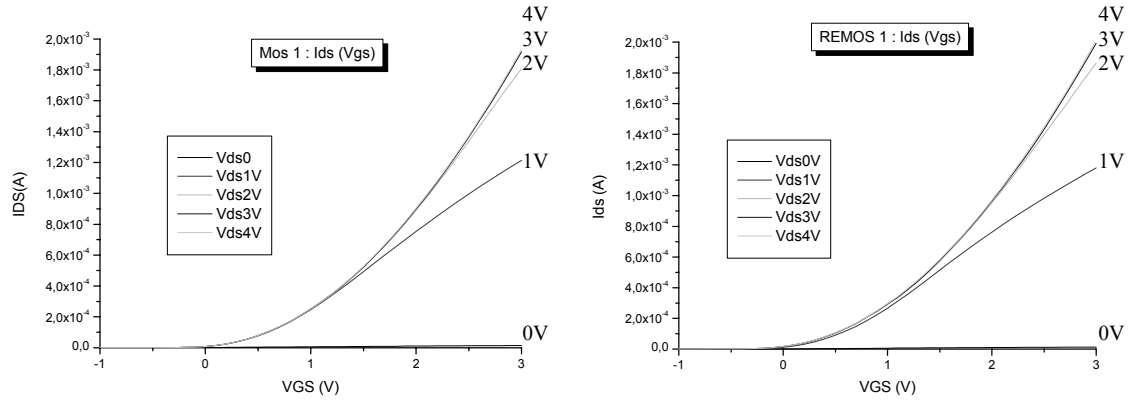


Figure III.3 : Comparaison des caractéristiques de transfert $I_{ds}(V_{gs})$ d'une structure MOSFET et de sa structure complémentaire REFET, obtenues pour différentes valeurs de V_{ds} . Au vu des caractéristiques obtenues sur la figure III.3 et en accord avec ce qui a été écrit précédemment, la tension de polarisation optimale sera obtenue pour une valeur de V_{ds} de l'ordre de 2 Volts. En effet, pour cette valeur, le transistor est en régime de saturation et les variations $I_{ds}(V_{gs})$ sont typiques de l'équation III.1.

Lorsque la tension de commande est supérieure à la tension de seuil, les porteurs minoritaires (électrons) sont attirés par la tension appliquée au drain ; le canal devient alors conducteur. Pour une valeur de grille importante (2 Volts par exemple dans le cas des transistors de deuxième génération), la réponse du MOS est très rapide et le courant I_{ds} mesuré est important (1 mA).

II.3. Effet de la polarisation du caisson

La polarisation du caisson P_{well} par rapport au substrat permet d'influencer certains paramètres. Ainsi, la valeur de la tension de seuil dépend de la valeur de polarisation du caisson d'isolation : V_{BS} . Comme le montre l'équation III.2, une variation de la tension V_{BS} induit un décalage de la tension de seuil (les valeurs de Φ_f , N_a , ϵ_s et C_{ox} ont déjà été explicitées dans le premier chapitre).

$$\Delta V_T = \frac{\sqrt{2\epsilon_s q N_a}}{C_{ox}} (\sqrt{(2\Phi_f + V_{bs})} - \sqrt{2\Phi_f}) \quad \text{équation III.2}$$

Ainsi, pour une valeur de polarisation du caisson négative, la tension de seuil sera augmentée.

V_{BS}	Courant de fuite (I_{off})	Tension de seuil (V_T)	Transconductance (g_{msat})
0	$3 \cdot 10^{-7}$ A	0,3 V	$6,25 \cdot 10^{-4}$ S
Non connecté	$3 \cdot 10^{-7}$ A	0,3 V	$6,25 \cdot 10^{-4}$ S
-1,5 V	$1,7 \cdot 10^{-6}$ A	1,6 V	$6,25 \cdot 10^{-4}$ S
+1.5 V	$5 \cdot 10^{-5}$ A	0,1 V	$6,25 \cdot 10^{-4}$ S

Tableau III.1 : Effet de la tension de polarisation du substrat (V_{BS}) sur le courant de fuite (I_{off}), la tension de seuil (V_T) et la transconductance (g_{msat}).

Le tableau ci-dessous (tableau III.1), met en évidence les changements de comportement du transistor en fonction des différentes tensions de polarisations du caisson (V_{BS}), pour les composants de deuxième génération.

Pour une meilleure isolation et une utilisation simplifiée, il sera préférable de relier à la masse, le substrat, le caisson P_{well} et les sources des transistors MOS. Toutefois en fonction de la valeur de polarisation du caisson (V_{BS}) choisie, il sera possible d'ajuster la tension de seuil à une valeur cible.

Les courants de fuites, bien que relativement importants, comparés à un transistor MOS conventionnel, ne dégradent en aucun cas le fonctionnement du transistor et sont tout à fait acceptables. Toutefois, ils mettent en évidence une qualité très moyenne de l'oxyde de grille. La transconductance, représente la pente de la caractéristique I_{ds} (V_{gs}) dans la partie linéaire. Cette transconductance est essentiellement fonction des dimensions de grille, de la mobilité des porteurs dans le canal et de la capacité d'oxyde. Celle-ci restant invariante et étant conforme aux valeurs simulées permet de conclure au bon fonctionnement du MOSFET.

III. Caractérisation des ISFETs

III.1. Fonctionnement des transistors ISFETs

Les courbes expérimentales de variation du courant circulant dans le canal (I_{ds}) en fonction de la tension appliquée sur le drain (V_{ds}) et de la tension appliquée sur l'électrode de référence Ag/AgCl (V_{gs}) ont été obtenues à température ambiante, dans une solution tampon de pH 7. Ces courbes, présentées sur la figure III.4, font apparaître les régimes de fonctionnement linéaire et en saturation, conformément aux courbes obtenues précédemment avec les transistors de type MOSFET. Les caractéristiques obtenues correspondent aux résultats attendus, donnés par la simulation. La tension de seuil est de l'ordre de 0,7 Volt et la transconductance est de l'ordre de $7 \cdot 10^{-4}$ A/V².

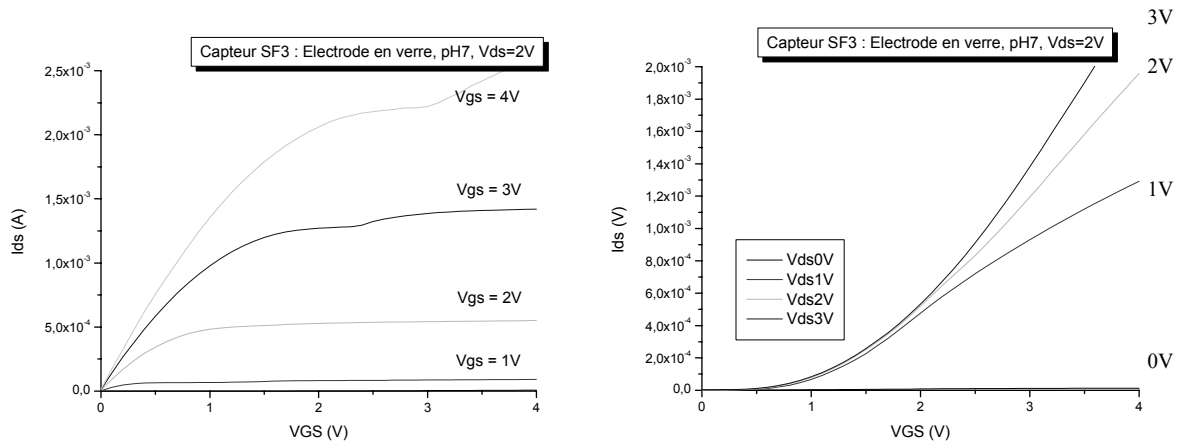


Figure III.4 : Caractéristiques de transfert $I_{ds}(V_{ds})$ et $I_{ds}(V_{gs})$ d'un pH-ISFET, obtenue dans une solution tampon de pH 7 avec une électrode de référence Ag/AgCl.

III.2. Effet de la polarisation du caisson

Le composant ISFET est plongé dans une solution de pH 7, la tension de polarisation V_{ds} a été fixée à 2 Volts, de telle sorte que le transistor soit en régime de saturation. Les courbes reportées sur la figure III.5 rendent compte des variations de comportement du transistor en fonction des différentes polarisations du caisson P_{well} .

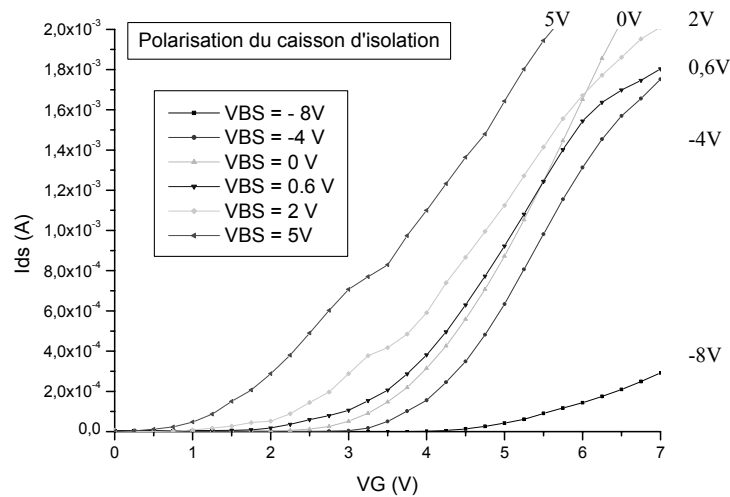


Figure III.5 : Effet de la tension de polarisation du caisson (V_{BS}) sur un composant ISFET; mise en évidence du décalage de la tension de seuil (V_T).

Les conditions optimales sont obtenues lorsque la pente (transconductance) est linéaire, abrupte et ne subit pas de phénomène de saturation, ce cas est obtenu pour une plage de tension V_{BS} comprise entre -4 et 2 Volts. La transconductance mesurée pour une tension

de polarisation V_{ds} de 0 Volt est de $6,5.10^{-4}$ S. Cette valeur correspond aux valeurs simulées et aux valeurs mesurées avec les transistors MOS. Par soucis de simplification nous connecterons par la suite le caisson d'isolation à la masse.

Si la tension V_{BS} est positive, la tension de seuil sera réduite mais le caisson sera alors porté à un potentiel supérieur à la source ce qui implique des courants de fuites importants.

Si la tension V_{BS} est négative, les jonctions sont polarisées en inverse ce qui devrait minimiser les courants de fuites, néanmoins la tension de seuil sera augmentée et pour les valeurs importantes de V_{BS} on voit apparaître des effets propres à l'apparition de la tension de pincement ($V_P = V_{Dsat} = V_{GS} - V_T$).

III.4. Effet des électrodes.

Nos capteurs chimiques disposent d'une électrode de référence métallique intégrée. Cette électrode est composée d'une couche de titane, recouverte d'une couche d'or. Pour caractériser le rendement de cette électrode, nous avons tout d'abord comparé les mesures obtenues sur un même ISFET avec une électrode de référence standard Ag/AgCl et une électrode intégrée. Les mesures obtenues avec des capteurs de première génération sont reportées sur les figures III.6 et III.7 telles que nous les visualisons avec l'interface graphique du logiciel d'acquisition. La figure III.6 montre une mesure effectuée dans une solution tampon de pH 7, avec l'électrode intégrée. La tension de seuil relevée est de l'ordre de 2,6 V. La figure III.7 montre une mesure effectuée sur le même capteur, dans les mêmes conditions, avec l'électrode de référence Ag/AgCl. La tension de seuil relevée est de l'ordre de 1,3 V.

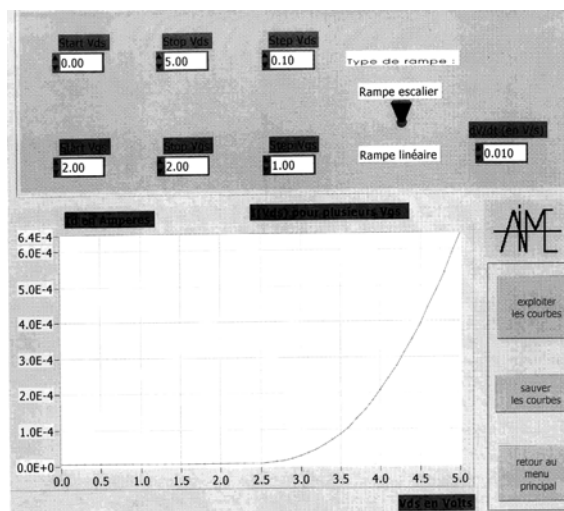


Figure III.6 : Caractéristique de transfert $I_{ds}(V_{gs})$ visualisé avec l'interface graphique du logiciel d'acquisition ; réponse de l'ISFET avec l'électrode intégrée.

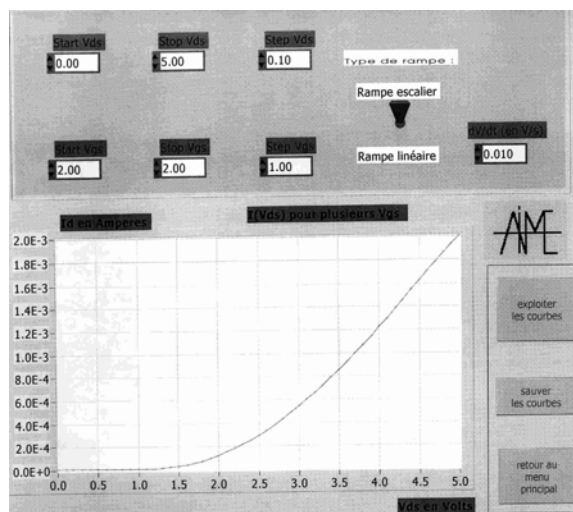


Figure III.7 : Caractéristique de transfert $I_{ds}(V_{gs})$ visualisé avec l'interface graphique du logiciel d'acquisition ; réponse de l'ISFET avec l'électrode de référence Ag/AgCl

Pour aller plus loin dans une estimation du rendement des électrodes, nous avons ensuite comparé les résultats obtenus, avec un transistor de deuxième génération, en polarisant la solution aqueuse grâce à l'électrode intégrée ($IsEint$), la même électrode mais provenant d'un deuxième composant ($IsECp2$), une électrode de référence standard Ag/AgCl ($IsEref$), un fil d'or ($IsEfilAu$) et un fil de platine ($IsEfeiPt$). Les caractéristiques obtenues sont reportées sur la figure III.8.

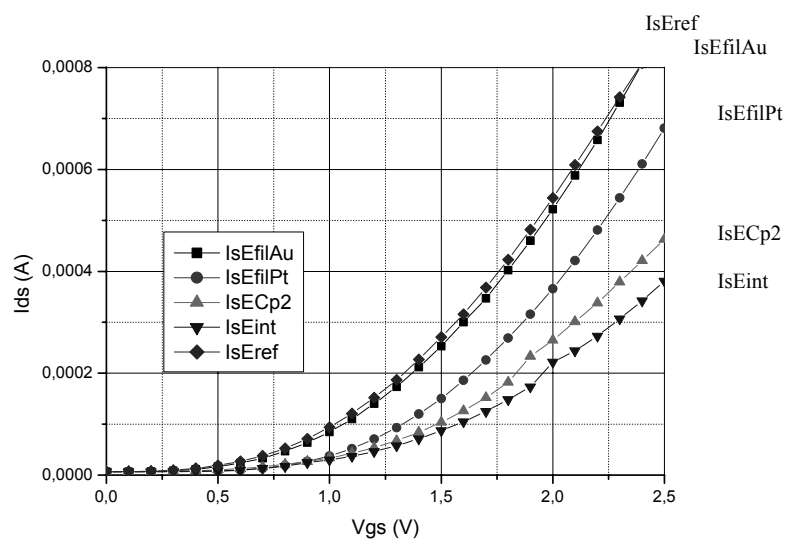


Figure III.8 : Effets des électrodes sur la réponse de l'ISFET, comparaison d'une électrode de référence Ag/AgCl, d'un fil d'or, d'un fil de platine et d'électrodes intégrées Ti/Au.

Nous pouvons remarquer, d'après ce graphe, que les transconductances (pentes) des courbes représentant les mesures effectuées avec l'électrode de référence Ag/AgCl, le fil d'or et le fil de platine sont quasiment identiques. Ceci traduit donc un fonctionnement correct de

l'électrode de référence, celle-ci polarise bien le milieu aqueux et ne modifie pas le comportement du transistor. Toutefois nous observons un décalage de la tension de seuil (V_T). Sur cet exemple, la tension de seuil avec l'électrode de référence Ag/AgCl et le fil d'or apparaît pour une tension de grille (V_{GS}) de 0,3 Volts, alors que si on utilise les électrodes de référence métalliques intégrées, la tension de seuil apparaît pour une tension de grille de 0,7 Volts. Ce décalage s'explique par la tension d'extraction du métal (Φ_{MS}) que l'on retrouve dans l'expression de la tension de seuil. En effet, ce terme varie en fonction du conducteur utilisé, dans le cadre des ISFETs il faut tenir compte du métal utilisé et de la solution. Afin d'améliorer l'efficacité de notre électrode intégrée, il pourrait être intéressant d'utiliser comme métal du platine. Ce test démontre néanmoins la fonctionnalité de nos capteurs avec différentes électrodes.

IV. Caractérisation chimique

IV.1. Sensibilité au pH

Les réponses au pH des capteurs chimiques ont été étudiées tout d'abord dans des solutions tampons standards de pH : 4,01 ; 7 ; 10,01, en utilisant une électrode de référence Ag/AgCl. La tension appliquée au drain (V_{ds}) est fixée à 2 Volts, la source et le caisson d'isolation sont reliés à la masse. Nous pouvons ainsi observer sur la figure III.9 que la tension de seuil du composant varie proportionnellement au pH. L'accroissement du pH translate les courbes $I_{ds}(V_{gs})$ vers les valeurs croissantes.

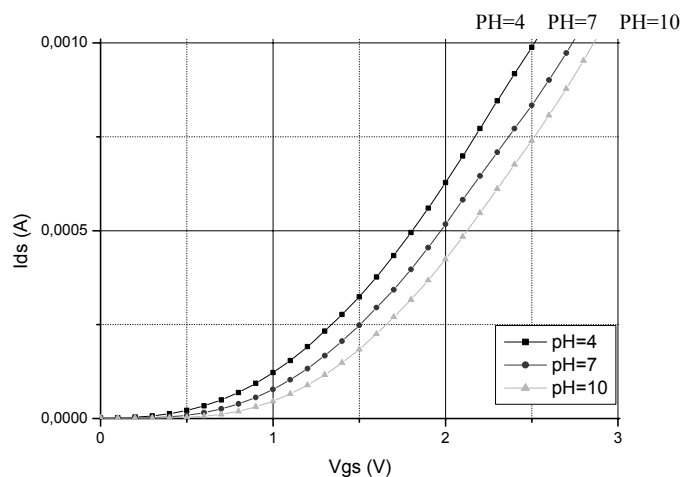


Figure III.9: Etude de la réponse au pH d'un capteur ; mise en évidence du décalage des caractéristiques $I_{ds}(V_{gs})$ en fonction du pH.

Pour déterminer la sensibilité au pH, de l'ISFET, nous avons relevé pour un courant I_{ds} valant $100 \mu A$, la valeur appliquée à l'électrode : V_{gs} . Cette valeur est ensuite reportée sur un graphe en fonction du pH. Nous avons ainsi reporté sur la figure III.10 les sensibilités mesurées avec une électrode de référence Ag/AgCl et l'électrode intégrée, pour un capteur de première génération. Les sensibilités mesurées sont respectivement de 55 mV/pH (91% de rendement comparé à la loi de Nernst) et de 40 mV/pH (66% de rendement comparé à la loi de Nernst), soit une perte d'efficacité de l'ordre de 40 % avec l'électrode métallique intégrée.

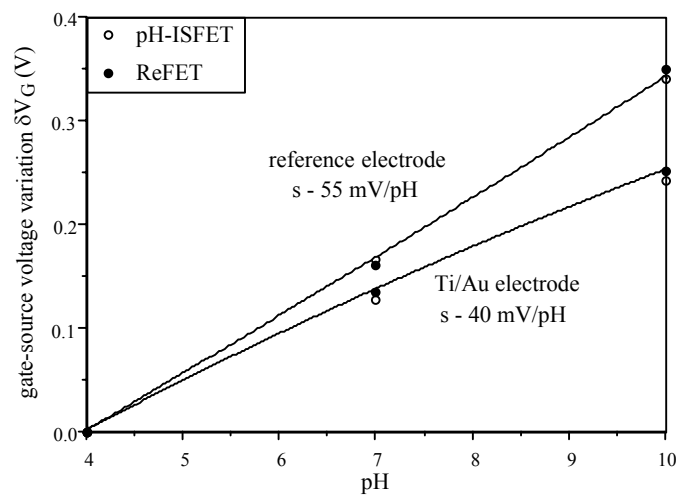


Figure III.10: Etude de la sensibilité au pH d'une structure ISFET-REFET ; comparaison de l'efficacité de l'électrode de référence Ag/AgCl et de l'électrode intégrée.

Une analyse différentielle a été effectuée par caractérisation $I(V)$, dans des solutions tampons ($\text{pH} = 4,01$; $7,00$ et $10,01$), d'une structure différentielle ISFET/REFET.

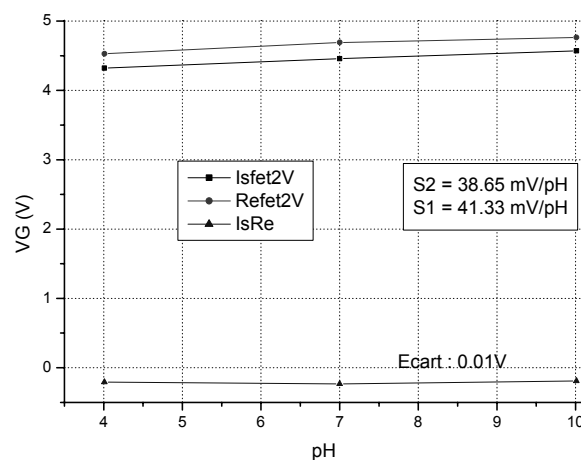


Figure III.11: Sensibilité d'une structure ISFET-REFET, évolution des écarts de mesures entre l'ISFET et le REFET vis à vis du pH.

Ces mesures (V_{gs} relevées pour $I_{ds} = 10^{-4} A$) ont mis en évidence une bonne propriété de détection de ces capteurs avec l'électrode intégrée (Ti/Au) et ont démontré un bon fonctionnement de la structure différentielle ISFET-REFET (figure III.11). La mesure différentielle montre un écart inférieur à 1 mV/pH.

Pour caractériser les ISFETs sur un échantillonnage plus important, nous avons préparé des solutions à base de TMAH et HCl. Ces solutions ne comportent ni sodium, ni potassium, donc pas d'ions similaires interférents. Le pH des solutions obtenues a été mesuré avec électrode pH standard Ag/AgCl référencée Orion 91-02. Nous avons utilisé comme électrode de référence un fil en or ; la sensibilité mesurée est de 54 mV/pH (voir figure III.12), avec une excellente linéarité.

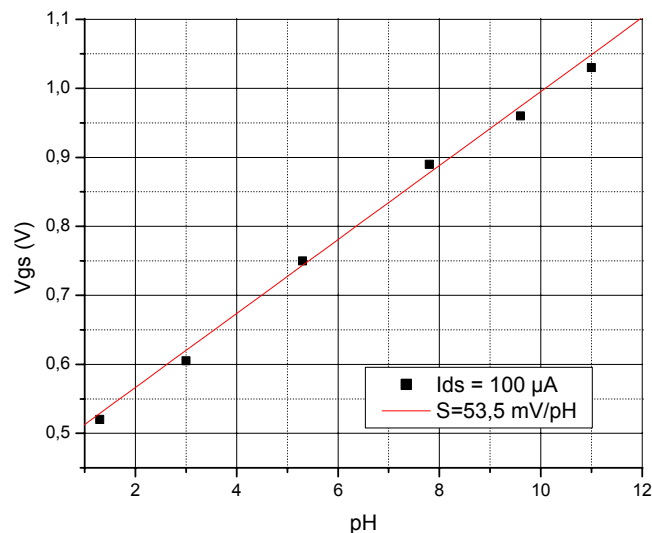


Figure III.12: Sensibilité au pH avec un fil d'or en guise de pseudo-électrode de référence; mesure effectuée dans des solutions à base de TMAH et HCl.

IV.2. Stabilité, temps de réponse et durée de vie des capteurs.

Outre la sensibilité, les caractéristiques importantes des capteurs sont la stabilité, la durée de vie et le temps de réponse. La stabilité traduit la reproductibilité des mesures dans le temps et dans des conditions identiques, la durée de vie est le pouvoir de résister aux agressions multiples du milieu à tester et le temps de réponse rend compte de la rapidité d'analyse du système.

IV.2.1. Temps de réponse et stabilité.

Une série de tests a consisté à tremper un capteur dans des solutions de pH différents (4,01 ; 7,0 et 10,01). Ce capteur a au préalable baigné 15 minutes dans de l'eau désionisé pour humidifier la couche sensible. Les mesures effectuées en fonction du temps sont reportées sur la figure III.13 et montrent que la réponse du capteur est assez rapide.

La mesure est stabilisée après seulement 2 minutes. Durant le temps de la manipulation, on peut remarquer que la réponse du capteur reste inchangée pour un pH donné.

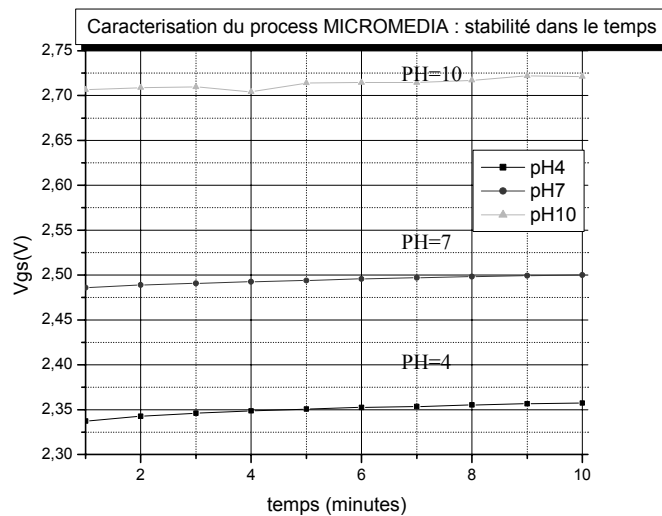


Figure III.13: Evaluation du temps de réponse du capteur et stabilité des mesures dans des solutions tampons de pH 4, 7 et 10.

IV.2.2. Durée de vie.

Deux tests de durée de vie du composant ont été entrepris. Le premier test considère un composant stocké en permanence dans une solution tampon de pH = 7. Le deuxième test consiste à mesurer le capteur dans une solution de pH 10 puis de le rincer, et le stocker à l'air ambiant. Dans les deux cas, les mesures après 1 mois ne montrent pas de dérive.

Pour aller plus loin, et considérer les potentialités d'applications de ces ISFETs nous avons utilisé deux structures ISFET-REFET encapsulées avec un silicone biocompatible. La sensibilité de ces capteurs a été mesurée au cours du temps. Entre deux séries de mesure, les capteurs étaient stockés dans une solution tampon de pH 7. Le graphe ci-dessous figure III.14 montre les variations obtenues au cours du temps pour ces structures.

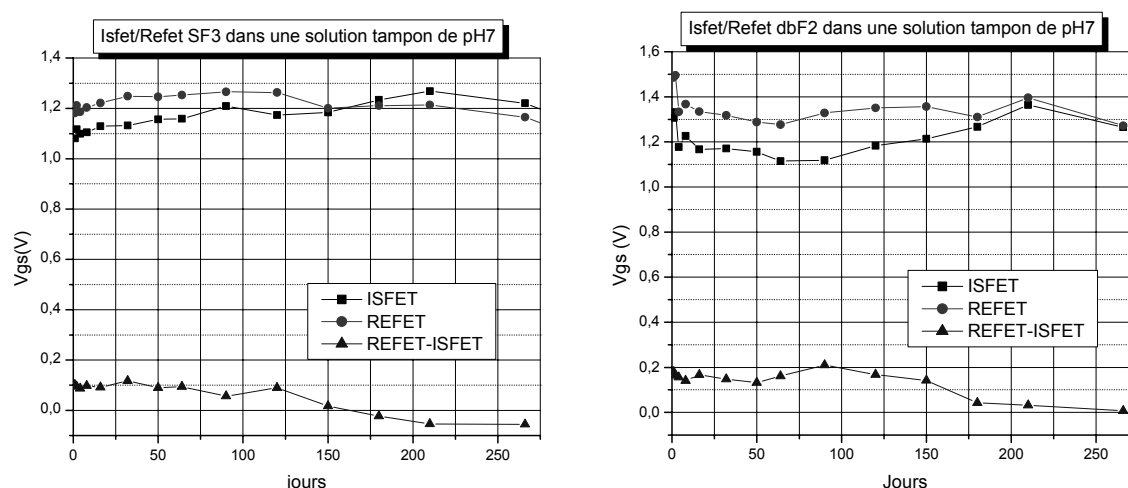


Figure III.14: Etude de la durée de vie des capteurs stockés en permanence dans une solution tampon de pH 7, mesures réalisées avec une électrode de référence Ag/AgCl.

Ce test montre que les capteurs dérivent sensiblement au cours du temps (60 mV pour 90 jours), toutefois cette légère dérive temporelle est compensable par une mesure différentielle. Sur ce graphe les mesures ont été effectuées sur environ 9 mois mais nous pouvons affirmer que les capteurs sont toujours opérationnels après plus d'un an de stockage dans une solution tampon.

D'autres essais ont été entrepris avec une résine époxy classique (ref H70E de chez EPO-TEK), les résultats obtenus sont mitigés. En effet, nous avons pu constater que la durée de vie des ISFETs dépassait les 3 mois en stockage dans une solution de pH 7 et dans du dialysat. Cependant, la dérive du composant est trop importante au fil du temps. Ce type d'encapsulation pourrait donc permettre au composant de fonctionner correctement le temps d'une hémodialyse mais, au-delà, les résultats obtenus ne sont pas fiables. La cause de cette mauvaise stabilité est certainement due à la porosité de l'époxy.

Par conséquent, les tests effectués sur l'encapsulation des capteurs chimiques démontrent qu'il est préférable d'utiliser un silicone biocompatible plutôt qu'une résine époxy.

IV.3. Reproductibilité des mesures

Les capteurs avec lesquels nous avons étudié la durée de vie ont aussi été utilisés pour déterminer la dérive de la sensibilité au cours du temps. Les résultats sont remarquables, en effet comme nous pouvons le remarquer sur la figure III.15, bien que les tensions de seuil des capteurs subissent un léger décalage au cours du temps ; la sensibilité reste constante. Nous pouvons vérifier que cette sensibilité est toujours de 54 mV/pH après 300 jours de stockage dans une solution tamponnée.

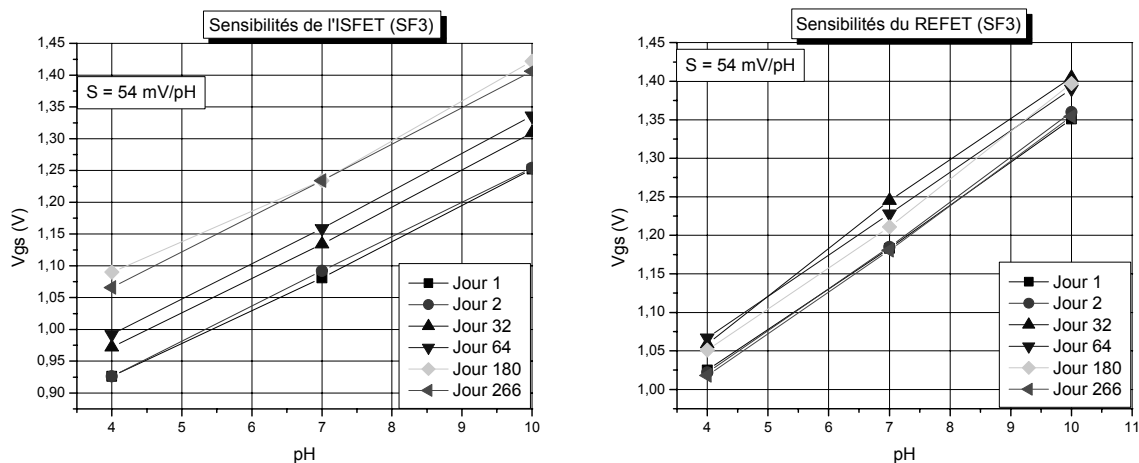


Figure III.15 : Etude des variations des sensibilités sur une durée de 9 mois, comparaison de deux capteurs chimiques (ISFET et REFET) appairés.

Ce résultat démontre la potentialité d'étendre l'utilisation de ces capteurs à d'autres domaines que l'usage unique. Il suffira de réétalonner le capteur avant utilisation.

IV.4. Reproductibilité du procédé technologique

Pour estimer la reproductibilité et les rendements de fabrication des capteurs, nous avons effectué une rapide étude statistique, sur les premiers composants réalisés. Cette étude porte sur 49 échantillons prélevés sur trois plaquettes réalisées lors du même procédé technologique.

Les mesures pour déterminer les tensions de seuils ont été effectuées dans une solution tampon de pH 7.0 et les mesures pour déterminer les sensibilités ont été effectuées dans des solutions tampons de pH 4,01 ; 7.0 et 10,01. Les tensions de polarisations sont les suivantes : $V_{DS} = 2V$ et $V_{BS} = 0V$.

Première plaquette :

Substrat : type N (phosphore) dope à 1.10^{13} atome/cm² (4 Ω-cm).

Première série de mesure :

Nombre d'échantillons testés : 10 capteurs

Rendements : η_{isfet} : 78%

Tension de seuil :

Avec l'électrode intégrée : $V_{T\text{moyen}}$: 2,5 V ; gamme [1,8 ; 2,7] V

Avec l'électrode standard : $V_{T\text{moyen}}$: 1,2 V ; gamme [0.9 ; 1,4] V

Sensibilité moyenne: 56 mV/pH avec électrode de référence en verre,
30 mV/pH avec électrode de référence métallique

Deuxième série de mesure:

Nombre d'échantillons testés : 20 capteurs

Rendements : η_{isfet} : 80%

Tension de seuil :

Avec l'électrode intégrée $V_{T\text{moyen}}$: 2,7V ; gamme [2 ; 2,8V]

Avec l'électrode standard : $V_{T\text{moyen}}$: 1,4V ; gamme [1,1 ; 1,6V]

Sensibilité moyenne: 58 mV/pH avec électrode de référence en verre,
33 mV/pH avec électrode de référence métallique

Deuxième plaquette :

Substrat : type N (phosphore) dope à 1.10^{13} atome/cm² (4 Ω-cm).

Première série :

Nombre d'échantillons testés : 19 capteurs

Rendements : η_{isfet} : 36%

Tension de seuil :

Avec l'électrode intégrée $V_{T\text{moyen}}$: 2,7V ; gamme [2.6 ; 2,8V]

Avec l'électrode standard : $V_{T\text{moyen}}$: 1,4V ; gamme [1,2 ; 1,5V]

Sensibilités moyennes : 55 mV/pH avec électrode de référence en verre,
30 mV/pH avec électrode de référence métallique,

Un rendement de l'ordre de 80% a aussi été obtenu avec des composants de dernière génération ($V_T = 0,7$ V). Ceci permet donc de valider le procédé de réalisation technologique. Toutefois, il est à noter que les résultats obtenus avec l'électrode intégrée, peuvent varier d'une plaquette a l'autre. Les mesures effectuées par la suite et notamment celles concernant la mesure de l'urée et de la créatinine dans du dialysat ont été effectuées grâce au fil d'or.

IV.5. Perturbations extérieures

Nous avons étudié dans ce paragraphe l'influence des paramètres extérieurs pouvant perturber les mesures. Cette étude concerne tout d'abord l'influence du bruit et de la lumière, puis la sélectivité des capteurs et enfin l'influence de la mesure en dynamique.

IV.5.1. Effet des paramètres extérieurs.

Les mesures ont été effectuées dans une simili-cage de Faraday. Cette enceinte en cuivre reliée à la terre permet d'isoler une portion d'espace contre l'influence des champs électriques extérieurs (rayonnement électromagnétique). A l'intérieur de la cage, le champ électrique est nul, même si des charges sont placées à l'extérieur ou si la cage est reliée à un générateur électrostatique. Notre cage de Faraday n'est pas grillagée mais pleine, ce qui permet de protéger le circuit contre la lumière.

Pour estimer les effets de ces paramètres extérieurs, nous avons comparé la réponse d'un capteur dans trois conditions différentes. Dans le premier cas, la mesure a été effectuée dans la cage de Faraday, dans le deuxième cas la mesure a été effectuée à l'extérieur de la cage, le capteur étant protégé des effets de la lumière. Dans le troisième cas, la mesure a été effectuée hors de la cage de Faraday, sous lumière ambiante. Les résultats obtenus ont été reportés sur la figure III.16

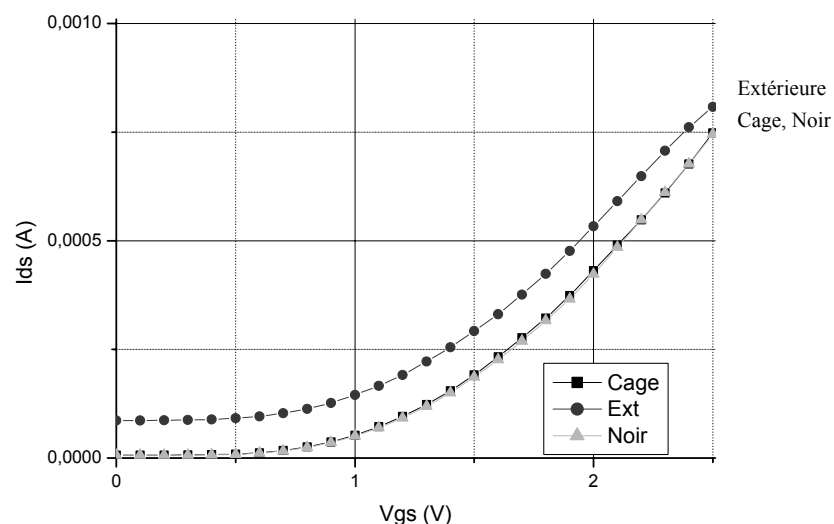


Figure III.16: Influence des effets des paramètres extérieurs (bruit et lumière) sur le signal délivré par un capteur pH-ISFET.

Les résultats de cette étude, montrent que seule la lumière interfère dans la prise de mesure. En effet, il est reconnu que le transistor MOS est sensible aux radiations UV ; celles-ci piègent des charges dans l'oxyde, ce qui a pour effet d'augmenter le courant de fuite. En conséquence de ceci, il ne sera pas nécessaire de travailler dans une cage de Faraday ; en revanche, il sera impératif que le capteur se trouve dans l'obscurité.

IV.5.2. Effet des ions influent sodium et potassium.

La sélectivité représente la capacité du capteur à pouvoir détecter un élément bien déterminé parmi d'autres espèces présentes dans le milieu liquide. Dans le cadre d'applications médicales, ces capteurs seront en contact avec des milieux complexes tels que l'ultrafiltrat plasmatique ou le dialysat. Ces milieux biologiques contiennent bon nombre d'espèces différentes et notamment des ions K^+ et Na^+ . Les capteurs de type ISFETs étant par nature sensible aux ions similaires interférents tels que le sodium et le potassium, il nous a semblé important d'estimer l'influence de ces paramètres.

Le sodium :

L'équilibre hydro-sodé est naturellement contrôlé par les reins pour stabiliser la tension artérielle. Le sel ($NaCl$) est un constituant essentiel de l'organisme. La ration alimentaire quotidienne, indispensable à l'équilibre, comporte environ 0,50 grammes de sel (25 mmol Na). Or, avec les habitudes alimentaires actuelles, les apports de sel sont 20 à 40 fois supérieurs. Face à un tel apport, variable d'un individu à l'autre, l'organisme maintient le taux sanguin de sodium à un niveau constant (142 mmol/l) par l'élimination urinaire. Les concentrations normales en sodium varient entre 135 à 145 mM/L. Dans le cadre d'une séance d'hémodialyse, les concentrations en sodium dans le sang peuvent varier de 130 à 160 mM/L. Dans cette gamme de concentrations nous avons estimé une sensibilité de 20 mV/pNa pour notre capteur (figure III.17).

Le potassium :

Le potassium (K) étant éliminé par le rein et l'élévation de son taux sanguin pouvant être rapide chez le dialysé, sa concentration dans le sang doit être étroitement surveillée : une kaliémie supérieure à 6 mmol/l est dangereuse, avec risque de perturbations cardiaques mortelles. Les concentrations normales en potassium varient entre 3,8 à 4,9 mM/L. Dans le

cadre d'une séance d'hémodialyse, les concentrations en potassium dans le sang peuvent au maximum varier de 2,5 à 4,5 mM/L. Dans cette gamme de concentrations, nous avons estimé une sensibilité de 11 mV/pK pour notre capteur (figure III.18).

Des caractérisations entreprises par Bekkay HAJJI [2], dans le cadre d'une précédente thèse effectuée au LAAS avait montré des sensibilité pour des couches sensibles à base de nitrure de l'ordre de 12 mV/pNa ($pNa < 2$) et 14 mV/pk ($pK < 3$). L'erreur de mesure due à ces ions interférents est donc négligeable dans le cadre de notre application.

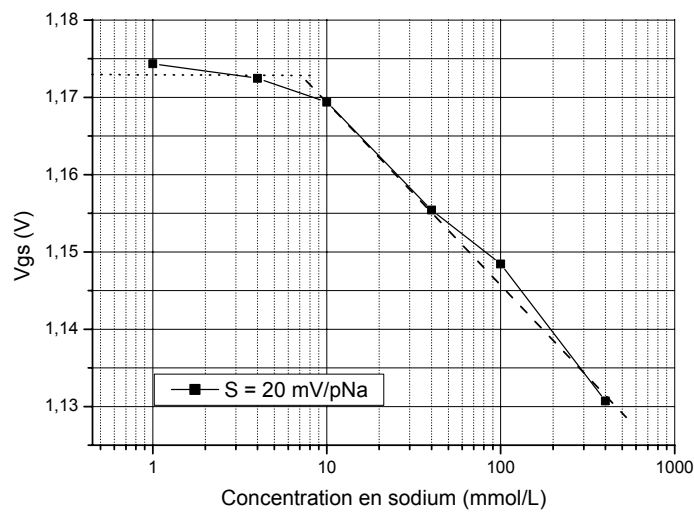


Figure III.17: Etude des interférences de l'ion sodium (Na^+) sur la mesure du pH-ISFET.

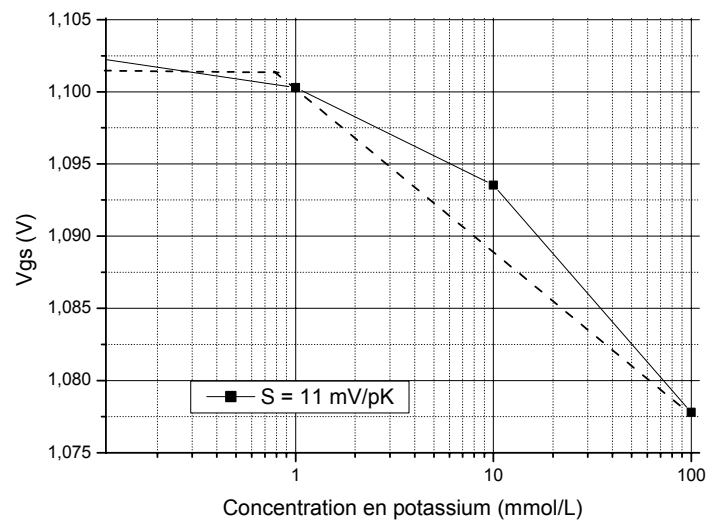


Figure III.18: Etude des interférences de l'ion potassium (K^+) sur la mesure du pH-ISFET.

IV.5.3. Mesure en dynamique.

L'objectif des travaux de recherches décrit dans ce mémoire est de développer des capteurs chimiques, capables de mesurer en continu l'épuration en urée et en créatinine au cours d'une séance d'hémodialyse. Pour arriver à ces fins, il est nécessaire de déterminer quelle sera l'influence de la vitesse de circulation du dialysat sur la mesure. Nous avons donc fait réaliser une cellule de mesure, dans laquelle ont été intégrés un ISFET et un fil d'or servant d'électrode. La circulation du dialysat est imposée par une pompe péristaltique et la méthode de mesure reste la même que celle utilisée précédemment.

Le schéma de principe est montré sur la figure III.19

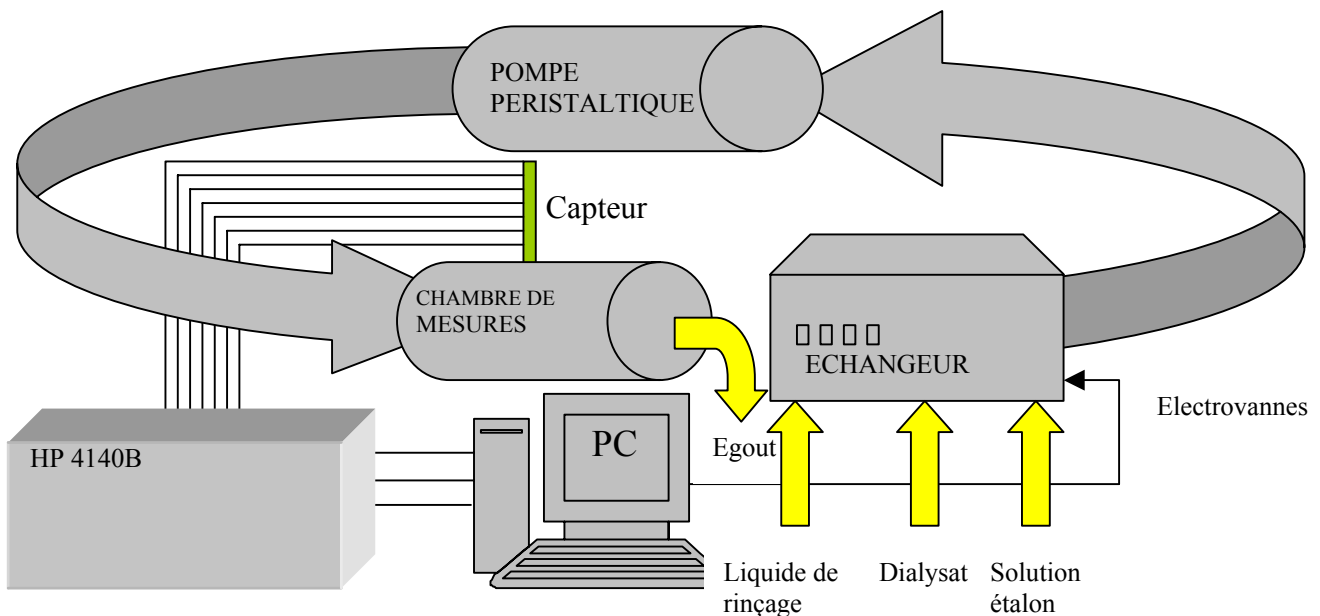


Figure III.19: Schéma de principe du système mis en place pour effectuer des mesures en condition de dialyse.

Nous avons au préalable calibré la vitesse affichée sur la pompe péristaltique en mesurant le débit du circuit hydraulique fermé. La courbe d'étalonnage est reportée sur la figure III.20.

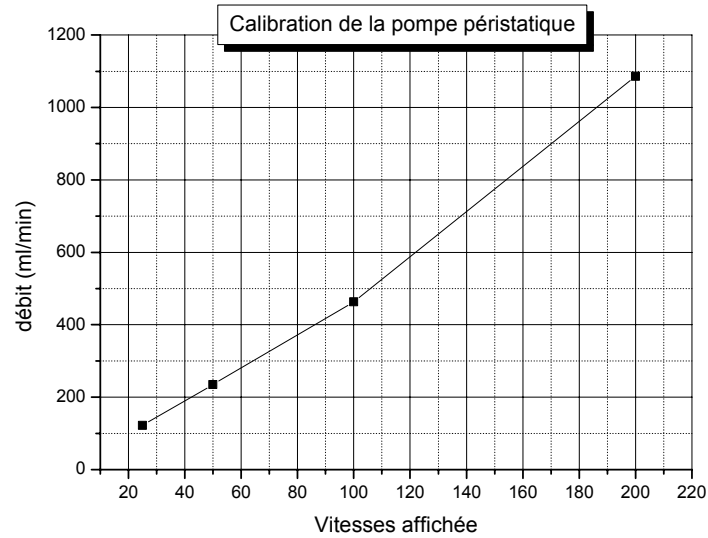


Figure III.20: Calibration de la pompe péristaltique ; mesure du débit en fonction des vitesses affichées par la pompe.

Nous pouvons voir sur la figure II.21 que la détection du pH, en régime dynamique et avec un fil en or en guise d'électrode de référence est très bonne. La sensibilité de l'ISFET est de l'ordre de 46 mV/pH et la réponse de l'ISFET ne subit pas l'influence du débit dans la gamme [100-1100] mL/min. Etant donné que le débit de dialyse est de l'ordre de 500 mL/min, ces capteurs sont donc bien adaptés à une mesure en dynamique dans cadre de l'hémodialyse.

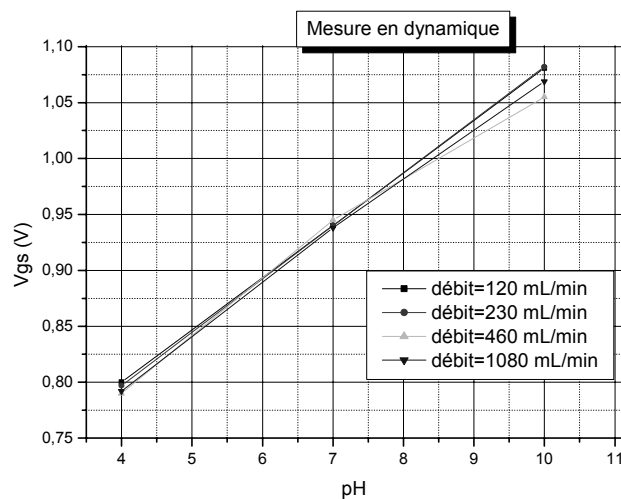


Figure III.21: Etude des sensibilités au pH d'un capteur ISFET, influence du débit des fluides.

V. Détection enzymatique

V.1. Mesures effectuées par l'IFOS

Le laboratoire d'Ingénierie et Fonctionnalisation des Surfaces (IFOS), de l'Ecole Centrale de Lyon associé à ce projet, avait en charge la mise au point et la caractérisation des matériaux chimiquement sensibles pour la détection des espèces recherchées. L'équipe de Mme Jaffrezic-Renault a donc mis au point un protocole de réalisation de couches sensibles, applicable au capteur de type ISFET. Ces membranes sensibles, déposés sur la grille du transistor permettent de réaliser des biocapteurs sensibles, sélectifs et stables. Le principe est basé sur l'utilisation d'enzymes, immobilisés dans une membrane photopolymérisable, chargé avec différents stabilisateurs spécifiques.

Deux approches ont été développées pour immobiliser les enzymes sur la partie sensible du transducteur. La première méthode a consisté à inclure l'enzyme dans une membrane BSA (albumine de sérum bovin) par réticulation par des vapeurs de glutaraldéhyde. La deuxième méthode consiste à piéger l'enzyme dans un polymère photosensible.

Dans les deux cas, différents additifs ont été utilisés pour améliorer les caractéristiques opérationnelles des biocapteurs développés telles que la sensibilité, la limite de détection, la stabilité opérationnelle et de stockage. Au vue des résultats obtenus par l'IFOS, le choix s'est porté sur la deuxième méthode, compatible avec les techniques utilisées en microélectronique et plus simple à mettre en œuvre.

Le polymère utilisé pour immobiliser les enzymes est le PVA (polyvinyl alcool), ses principales propriétés sont :

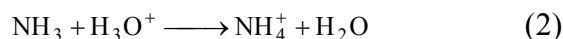
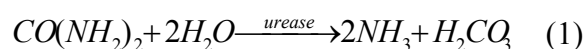
- sa biocompatibilité,
- son hydrophilie,
- sa photosensibilité,
- son faible prix.

Dans le cadre d'une application à l'hémodialyse, les espèces recherchées sont l'urée et la créatinine.

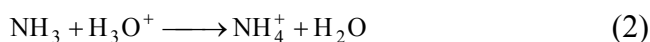
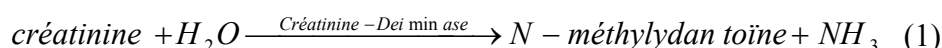
L'urée est le plus important des métabolites azotés. Elle résulte de la dégradation des métabolites azotés issus du catabolisme cellulaire et renseigne donc de l'apport en protéines du patient. Les valeurs normales des concentrations chez l'adulte sont comprises entre 0,2 et 0,6 g/L (soit 3,3 et 10 mmol/L). Tant que cette concentration plasmatique reste inférieure à 3

g/L (soit 50 mmol/L), l'urée n'exerce aucun effet toxique. Au-delà de ce taux, le patient peut être atteint de troubles digestifs et neurologiques.

Le principe de détection choisi utilise donc des réactions enzymatiques à variation de pH. Cette réaction est responsable de l'hydrolyse de l'urée qui génère la production d'ammoniaque (NH₃), responsable d'une augmentation locale de pH (réactions (1) et (2)).



La créatinine est le produit final du métabolisme de la créatine dans les cellules des mammifères. L'analyse de la créatinine est utilisée pour le diagnostic des fonctions rénales, de la thyroïde et du muscle, et est très importante dans le traitement par dialyse externe. La créatinine renseigne sur la dégradation musculaire. La créatinine est un témoin du dysfonctionnement rénal beaucoup plus fidèle que l'urée car sa production est relativement indépendante de l'alimentation. La concentration normale chez l'homme est de 10 mg/L (soit 88,4 µmol/L) tandis qu'elle peut dépasser les 113 mg/L (soit 1000 µmol/L) chez l'insuffisant rénal avancé. Le domaine de concentration de la créatinine dans le sérum plasma est de [35-140 µmol/L]. A l'instar de l'urée, la détection se fait alors par l'intermédiaire de l'hydrolyse de la créatinine, responsable d'une production d'ammoniaque NH₃ et d'une variation de pH locale (réactions (1) et (2)).



Ces couches sensibles ont été déposées manuellement avec une micropipette. Pour augmenter l'adhérence du PVA sur le nitrure il est nécessaire au préalable de préparer la surface avec un promoteur d'adhérence : du propylène polyvinylique (PVP). L'épaisseur des gouttes obtenues varie entre 10 et 25 microns. Les propriétés de ces biocapteurs ont ensuite été étudiées dans une solution de liquide plasmatique [3]. La figure III.22 montre les résultats obtenus par l'IFOS pour l'urée et la figure III.23 montre les résultats obtenus pour la créatinine.

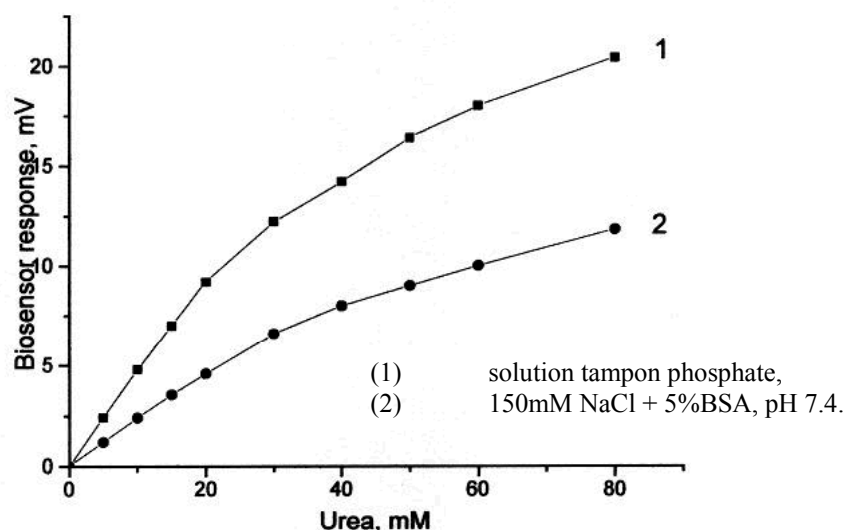


Figure III.22: Détection de l'urée dans des tampons phosphatés et dans des solutions de liquide plasmatique (source : laboratoire IfoS-ECL).

La figure III.22 montre qu'il est possible de détecter l'urée dans une gamme très large. Une sensibilité de 20 mV/pUrée a été obtenue dans la gamme [5-80] mM/L. La réponse de l'EnFET est stable et reproductible pendant au moins pour 5 h (durée d'une séance d'hémodialyse).

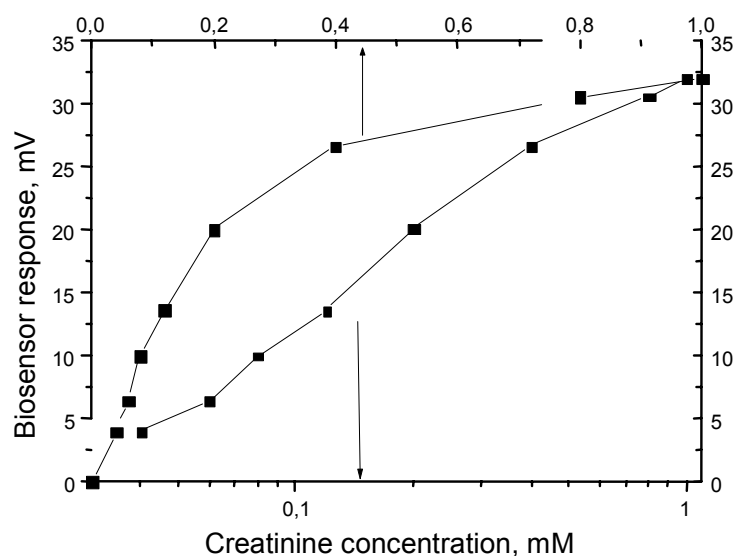


Figure III.23 : Détection de la créatinine dans des tampons phosphatés et dans des solutions de liquide plasmatique (source : laboratoire IfoS-ECL).

La figure III.23 montre, elle aussi, qu'il est possible de détecter la créatinine dans une gamme très large. Une sensibilité de 35 mV/pCréatinine a été obtenue dans la gamme pathologique [0-1000] mM/L.

Ces courbes montrent que l'on obtient de meilleurs résultats lorsque l'on dilue les enzymes et le PVA dans du tampon phosphate. D'autres études effectuées par l'IFOS ont démontré d'une part que la sensibilité est d'autant meilleure que la couche est mince et d'autre part que ces couches sensibles pouvaient rester stables plus d'un mois à condition d'être stockées à 4°C à sec dans l'obscurité.

Concernant la réalisation des couches sensibles au sodium et au potassium, les travaux de recherche effectués par l'IFOS ont permis de mettre au point une technique originale, utilisant l'implantation ionique. Toutefois, les résultats obtenus ne sont pas encore compatibles avec le développement industriel de microcapteurs chimiques jetables pour la détection des ions K^+ et Na^+ . La fabrication par implantation ionique basse énergie des films d'aluminosilicates est d'un coût rédhibitoire et ne pourra donc pas être utilisée dans le cadre de capteurs jetables.

Les recherches doivent donc être poursuivies afin de résoudre ce problème. Les solutions actuellement envisagées et en cours d'étude sont basées sur l'utilisation de polymères photosensibles de type polysiloxane.

V.2. Mesure de l'urée

Nos structures Enfet/Refet, réalisées dans la salle blanche du LAAS-CNRS, ont été adaptées à la détection de l'urée à l'aide des couches de PVA. Le protocole de préparation mis au point par l'IFOS a été adapté à nos applications par Marie-Laure POURCIEL-GOUZY [4]. La résine enzymatique à base d'uréase a ainsi été déposée sur la grille sensible du capteur chimique par une technique de fabrication collective. L'optimisation des étapes de dépôt et de photolithographie (décrite au chapitre II) a permis d'obtenir plusieurs motifs identiques ayant une épaisseur de l'ordre du micron (figure III.24).

Les propriétés de ces biocapteurs ont tout d'abord été étudiées dans une solution tampon citrate phosphate ($pH \approx 7$) pour une gamme de concentrations en urée comparable à celle que l'on peut trouver chez les patients hémodialysés, [5-50 mmol/L]. Afin d'obtenir une détection correcte sur cette plage, nous avons dû rechercher et utiliser une uréase génétiquement modifiée (forte activité), car l'uréase classique, de faible activité, est inhibée par les fortes concentrations en urée présentes en solution. Les mesures ont mis en évidence un accroissement du pH, proportionnel à la concentration en urée (figure III.25). Ces résultats, en accord avec les mesures effectuées par l'IFOS et la littérature spécialisée [5-7] valident le bon comportement de nos biocapteurs.

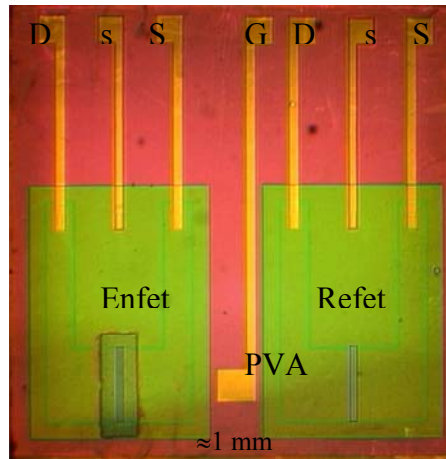


Figure III.24: Photo d'une structure différentielle EnFET/ReFET, dont la grille du capteur EnFET a été fonctionnalisée par un motif de résine enzymatique en poly vinyl alcool (PVA).

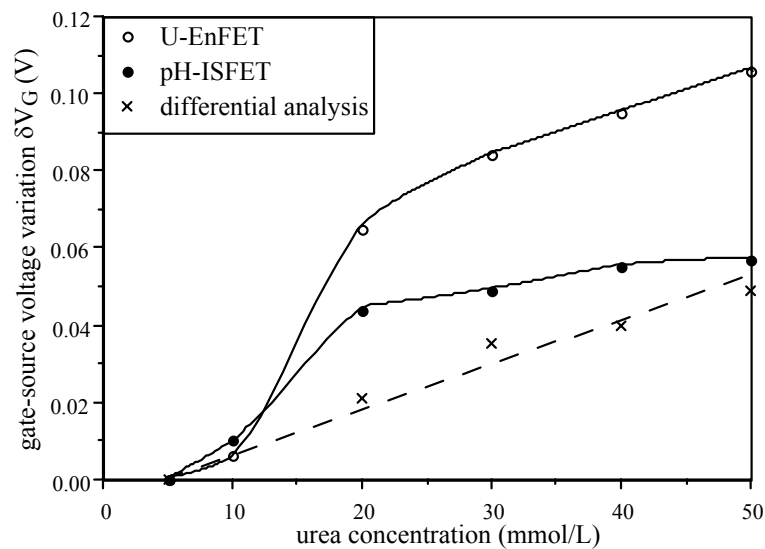


Figure III.25: Détection de l'urée dans du tampon phosphate; analyse différentielle obtenues par la structure ISFET/ReFET.

Cependant, ces mesures montrent que le ReFET subit lui aussi des variations dans la même gamme, malgré l'utilisation de solutions tampons. Pour expliquer ce phénomène, nous proposons deux interprétations.

Nous pouvons tout d'abord supposer que l'activité de l'enzyme est globalement responsable d'une forte augmentation en ions de H⁺ dans la membrane sensible (les équations 1 à 4). Cette augmentation de pH tout d'abord confinée au niveau de la grille du transistor peut diffuser au niveau de la grille du REFET qui rappelons le se trouve à moins de 3 mm de la zone où a lieu la réaction chimique. Ces phénomènes de diffusion ont donc pu être détectés par le ReFET.

D'autre part les mesures ont été faites dans des conditions statiques en partant de faibles concentrations en urée pour terminer vers les plus fortes. Les variations de tension pourraient être ainsi liées à un mauvais rinçage, permettant ainsi une superposition de l'ancienne mesure et de la mesure actuelle

Quoiqu'il en soit, cet inconvénient est contourné en employant une analyse différentielle entre l'EnFET et le ReFET. Ainsi, une réponse quasi-linéaire a finalement été trouvée pour des concentrations en urée s'échelonnant de 5 à 50 mmol/L ; la sensibilité de détection de l'urée a été estimée à 45 mV/pUrée.

Les propriétés de ces biocapteurs ont ensuite été étudiées dans du dialysat (pH $\approx$ 7,6) qui est un milieu très légèrement tamponné. Ces mesures, reportées figure III.26, ont permis d'obtenir de plus fortes sensibilités néanmoins limitées par des mécanismes de saturation à partir de 25 mmol/L d'urée. Ce phénomène est dû au fait que le dialysat est faiblement tamponné : les charges libérées ne sont pas neutralisées et diffusent dans la solution jusqu'à influencer la mesure du ReFET. Pour pallier cet inconvénient et pouvoir se placer dans les mêmes conditions qu'une séance d'hémodialyse, nous effectuerons ultérieurement des mesures en dynamique dans du dialysat.

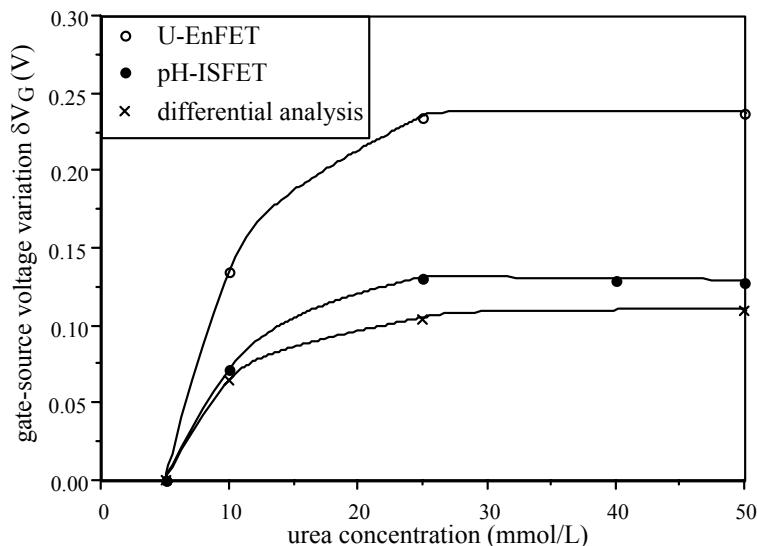


Figure III.26: Détection de l'urée dans du dialysat;
analyse différentielle obtenue par la structure ISFET/ReFET.

Ces résultats, valident donc la possibilité de détecter l'urée, dans des gammes pathologiques et dans un milieu complexe tel que le dialysat, avec une excellente sensibilité. La sélectivité quant à elle sera améliorée grâce à une mesure en dynamique.

V.2. Mesure de la créatinine

Deux architectures différentes de capteurs ont été utilisées. La première structure est un simple ISFET ayant une dimension de 2 x 5 mm², l'autre structure est une structure ISFET/ReFET de dimension 5 x 5 mm², permettant une analyse différentielle. Ces capteurs chimiques ont tout d'abord été calibrés pour la détection du pH. Une réponse quasi-nernstienne au pH (sensibilité : 50 mV/pH) a été obtenue en utilisant un fil d'or comme pseudo électrode de référence. Toutes les mesures ont été prises à la température ambiante (20°C) dans un volume de 2 ml (voir figure III.27).

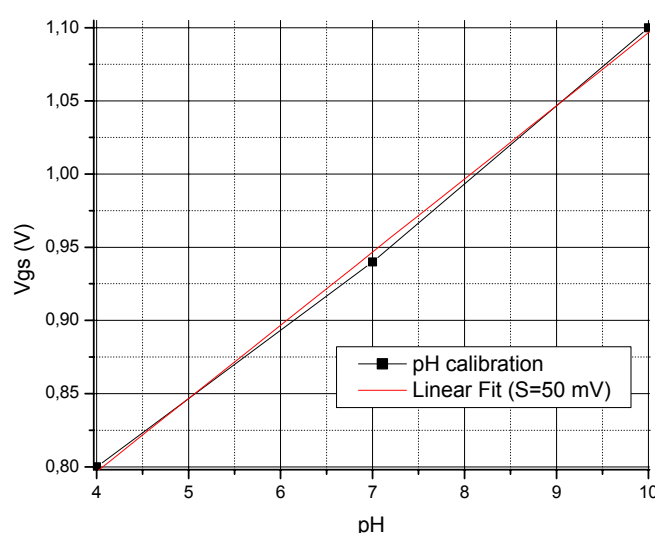


Figure III.27: Calibration de l'ISFET pour la détection du pH ; mesures effectuées dans des solutions tampons avec un fil d'or comme pseudo électrode de référence.

Ces capteurs ont ensuite été adaptés à la détection de la créatinine en utilisant une résine enzymatique obtenue en mélangeant de la créatinine deiminase en poudre et un polymère photosensible : l'alcool polyvinylique (PVA). Cette résine enzymatique a été déposée sur la grille sensible du capteur en employant deux techniques.

La première technique utilise une micropipette et imite le protocole de dépôt réalisé par l'IFOS. Pour augmenter l'adhérence des membranes nous avons, nous aussi utilisé un promoteur d'adhérence. L'épaisseur des gouttes obtenues varie entre 10 et 25 microns.

L'autre technique consiste à employer les techniques de photolithographie décrites au chapitre II. Grâce à cette technique des couches bien définies de 1 micromètre d'épaisseur ont été mesurées.

Une première série de mesure a consisté à préparer des solutions de mesures en diluant dans du dialysat amont quelques gouttes issues d'un kit de diagnostic fourni par Sigma (réf. 925-11). Ce kit de diagnostic contient différentes solutions de créatinine diluées dans de l'acide chlorhydrique (HCl). Ceci a donc induit des écarts de pH ($6 < \text{pH} < 7$) dans les différentes solutions de mesures. Par conséquent, afin de tenir compte de ces écarts de pH d'une solution à l'autre, il était nécessaire d'effectuer l'analyse différentielle avec la structure de EnFET/ReFET. La résine enzymatique a été préparée en utilisant une créatinine deiminase fournie par SIGMA (EC 3 de micro-organisme.5.4.21 - activité : 41 U/mg).

En vue de comparer le comportement des couches sensibles obtenues par microgouttes et les membranes photolithographiées, nous avons utilisé les deux techniques de dépôts.

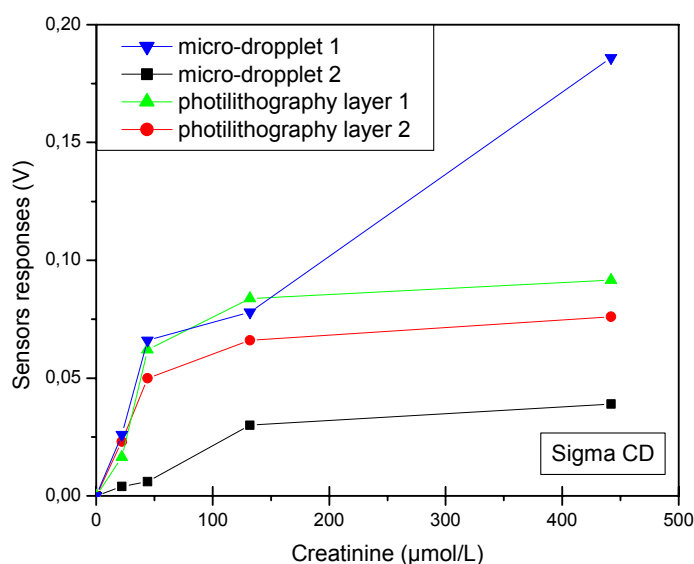


Figure III.28: Mesure de la créatinine dans des solutions préparées à l'aide d'un kit de diagnostic ; comparaison des comportements des membranes enzymatiques obtenues par microgouttes et par photolithographie.

Selon la réaction d'hydrolyse de créatinine, citée précédemment, l'augmentation de concentration en créatinine est responsable de l'augmentation de tension, caractéristique d'une augmentation locale de pH [9,10](figure III.28).

Les couches photolithographiées montrent des résultats reproductibles par rapport à la concentration en créatinine ; la sensibilité relativement très bonne (35 mV/pCreatinine) sur une gamme comprise entre 10 et 500 $\mu\text{mol/L}$. Pour les couches obtenues par dépôt à la micropipette, la reproductibilité est très mauvaise tant au niveau des dimensions que de l'épaisseur des couches réalisées. La stabilité est elle aussi très mauvaise, ce résultat est lié à

une mauvaise adhérence de la résine enzymatique sur le nitrure et ceci malgré l'utilisation d'un promoteur d'adhérence (PVP). Ces mesures démontrent donc que les couches obtenues par microgouttes ne sont pas fiables et ne permettent pas une mesure en continue de plusieurs heures.

De plus il est communément admis que les membranes épaisses ont un temps de réponse plus lent et une sensibilité moindre (phénomènes dues aux barrières de diffusion [8]). Il est donc indispensable de réaliser des couches très minces. Pour la suite de nos mesures, nous avons adopté comme technique de dépôt la technique de photolithographie.

La possibilité de détecter la créatinine dans du dialysat a été démontrée. Toutefois, pour des pathologies importantes, les concentrations en créatinine peuvent atteindre 1000 $\mu\text{mol/L}$. Il fallait donc dans un second temps augmenter la gamme de détection. Nous avons donc préparé des solutions en diluant dans le dialysat de la créatinine en poudre fournie par Fluka. Dans ce cas-ci, les solutions préparées étaient plus stables, le pH a été estimé à 8.25 ± 0.05 , quelle que soit la concentration en créatinine.

Pour des raisons de coût, nous avons aussi changé de fournisseur pour l'approvisionnement des enzymes. La nouvelle créatinine déiminase a une activité de 11 U/mg, pour un prix moins élevé. Afin de compenser la perte d'activité de cette enzyme comparée à celle utilisée précédemment, nous avons doublé les proportions d'enzyme mélangées au PVA.

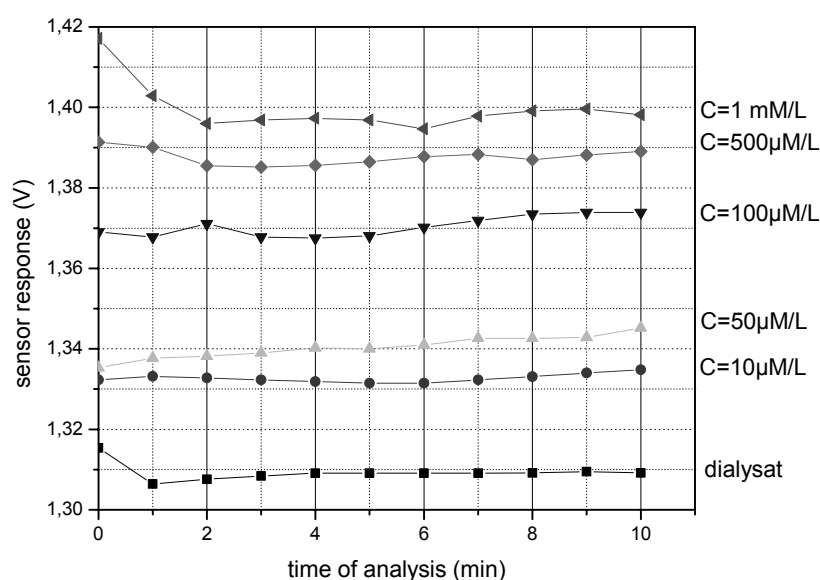


Figure III.29: Détection de la créatinine dans des solutions préparées avec de la créatinine en poudre diluée dans du dialysat ; étude du temps de réponse de l'EnFET.

Le temps de réponse de l'EnFET a été étudié en fonction des différentes solutions à analyser. Nous pouvons remarquer sur la figure III.29 que la mesure devient stable après deux minutes d'immersion dans chaque solution. Pour poursuivre ces caractérisations, les propriétés de détection des capteurs ont été étudiées en utilisant un ENFET provenant d'une structure simple, et un ISFET simple comme ReFET (figure III.30).

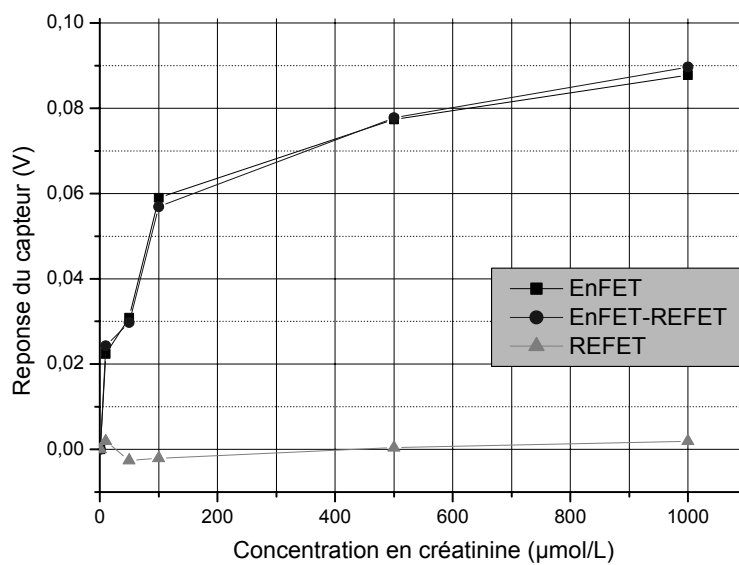


Figure III.30: Détection de la créatinine dans du dialysat, comparaison des structures EnFET et ReFET.

Nous pouvons constater que le ReFET est peu sensible à la créatinine ceci est confirmé par la mesure différentielle EnFET - ReFET. Ceci démontre que, dans le cas d'une solution où les ions interférents seraient stables, une structure simple est suffisante. La sensibilité du capteur EnFET est excellente : nous l'avons estimé autour de 30 mV/pCréatinine sur une gamme variant entre 10 et 1000 μmol. Ces résultats sont beaucoup plus parlants lorsque on les reporte sur une échelle logarithmique (voir figure III.31).

Les sensibilités mesurées avec les enzymes fournies par Sigma et la nouvelle créatinine deiminase sont semblables. Ceci démontre bien la reproductibilité de la technique utilisée et la possibilité de mesurer la créatinine dans du dialysat avec un simple EnFET.

Enfin, pour estimer la durée de vie, de ces biocapteurs, l'EnFET précédemment étudié a été séché et stocké dans l'obscurité à 4°C pendant une semaine. Nous l'avons ensuite réutilisé dans les mêmes conditions de manipulation. Les résultats démontrent une diminution de sensibilité de moitié. La sensibilité passe de 30 à 15 mV/pCréatinine (figure III.32). Nous

pouvons expliquer cette diminution par une détérioration de l'activité enzymatique due aux conditions de stockage. En effet, le capteur a passé quelques jours à 4°C avant d'être utilisé, ensuite nous avons effectué la première série de mesure qui a duré plus de 4 heures à 20 °C, ensuite le biocapteur a subi un stockage à sec à 4°C. Nous pensons que nous pouvons améliorer cette durée de vie à condition de stocker le capteur à 4°C dans un tampon TRIS.

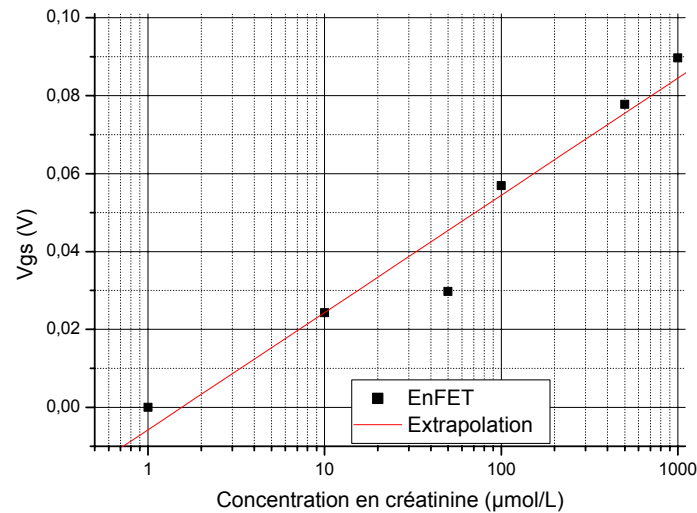


Figure III.31: Sensibilité à la créatinine d'une structure EnFET, (échelle logarithmique).

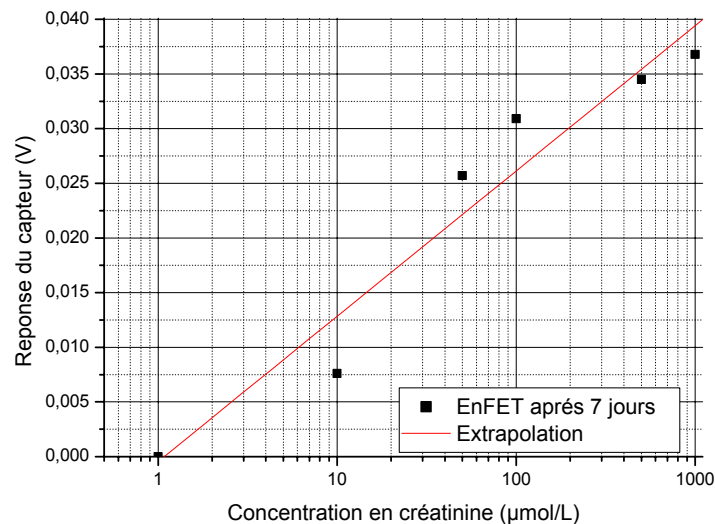


Figure III.32: Etude de la sensibilité d'un EnFET réutilisé après une semaine de stockage à 4°C dans l'obscurité.

V. Conclusion.

Nous avons démontré dans ce chapitre la possibilité d'adapter des capteurs chimiques ChemETs à un cahier des charges. Des capteurs issus de procédés différents ont été réalisés dans la salle blanche du LAAS-CNRS et montrent de bons rendements de production conformes aux spécifications. Ceci permet donc de valider le procédé de fabrication et autorise donc un transfert vers l'industrie.

Nous avons ensuite démontré les potentialités de nos capteurs en effectuant diverses caractérisations. La configuration que nous avons finalement retenu est l'utilisation d'un fil d'or en guise d'électrode de référence, la polarisation du drain à 2 Volts et de l'ensemble substrat-source à la masse et la prise de mesure dans l'obscurité. Ainsi les sensibilités au pH sont de l'ordre de 50 mV/pH.

Ces capteurs simples, donc peu coûteux, visent des applications médicales. Dans ce cas, le capteur devra être jetable et donc ne nécessite pas une longue durée de vie. Malgré le développement d'une encapsulation simple, nos capteurs arrivent quand même à rester opérationnels un an.

Ces capteurs ont ensuite été adaptés à la détection de la créatinine et de l'urée en employant des couches enzymatiques en PVA. Puisque le procédé de dépôt par micropipette n'est pas compatible avec la production industrielle et offre des résultats non reproductibles, une technique reproductible permettant d'obtenir des couches sensibles contrôlées en épaisseur a été développée en employant les techniques de la microélectronique. Les capteurs chimiques fonctionnalisés par cette méthode montrent des résultats intéressants et mettent en évidence la potentialité de mesurer la créatinine et l'urée directement dans du dialysat avec des sensibilités respectivement de 30 mV/pCréatinine et 45 mV/pUrée. Ce travail devra être poursuivi afin d'optimiser les propriétés de détection, de durée de vie et de fiabilité. La possibilité de réutiliser ces capteurs pourrait ensuite être envisagée. Il faudrait pour cela améliorer les conditions de stockage et vérifier que les mesures de concentrations soient données avec des précisions utiles comprises entre +/- 10%. De telles études pourront être étendues à d'autres espèces chimiques détectables par réaction enzymatique

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale

Les travaux présentés dans ce mémoire sont consacrés à la mise au point de micro capteurs chimiques génériques et jetables pour la détection des ions H^+ , K^+ et Na^+ , de l'urée et de la créatinine. L'objectif de ce projet, soutenu par la société HEMODIA, est d'améliorer le confort du patient hémodialysé par un suivi en continu de l'efficacité de l'épuration. Le but final du projet étant la réalisation d'un système multi-capteurs intelligent permettant une application simple, rapide et sûre de diagnostic dans le cadre de séances d'hémodialyse.

Le principe de l'hémodialyse consiste en un échange entre le sang du malade et une solution de composition électrolytique voisine de celle du plasma sanguin normal, à travers une membrane semi-perméable. Cette technique permet l'épuration des déchets et la normalisation des électrolytes plasmatiques. Répétées régulièrement plusieurs fois par semaine, ces épurations permettent la survie des malades dont les reins sont fonctionnellement détruits. A l'heure actuelle, il n'existe pas de solution commercialisée permettant d'estimer cette épuration en continu et temps réel. Nous avons donc proposé dans ce mémoire une solution pour arriver à ces fins, basée sur les capteurs chimiques à effet de champ ChemFETs.

De par leurs nombreux avantages (faible coût, taille réduite, simplicité et rapidité de mesures), les capteurs chimiques à effet de champ ChemFETs présentent un intérêt grandissant pour des applications dans les domaines de la santé et de la biologie. Leur développement a été jusqu'alors freiné par leurs principaux inconvénients, à savoir leur faible durée de vie et leur sélectivité. Dans le cadre d'analyses médicales, la nécessité d'un usage unique offre l'avantage de s'affranchir de ce problème. Et la nature sélective des couches enzymatiques ainsi que les très faibles variations des électrolytes n'interfèrent pas dans les analyses sanguines.

Le premier chapitre de ce mémoire a été consacré à présenter un état de l'art des capteurs chimiques appliqués aux analyses sanguines. Après avoir rappelé brièvement quelques notions sur l'hémodialyse, ce chapitre nous a permis de faire un rapide tour d'horizon sur les besoins dans le domaine de la dialyse ainsi que les solutions concurrentes proposées jusqu'ici. Le caractère novateur de notre système a pu ainsi être mis en avant. Le choix du type de capteur a été justifié ; son principe physico-chimique de détection a été rappelé.

Nous avons exposé dans le deuxième chapitre la technologie de réalisation des capteurs chimiques ChemFETs. Dans le cadre du développement de ce type de composant, nous avons constamment gardé à l'esprit le but final du projet ; qui est de produire industriellement des capteurs chimiques jetables, c'est à dire de faible coût. Nous avons donc conçu un procédé de

réalisation, simple et facilement adaptable à tout type de capteurs chimiques de type transistor à effet de champ (FET). Au cours de ce chapitre, nous avons explicité en détail un procédé technologique dans sa globalité, en partant de la conception pour finir à la réalisation des capteurs. Nous avons abouti à la réalisation de deux structures : une structure simple de type ISFET et une structure différentielle de type ISFET-REFET avec une électrode en or intégrée. Un travail spécifique a été fourni pour les étapes de report, d'assemblage et d'encapsulation des capteurs. Il a abouti à la réalisation d'une structure où le capteur est monté sur un circuit imprimé de type « bâtonnet ».

Le troisième chapitre a été consacré à l'ensemble des résultats issus de la caractérisation des capteurs ChemFETs. Les capteurs chimiques réalisés dans la centrale technologique du LAAS-CNRS ont montré de bons rendements de production conformes aux spécifications. Ces capteurs délivrent une bonne sensibilité au pH et peuvent être utilisés avec une électrode de référence classique, un fil d'or ou l'électrode intégrée. Ces bons résultats permettent donc de valider le procédé de fabrication et autorisent donc un transfert vers l'industrie. Nous avons ensuite démontré les potentialités de nos capteurs en effectuant diverses caractérisations. Des sensibilités au pH de l'ordre de 50 mV/pH ont été mesurées avec un fil d'or en guise d'électrode de référence. La technique de photolithographie adaptée à la réalisation des couches sensibles enzymatiques, développée par Mme Marie-Laure Pourciel-Gouzy a permis de fonctionnaliser nos capteurs. Cette méthode a montré des résultats intéressants et a mis en évidence la potentialité de mesurer la créatinine et l'urée directement dans du dialysat avec des sensibilités respectivement de 30 mV/pCréatinine et 45 mV/pUrée.

Les premiers résultats obtenus sont donc prometteurs et les travaux de recherche doivent continuer afin d'assurer un diagnostic fiable à faible coût. Si la mise au point de couches chimiquement sensibles et des microcapteurs chimiques a été possible pour la détection des ions H^+ , de l'urée et de la créatinine, les résultats obtenus ne sont pas encore compatibles avec le développement industriel de microcapteurs chimiques jetables pour la détection des ions K^+ et Na^+ . La fabrication par implantation ionique basse énergie des films d'aluminosilicates pour la détection des ions K^+ et Na^+ est en effet d'un coût rédhibitoire. Les recherches doivent donc être poursuivies afin de résoudre ce problème. Les solutions actuellement envisagées sont basées sur l'utilisation de polymères photosensibles de type polysiloxane.

Conclusion générale

Le développement d'une technique de dépôt de PVA avec les moyens de fabrication collective classiquement utilisés en microélectronique a permis la réalisation des membranes chimiquement sensibles, fortement adhérentes et d'épaisseur contrôlable. Ce procédé générique et fiable permettra par la suite d'intégrer différents types d'enzymes (glucose oxydase...) sur nos capteurs.

En parallèle à tout ceci, des études de pré-industrialisation pour un passage à une production à moyenne série ont permis de soulever certaines questions, notamment au niveau de la conception (prix de revient, sensibilité, utilité de l'électrode de référence...). L'objectif final de ce projet étant de produire industriellement des capteurs à faible coût, il sera important à terme de redéfinir un nouveau design dont les dimensions seront réduites et de prendre en compte les réflexions suivantes :

Le transistor de référence (REFET) est certes indispensable pour une bonne détection en milieu complexe ; toutefois pour augmenter le rendement des capteurs produits sur une plaquette, il sera plus rentable d'utiliser un ISFET et un REFET assemblés en hybride sur le même circuit imprimé.

Bien que l'électrode intégrée fonctionne convenablement, l'utilisation d'un simple fil d'or en guise d'électrode de référence n'augmenterait pas l'encombrement du système et permettrait de remplacer les métallisations en or par des métallisations aluminium tout en supprimant un plot de contact (celui de l'électrode intégrée).

Une autre voie pour diminuer considérablement le prix de revient d'un capteur est de profiter du caractère générique des ChemFETs. En effet les travaux présentés dans ce rapport se focalisent essentiellement sur l'hémodialyse, mais peuvent être aisément étendus à d'autres types d'analyses médicales voire même à d'autres domaines que le médical (environnement, sécurité, agro-alimentaire...).

La sévérité croissante des normes dans le domaine de l'environnement, de l'alimentation, de la pharmacie, de la sécurité industrielle, de la domotique..., et des besoins en microcapteurs et de la généralisation des procédés d'automatisation dans le génie des procédés industriels, offrent en ce début de XXI siècles, tous les atouts pour promouvoir l'avènement de ces capteurs chimiques tant attendus.

Références bibliographiques

Introduction générale

- [1] Fabrice Rigaux : Les biotechnologies industrielles Ile de France, *Rapport 200,1 Available from : [http:// www.ccip.fr/crocis.pdf](http://www.ccip.fr/crocis.pdf)*
- [2] P.Bergveld, Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurement, *IEEE Trans Biomed.*, BME 17 (1970)

Chapitre 1 : Etat de l'art : Dialyse et analyses sanguines

- [1] Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé : Evaluation de l'hémofiltration et l'hémodiafiltration avec production en ligne du liquide de substitution, *Rapport 200,1 Available from : [http:// www.apdd.org/hemofiltr.pdf](http://www.apdd.org/hemofiltr.pdf)*
- [2] P.Jungers, J.Zingraff, N.K.Man, T.Drücke, B.Tardieu: L'essentiel sur l'hémodialyses, *collection Tardieu*, édition Masson, 1988
- [3] Pierre Vincent : Le corps humain , édition Vuibert, 1998
- [4] E. Périlleux, D. Richard, B. Anselme: Biologie humaine : anatomie, physiologie, santé, édition Nathan , collection Biobactec,1995
- [5] Association Française des Infirmiers de Dialyse, Transplantation: L'infirmière en néphrologie, *collection Clinique et pratique*, édition Masson, 1997
- [6] T.Hannedouche: Principales fonctions du rein, *Available from : [http://: www.nephorus.org/3-cycle-folders](http://www.nephorus.org/3-cycle-folders)*, 2000
- [7] T.Hannedouche: La filtration glomérulaire, *Available from : [http/::www.nephorus.org/3-cycle-folders/sm_estimation_FG.html](http://www.nephorus.org/3-cycle-folders/sm_estimation_FG.html)*, 2000
- [8] Fabienne Montiel: Echantillonneur à membrane sélective pour l'analyse du sang en vue de l'optimisation des séances d'hémodialyses, *Thèse de doctorat de l'UPS de Toulouse*, 1995
- [9] C.Hervé, P.Michel, P.Beyne.: Evaluation du Mercury 16 (Nova Biomedical) : Application aux profils d'urgence et de routine sur sang total et urine en néphrologie, *Revue Française des laboratoires*, Avril 1999, N°312, Elsevier
- [10] J.M.Bader : Un rein artificiel surveillé à distance, *le Figaro*, article paru le 15 mai 2002

Références bibliographiques

- [11] Développement et conseil : Développement d'une nouvelle génération de capteurs chimiques appliqués à la dialyse, *Rapport interne Hemodia* (2002)
- [12] P.Bergveld, Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurement, *IEEE Trans Biomed.*, BME 17 (1970)
- [13] L.Bousse, S.Mostarshed, B.van der Schoot, N.F.de Rooij : Comparison of the hysteresis of Ta₂O₅ and Si₃N₄ pH-sensing insulators, *Sensors & Actuators*, B17 (1994), 157-164
- [14] D.L.Harame, L.Bousse : Ion-sensing devices with silicon nitride and borosilicate glass insulators, *IEEE Trans.Electron Devices ED-34* (1987), 1700-1706
- [15] M.N.Niu, X.F.Tong : Effect of two types of surfaces sites on the characteristics of Si₃N₄ gate pH-ISFET, *Sensors & Actuators*, B37 (1996), 13-17
- [16] L.Bousse, H.van der Vlekkert, N.de Rooij : Hysteresis in Al₂O₃-gate ISFET, *Sensors & Actuators*, B2 (1990), 103-110
- [17] H.van der Vlekkert, L.Bousse, N.de Rooij,: The temperature dependence of the surface potential at the Al₂O₃/electrolyte interface, *J.Colloid Interface Sci.*122(1988), 336-345
- [18] A.S.Poghossian : The super-Nernstian pH sensitivity of Ta₂O₅-gate ISFET, *Sensors & Actuators*, B7 (1992), 367-370
- [19] D.H.Kwon, B.W.Cho, C.S.Kim, B.K.Sohn : Effect of heat treatment on Ta₂O₅ sensing membrane for low drift and light sensitivity pH-ISFET, *Sensors & Actuators*, B34 (1994), 441-445
- [20] H.K.Liao, L.L.Chi, J.C.Chou, W.Y.Chung, T.P.Sun, S.K.Hsiung, : Study on pH_{pzc} and surface potential of tin oxide gate ISFET , *Mater.Chem.Phys*, 2428 (1999), 1-6
- [21] H.K.Liao, J.C.Chou, W.Y.Chung, T.P.Sun, S.K.Hsiung, : Study of amorphous tin oxide thin films for ISFET applications, *Sensors & Actuators*, B50 (1998), 104-109
- [22] F.Chauvet, A.Amari, A.Martinez : Stability of silicon nitride/silicon dioxide/silicon electrodes used in pH microelectronic sensor, *Sensors & Actuators*, B6 (1984), 255
- [23] C.D.Liu, Y.K.Su, S.C.Chen, : Ion sensitive field effect transistor with silicon nitride gate for pH sensing, *Int.J.Electron.I* (1989), 59-63
- [24] L.Bousse, N.F.de Rooij, P.Bergveld : Operation of Chemically Sensitive Field-Effect Sensor as a function of the Insulator-Electrolyte Interface, *IEEE Trans.Electron Devices ED-30* (1983), 1263-1270

- [25] P.Bergveld : Thirty years of ISFETOLOGY What happened in the past 30 years and what may happen in the next 30 years , *Sensors & Actuators*, B6795 (2002), 1-20
- [26] Ali Amari : Etude de la réponse au pH de structures microelectroniques a membranes de nitrure de silicium fabriqué par LPCVD, *Thèse de doctorat de l'UPS de Toulouse*, 1984
- [27] A.J.Bard, L.R.Faulkner : Electrochimie, principes, méthodes et application, *Masson* (1983)
- [28] J.Artigas, A.Beltran, C.Jimenez : Application of ion sensitive field effect transistor based sensors to soil analysis, *Computers and electronics in agriculture* (2001), 281-293
- [29] J.Janata, S.D.Moss : Chemically sensitive field effect transistor, *Biomed. Eng.* 11 (1976), 241
- [30] S.D.Caras, J.Janata : pH-based enzyme potensometric sensors. Part 3 penicillin-sensitive field effect transistor , *Anal.Chem.* 57, (1985), 1924-1925
- [31] A.Saito, N.Ito, J.Kimura, T.Kuriyama : An ISFET glucose sensor with a silicone rubber membrane for undiluted serum monitoring, *Sensors & Actuators*, B20 (1994), 125-129
- [32] A.P.Soldatkin, A.V.El'Skaya, A.Ashulga, L.I.Netchiporouk, A.M.Nyamsi Hendji, N.Jaffrezic-Renault, C.Martelet : Glucose sensitive field effect transistor with additional Nafion membrane : reduction of influence of buffer capacity on the sensor response and extension of its dynamic range, *Anal.Chem.Acta* 283 (1993), 695-701
- [33] J.Eijkel : Potentiometric detection and characterization of absorbed protein using stimulus response measurement techniques, *PhD Thesis, University of twente, Enschede* (1995)
- [34] L.K.Meixner, S.Koch : Simulation of the ISFET operation based on the site binding model, *Sensors & Actuators*, B6 (1992), 315-318
- [35] R.B.M.Schasfoort : A new approach to immunofet operation , *PhD Thesis, University of twente, Enschede* (1995)
- [36] A.S.Poghossian : Method of fabrication of ISFET-based biosensor on an Si-SiO₂-Si structure, *Sensors & Actuators*, B44 (1997), 361-364
- [37] Y.Tsujimara, M.Yokohama, K.Kimura : Comparison between silicone-rubber membranes and plasticized poly(vinyl chloride) membranes containing calixarene ionophores for sodium ion-sensitive field-effect transistors in applicability to sodium assay in human body fluids, *Sensors & Actuators*, B22 (1994), 195-199
- [38] S.D.Moss, J.Janata, C.C.Johnson : An ISFET glucose sensor with a silicone rubber membrane for undiluted serum monitoring, *Anal.Chem.* 47 (1975), 2238-2243

- [39] L.S.Park, Y.J.Hur, B.K.Sohn : Effect of membrane structure on the performance of field-effect transistor potassium-sensitive sensor, *Sensors & Actuators*, A57 (1996), 239-243
- [40] J.Muñoz, C.Jimenez, A.Bratov, J.Bartroli, S.Alegret, C.Dominguez : Photosensitive polyurethanes applied to the development of CHEMFET and EnFET devices for biomedical sensing, *Biosensors & Bioelectronics* 12 (1997), 577-585
- [41] N.Abramova, Y.Borisov, A.Bratov, P.Gavrilenko, C.Dominguez, V.Spinridonov, E.Suglobova : Application of an ion-selective field-effect transistor with a photocured polymer membrane in nephrology for determination of potassium ions in dialysis solutions and in blood plasma, *Talanta* 52 (2000), 533-538
- [42] E.Totu, A.M.Josceanu, A.K.Covington : Improved potassium-selective membrane using valinomycin as ionophore for ion-selective microdevices, *Materials Science and Engineering C18* (2001), 87-91
- [43] E.A.Moschou, N.A.Chaniotakis: Potassium selective CHEMFET based on an ion-partitioning membrane, *Anal.Chem.Acta* 445 (2001), 183-190
- [44] H.H.Van den Vlekkert, C.G.Francis. A.Grisel, N.F.de Rooij : Simulation of the ISFET operation based on the site binding model, *The Analyst* 113 (1988), 1029-1033
- [45] Z.M.Baccar, N.Jaffrezic-Renault, C.Martelet, H.Jaffrezic, G.Marest, A.Plantier : K⁺-ISFET type microsensors fabricated by ion implantation, *Materials Chemistry and Physics* 48, (1997), 56-59
- [46] A.Errachid, J.Baussells, N.Zine, H.Jaffrezic, C.Martelet, N.Jaffrezic-Renault, M.Charbonnier : Analytical features of K⁺-sensitive membrane obtained by implantation in silicon dioxide films, *Materials Science and Engineering C21* (2002), 9-13
- [47] Z.M.Baccar, N.Jaffrezic-Renault, J.M.Kraft, C.Martelet : Characterization of Na⁺-sensitive Electrolyte/Oxide/Semiconductor Structure obtained by ion implantation, *J.Electrochem.soc* vol.143 (1996), 1422-1425
- [48] Y. Murakami, Y. Suzuki, K. Yokohama, E. Tayima: Micro creatinine sensor based on ISFET, *Denki Kagaku*, 64 (1996), 1272-1273
- [49] W. Torbicz, D.G. Pijanowska, M. Dawgul: Urea biosensors and their applications in hemodialysis - Perspectives of EnFET applications, *Med. Biol. Eng.*, 10 (2000), 139-145

- [50] A. Senillou, N. Jaffrezic-Renault, C. Martelet, S. Cosnier: A miniaturized urea sensor based on the integration of both ammonium based urea enzyme field effect transistor and a reference field effect transistor in a single chip, *Talanta*, 50 (1999), 219-226
- [51] O.A. Boubriak, A.P. Soldatkin, N.F. Storadub, A.K. Sandrovsky, A.K. El'Skaya: Determination of urea in blood serum by a urease biosensor based on an ion-sensitive field effect transistor, *Sensors & Actuators*, B26-27 (1995), 429-431
- [52] D.G. Pijanowska, W. Torbicz: pH-ISFET based urea biosensor, *Sensors & Actuators*, B44 (1997), 370-376
- [53] G.K. Chandler, J.R. Dodgson and M.J. Eddowes: "An ISFET-based Flow Injection Analysis for determination of urea: Experiment and Theory", *Sensors and Actuators*, B1 (1990) 433-437
- [54] M.L. Pourciel, J. Launay , W. Sant, V. Conedera, T. Do Conto, A. Martinez, P. Temple-Boyer: "Development of photo-polymerisable polyvinyl alcohol for biotechnological applications", *Sensors and Actuators*, B94 (2003), 330-336
- [55] W. Sant, M.L. Pourciel, J. Launay, T. Do Conto, A. Martinez, P. Temple-Boyer: "Development of chemical field effect transistors for the detection of urea", *Sensors and Actuators*, B95 (2003), 309-314
- [56] A.P. Soldatkin, J. Montoriol, W. Sant, C. Martelet, N. Jaffrezic-Renault: "Developpment of potentiometric creatinine sensitive biosensor based on ISFET and creatinine deiminase immobilised in PVA/SbQ photopolymeric membrane", *Materials Science & Engineering*, C21 (2002), 75-79

Chapitre 2 : Conception et réalisation technologique des capteurs

- [1] M.L. Pourciel, J. Launay , W. Sant, V. Conedera, T. Do Conto, A. Martinez, P. Temple-Boyer: "Development of photo-polymerisable polyvinyl alcohol for biotechnological applications", *Sensors and Actuators*, B94 (2003), 330-336
- [2] Pierre. Lacombe : Conception et réalisation et test d'un composant à effet de champ ionosensible », *Thèse de doctorat de l'école CNAM de Toulouse*, 1986

Références bibliographiques

- [3] T.Matsuo , M.Esashi : “Methods of isfet fabrication”, *Sensors and Actuators, Volume 1, 1981, 77-96*
- [4] P.Bergveld, Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurement, *IEEE Trans Biomed.*, BME 17 (1970)
- [5] A. Grisel, C. Francis, E. Verney and G. Mondin: “packaging technologies for integrated electrochemical sensors”, *Sensors and Actuators, Volume 17, Issues 1-2, 3 May 1989, Pages 285-295*
- [6] H. -H. Van den Vlekkert, B. Kloeck, D. Kloeck, D. Prongue, J. Berthoud, B. Hu and N. F. De Rooij: “A pH-isfet and an integrated ph-pressure sensor with back-side contacts”, *Sensors and Actuators, Volume 14, Issue 2, June 1988, Pages 165-176*
- [7] D. Ewald, A. van den Berg and A. Grisel : “Technology for backside contacted pH-sensitive ISFETs embedded in a p-well structure”, *Sensors and Actuators B: Chemical, Volume 1, Issues 1-6, January 1990, Pages 335-340*
- [8] T.Sakai, I.Amemiya, S.Uno and M.Katsura : “ A Backside contact ISFET with a silicon-insulator-silicon structure, *Sensors and Actuators B: Chemical, Volume 1, Issues, 1-6, January 1990, pages 341-344*
- [9] M.Chudy, W.Wroblewski, A.Dybko, Z.Brzozka : “ Multi-ion analysis based on versatile sensor head”, *Sensors and Actuators B: Chemical, B 78, 2001 ,Pages 320-325*
- [10] A. van den Berg and A. Grisel, H. H. van den Vlekkert and N. F. de Rooij : “ A micro-volume open liquid-junction reference electrode for pH-ISFETs”, *Sensors and Actuators B : Chemical Volume 1, Issues 1-6, January 1990, Pages 425-432*
- [11] F.Winqvist, C.Krantz-Rülcker and I.Lundström : “ Electronic tongues and combination of artificial senses”, *Sensor update : Volume 12, Issues , February 2003, Pages 3-49*
- [12] M.J.Schöning, R.Krause, K.Block, M.Musahmeh, A.Mulchandani, J.Wang : “ A dual amperometric/potentiometric FIA-based biosensor for distinctive detection of organophosphorus pesticides”, *Eurosenors XVI, Prague, September 2002, Pages 25-26*
- [13] G.F.Blackburn: “Chemically sensitive field effect transistors”, in: A.P.F. Turner, I. Karube and G.S.Wilson (ed.), *Biosensors* Oxford University Press, 1987, p. 481-530.
- [14] A.Sibbald : ”Recent advanced in field-effect chemical microsensors ”, *Journal of molecular electronics, Volume 2, 1986, Pages 51-83*

- [15] P.Bergveld : Thirty years of ISFETOLOGY What happened in the past 30 years and what may happen in the next 30 years , *Sensors & Actuators*, B6795 (2002), 1-20
- [16] H.Mathieu : “Physique des semiconducteurs et des composants électroniques”, 5^e édition , édition Dunod , 2001
- [17] Ali Amari : « Etude de la réponse au pH de stuctures microélectroniques a membranes de nirure de silicium fabrique par LPCVD », *Thèse de doctorat de l'UPS de Toulouse*, 1984
- [18] F.Chauvet, A.Amari, A.Martinez : “Stability of silicon nitride/silicon dioxide/silicon electrodes used in pH microelectronic sensors”, *Sensors & Actuators* 6, (1984), p 255
- [19] Bekkay Hajji : «Réalisation technologique des capteurs chimiques ISFET : étude des oxynitrides de silicium en tant que grille ionosensible», *Thèse de doctorat de l'UPS de Toulouse*, 1999
- [20] Jerome.Launay : «Etude d'une structure amplificatrice pour le développement des capteurs. Application à la détection en milieu aqueux», *Thèse de doctorat de l'INSA de Toulouse*, 2001
- [21] SUPREM IV : notice technique
- [22] M.L Pourciel-Gouzy : « Development de capteurs chimiques pour des applications technologiques », *Thèse de doctorat de l'INSA de Toulouse*, à paraître courant 2004

Chapitre 3 :

Caractérisation électrique et chimique des capteurs

- [1] P.Bergveld : Thirty years of ISFETOLOGY What happened in the past 30 years and what may happen in the next 30 years , *Sensors & Actuators*, B6795 (2002), 1-20
- [2] Bekkay Hajji : «Réalisation technologique des capteurs chimiques ISFET : étude des oxynitrides de silicium en tant que grille ionosensible», *Thèse de doctorat de l'UPS de Toulouse*, 1999
- [3] N.Jaffrezic-Renault, A.Soldatkin, C.Martelet, P.Temple-Boyer, W.Sant, M.L.Pourciel, P.Montoriol, F.Montiel-Costes : «Tailoring enzymatic membranes for ENFETs for dialysis monitoring » *Transducers 03, Actuators and Microsystems*, Boston, June 2003, p1188-1191
- [4] M.L. Pourciel, J. Launay , W. Sant, V. Conedera, T. Do Conto, A. Martinez, P. Temple-Boyer: “Development of photo-polymerisable polyvinyl alcohol for biotechnological applications”, *Sensors and Actuators*, B94 (2003), 330-336

Références bibliographiques

- [5] W. Torbicz, D.G. Pijanowska, M. Dawgul: Urea biosensors and their applications in hemodialysis - Perspectives of EnFET applications, *Med. Biol. Eng.*, 10 (2000), 139-145
- [6] A. Senillou, N. Jaffrezic-Renault, C. Martelet, S. Cosnier: A miniaturized urea sensor based on the integration of both ammonium based urea enzyme field effect transistor and a reference field effect transistor in a single chip, *Talanta*, 50 (1999), 219-226
- [7] O.A. Boubriak, A.P. Soldatkin, N.F. Storadub, A.K. Sandrovsy, A.K. El'Skaya: Determination of urea in blood serum by a urease biosensor based on an ion-sensitive field effect transistor, *Sensors & Actuators*, B26-27 (1995), 429-431
- [8] A.B.Kharitonov, M. Zayats, A. Lichtenstein, E. Katz, I. Willner: "Enzyme monolayer-functionalized field effect transistor for biosensor applications", *Sensors and Actuators*, B70 (2000) 222-231
- [9] A.P. Soldatkin, J. Montoriol, W. Sant, C. Martelet, N. Jaffrezic-Renault: "Developpment of potentiometric creatinine sensitive biosensor based on ISFET and creatinine deiminase immobilised in PVA/SbQ photopolymeric membrane", *Materials Science & Engineering*, C21 (2002), 75-79
- [10] Y. Murakami, Y. Suzuki, K. Yooyama, E. Tamiya: "Micro Creatinine Sensor Based on ISFET", *Denki Kagaku*, 64 (1996) 1272-1273