

MICROFLUIDIC DEVICE FOR BLOOD ANALYSIS

CÎRSTINA¹ Maria-Mihaela¹, BOERESCU Vlad, IONESCU Robert-Ionuț,
MATEI Eduard-Florentin

¹Facultatea: IIR, Specializarea: INPN; DIPI; IAAC, Anul de studii: I,
e-mail: cirstinamihaela97@gmail.com

Conducător științific: Prof. Dr. Ing. **Daniel GHICULESCU**

SUMMARY: The scientific work presents aspects regarding the functioning and modeling of a lab-on-a-chip microfluidic device used for blood tests where the leukocyte count is followed, which informs us about the state of the immune system. Aspects regarding the stage of development of lab-on-a-chip devices are presented, extremely useful in the current conditions of the pandemic due to the rapidity of providing analysis results and the opportunity to perform certain determinations, impossible with current conventional equipment. AutoDesk INVENTOR Professional software was used to model the device and COMSOL Multiphysics software was used to simulate the finite element operation of a circuit variant, as well as its geometric optimization. Research has been carried out on the components of the device, such as the pressure system and the counting system. The conditions for the execution of the device on a millimeter silicon wafer were created using photochemical microtechnologies.

CUVINTE CHEIE: leucocite, microfluide, microtehnologii fotochimice.

1. Introducere

Abrevierea de la Micro Electro Mechanical System este „MEMS” (Micro Electro Mechanical System), care a fost adoptată oficial de Dr. Albert P. Pisano în 1989. El a folosit termenul „MEMS” pentru a descrie structura rezonantă realizată ca stabilizator de frecvență [1]. La începutul anilor 1990, a fost propus un micro sistem analitic, cunoscut și sub numele de „laborator pe un cip”. Datorită micro-scării, fluxul de fluid din dispozitivul microfluidic are caracteristici diferite, variind de la 0,1 μm la 1 mm [2].

În prezenta lucrare au fost analizate variante de realizare a circuitului de curgere pe o placuta de siliciu, pentru obtinerea unui dispozitiv microfluidic de tip MEMS folosit la determinarea numărului de leucocte dintr-o probă de sânge, care sunt un indicator în determinarea stării sistemului imunitar.

2. Stadiul actual

Pentru realizarea unui dispozitiv de tip MEMS se apelează la litografie, care reprezintă transferul unui model de pe un material fotosensibil prin expunere selectivă la o sursă de radiație [3].

Geometria unui sistem microfluidic este determinată de următorii parametri (utilizați și la modelarea dispozitivului din lucrarea de față), conform fig. 1: lățimea canalului central (W_c); lățimea canalului lateral (W_l); adâncimea canalului (h); unghiul de intersecție (α) dintre canale.

Matrițele sunt realizate cu ajutorul procesului de fotolitografie fiind realizat într-o cameră curată cu lumină fără ultraviolete pentru evitarea solidificării accidentale a rășinii fotosensibile la această radiație. Forma canalului se realizează cu ajutorul elastomerului PDMS care vine în contact cu o bucată de sticlă [4].

Modelarea curgerii fluidelor în dispozitivele microfluidice, are la bază principiul lui Bernoulli (figura 2), care afirmă că presiunea totală în lungul unei linii de curent într-un fluid incompresibil și lipsit de vâscozitate, aflat în curgere staționară, este constantă, conform relației (1).

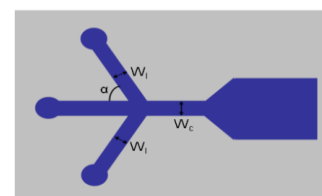


Fig. 1. Parametrii geometrici ai canalului [3]

$$\frac{v^2}{2} + g * z + \frac{p}{\rho} = \text{constant} \quad (1)$$

unde: ,v'- viteza de curgere a fluidului într-un punct pe o linie superioară; ,g'- accelerația datorată gravitației;p' - presiunea la punctul ales; ,ρ'- densitatea fluidului în toate punctele.

Principiul lui Bernoulli poate fi derivat din principiul conservării energiei. Dacă fluidul curge dintr-un rezervor, suma tuturor formelor de energie este aceeași pe toate liniile de flux, deoarece într-un rezervor energia per volum de unitate este aceeași peste tot [5].

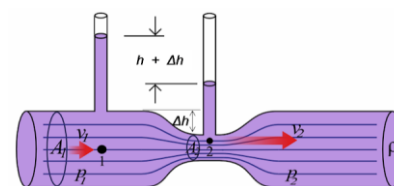


Fig. 2 Legea lui Bernoulli [5]

3. Aspecte ale marketing-ului strategic

Portofoliu de nevoi ale clienților

Portofoliu de nevoi ale clienților s-a stabilit ținând cont de caracteristicile produselor aflate deja pe piață și de cererea care există în domeniu.

Astfel s-a ajuns la o serie de nevoi principale de la care se vor studia oportunitățile de piață, clienții cât și produsele deja existente și care satisfac aceste nevoi primare: N1: Nevoia unei precizii/acuratețe ridicate; N2: Nevoia unor analize rapide la punctul de lucru; N3: Nevoia de prelevare a unei cantități cât mai mici de sânge; N4: Nevoia de a se refolosi; N5: Nevoia unei întrețineri ușoare.

După o analiză asupra oportunităților de piață s-a constatat că nu există un dispozitiv similar care să acopere simultan toate aceste cinci nevoi principale.

Selectarea potențialilor clienți

Selectarea clienților presupune identificarea clienților efectivi și potențiali care ar putea să beneficieze de dispozitivul microfluidic pentru determinarea numărului de leucocite din sânge.

În tabelul de mai jos este reprezentată matricea de selectare a clienților :

Tabelul 1. Matricea de selectare a clienților

| Tipuri clienți | Studenti UMF | Profesori UMF | Laboratoare de analiză | Spitale |
|--------------------------|--------------|---------------|------------------------|---------|
| Segment de piață | | | | |
| Laboratoare de cercetare | - | - | - | 2 |
| Instituții de învățământ | 4 | 1 | 3 | - |

În urma analizei matricei de selectare a clienților, a rezultat că numărul total al persoanelor chestionate este de 10.

Date culese de la potențialii clienți

Chestionarul utilizat pentru cercetarea de piață în cazul comercializării dispozitivului a fost realizat în mediul online și a cuprins următoarele întrebări :

1. În ce domeniu activați ?
2. Cât de documentat sunteți în legătură cu acest proces?
3. Ce părere aveți despre utilizarea acestui tip de dispozitiv privind situația actuală de pandemie?
4. Considerați că este utilă apariția pe piață a acestui produs?
5. Ați dori să achiziționați un astfel de dispozitiv?
6. Cât sunteți dispuși să plătiți pentru achiziția unui astfel de produs?
7. Pe o scară de la 1 la 5 în ce măsură sunteți afectat de situația pandemiei actuale?
8. Știați că prin numărul de leucocite din corp se poate determina starea de sănătate/imunitate a organismului ?
9. Considerați că dimensiunile dispozitivului reprezintă o caracteristică esențială în realizarea acestora?
10. Considerați că refolosirea acestui dispozitiv reprezintă un avantaj față de echipamentele clasice/convenționale?
11. Pe o scară de la 1 la 5 cât de importantă credeți că este caracteristica de întreținere a dispozitivului?
12. Pe o scară de la 1 la 5 cât de importantă credeți că este cartea produsului?
13. Considerați masa scăzută a produsului un avantaj?
14. Pentru care dintre caracteristicile următoare considerați că trebuie pus mai mult accent?

Îerarhizarea și stabilirea importanței relative

În urma studierii răspunsurilor și interpretării nevoilor clienților s-a realizat o grupare a nevoilor principale urmând ca apoi să se stabilească importanța relativă a acestora. Se vor acorda note de la 1 la 5 în funcție de importanța considerată.

Tabelul 2. Matricea de selectare

| Cerințele clienților | Importanța relativă |
|---|---------------------|
| 1.Dispozitivul microfluidic pentru analiza leucocitelor din sânge este portabil și ușor de depozitat. | 5 |
| 2.Dispozitivul microfluidic pentru analiza leucocitelor din sânge este reutilizabil. | 5 |
| 3.Dispozitivul microfluidic pentru analiza leucocitelor din sânge este ușor de utilizat. | 4 |
| 4.Dispozitivul microfluidic pentru analiza leucocitelor din sânge analizează rapid monstrele de sânge. | 4 |
| 5.Dispozitivul microfluidic pentru analiza leucocitelor din sânge oferă precizie în analiza monstrelor prelevate. | 5 |
| 6.Dispozitivul microfluidic pentru analiza leucocitelor din sânge poate fi folosit în industria medicală. | 4 |
| 7.Dispozitivul microfluidic pentru analiza leucocitelor din sânge se poate folosi în orice mediu fiind independent de locul de muncă. | 5 |
| 8.Dispozitivul microfluidic pentru analiza leucocitelor din sânge are un preț potrivit pentru piața medicală actuală. | 3 |

În tabelul 3 se vor interpreta o parte din rezultatele obținute din chestionarul online.

Tabelul 3. Ghid de chestionar

| Întrebare | Declaratie clienți | Nevoie interpretată |
|--|--|--|
| (10).Considerați că re folosirea acestui dispozitiv reprezintă un avantaj față de echipamentele clasice/convenționale? | o Da | o Nevoia de a avea o productivitate mare o Nevoia de a fi durabil și rezistent in timp o Nevoia de a fi rapid re folosibil |
| (14).Pentru care dintre caracteristicile urmatoate considerați că trebuie pus mai mult accent? | o Acuratețe o Timp de răspuns o Produs reutilizabil o Formă si dimensiuni | o Nevoia de avea precizie în analiza leucocitelor o Nevoia de a fi rapid în prelucrarea analizei o Nevoia de a fi reutilizabil rapid și usor o Nevoia de a fi ușor de transportat o Nevoia de a fi ușor de depozitat |

În figurile 2 și 3 se vor prezenta două dintre graficele obținute pentru două întrebări realizate în chestionarul online.

6) Cat sunteți dispusi sa platiti pentru achizitia unui astfel de produs?
8 răspunsuri

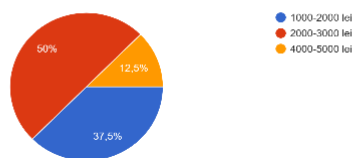


Fig.3.Reprezentare grafică privind întrebarea legată de preț

7) Pe o scara de la 1 la 5 in ce masura sunteți afectat de situatia pandemiei actuale?
7 răspunsuri

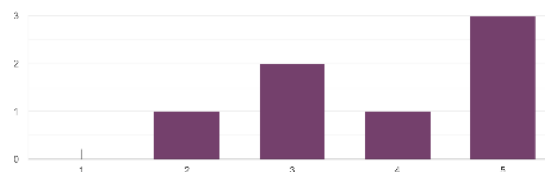


Fig.4. Reprezentare grafică privind nivelul de afectare al pandemiei

4. Stabilirea specificațiilor

Termenul de „caracteristică de calitate” se definește, conform standardelor de calitate în vigoare: „caracteristică = trăsătură distinctivă” care poate fi, respectiv:intrinsecă sau atribuită; calitativă sau cantitativă. Caracteristica de calitate a unui produs, proces sau sistem reprezintă trăsătura distinctivă intrinsecă a acestuia referitoare la o cerință. Măsurarea unei caracteristici de calitate constă în obținerea valorii numerice prin care se exprimă valoarea absolută a acelei caracteristici în anumite unități de măsură.

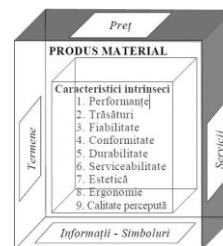


Fig.5. Principalele caracteristici generale ale unui produs

Conform criteriilor 3, 4 și 5, s-au prezentat principalele caracteristici și clasificarea acestora pentru produsul „dispozitiv microfluidic pentru analize de sânge” în tabelul următor:

Tabelul 4. Caracteristicile produsului

| Nr. | Denumirea caracteristicii [unitatea de măsură] | Criterii de clasificare și grupe de caracteristici asociate acestora | | | | | | | | | |
|-----|---|--|-------|-------|---|-----|--------|--------|---|--------|-------|
| | | Criteriul 3 Influența asupra calității | | | Criteriul 4 Natura caracteristicilor | | | | Criteriul 5 Importanța caracteristicilor | | |
| | | Optimiz | Mărit | Reduc | Tehn | Eco | Social | Psihos | Princip | Secund | Minor |
| 1. | Dimensiuni exterioare ale echipamentului [cm] | | | • | • | | | | • | | |
| 2. | Masa echipamentului [kg] | | | • | • | | | | • | | |
| 3. | Densitatea materialului interior [km/m ³] | • | | | • | | | | • | | |
| 4. | Densitatea materialului exterior [km/m ³] | • | | | • | | | | | • | |
| 5. | Volumul operandului introdus [μl] | | • | | • | | | | • | | |
| 6. | Debit operand [μl / min] | | • | | • | | | | • | | |
| 7. | Grosimea canalului de curgere [μm] | | | • | • | | | | • | | |
| 8. | Lățimea canalului de curgere [μm] | | | • | • | | | | • | | |
| 9. | Timp de răspuns [s] | | | • | • | | | | • | | |
| 10. | Viteza de curgere [m/s] | | • | | • | | | | • | | |
| 11. | Timpul de parcurgere al operandului [s] | | | • | • | | | | • | | |
| 12. | Acuratețe (precizia) | • | | | • | | | | • | | |
| 13. | Design-Ergonomie | • | | | | | | • | | • | |
| 14. | Indice eroare [%] | | | | • | | | | • | | |
| 15. | Indice de reparabilitate [%] | | • | | • | | | | | • | |

După stabilirea caracteristicilor produsului ce se dorește a fi realizat, s-au analizat caracteristicile următoarelor produse concurente detaliate în figura 6.

ADAM-rWBC

Metoda de detectare: 4W LED verde, IEC 62471:2006
 Dimensiuni: 220x375x250mm
 Timp de analiză: 180 sec/test
 Alimentare: 100-240V, 50/60 Hz
 Greutate: 9 kg
 Tipul de transmitere al datelor analizate : transmitere pe PC
 ; Volum probă de sânge: 100 μL / plăcuță [6].



CellDrop™ FL

Metoda de detectare: Sony IMX265, IEC 62471:2006
 Dimensiuni: 210 x 370 x 180 mm
 Timp de analiză: 3 sec/test
 Alimentare : 100-240 V, 50/60 Hz
 Greutate: 8 kg
 Tipul Camerei: CellDrop FL
 Tipul de transmitere al datelor analizate : transmitere pe PC ; Volum proba de sânge: 10 μL / plăcuță [7].



Fig.6. Performanțe ale produselor concurente

În urma analizei celor 4 produse concurente s-a realizat matricea clientului din care s-a concluzionat că produsul D-M-Leuc1 are valoare de utilizare percepută de client mare și prețul acestuia este printre cele mai mici față de produsele analizate.

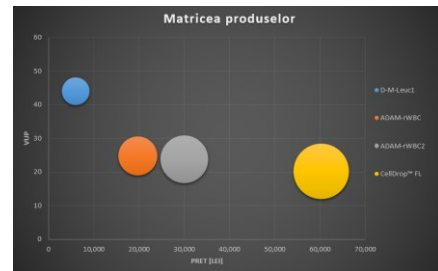


Fig.7. Matricea produselor

5. Proiectarea conceptuală

Funcția generală(generică, globală) sau suprafuncția este funcția care exprimă sau definește nevoia generică care determină apariția unui produs. Funcția generală a echipamentului este de a determina numărul de leucocite dintr-o probă de sânge

Funcțiile componente reprezintă însușiri ale produsului care determină funcția generală (tabelul 5):

Tabelul 5. Funcțiile principale ale dispozitivului microfluidic

| Funcția generală | Determinarea numarului de leucocite |
|------------------|--|
| 1 | Permite curățarea |
| 2 | Permite atașarea la mediu |
| 3 | Conferă precizie rezultatelor |
| 4 | Asigură caracteristicile necesare procesului de măsurare |
| 5 | Are etanșeitate |
| 6 | Conține, protejează și informează (ambalajul) |
| 7 | Este ușor de manipulat |
| 8 | Rezistă la mediu de lucru |
| 9 | Are design |

Analiza produselor concurente reprezinta un element hotarator pentru poziționarea de succes a produsului nostru și poate oferi o sursă bogată de idei pentru proiectarea acestuia, cât și pentru producția lui. Aceste informații le-am obținut din diferite patente/brevete, cât și din literatura tehnică de specialitate. Principalele patente (fig.8-10) pe care le-am utilizat pentru identificarea de soluții constructive cunoscute au fost patentele privind dispozitivele MEMS/ lab-on-a chip cu aplicații medicale.

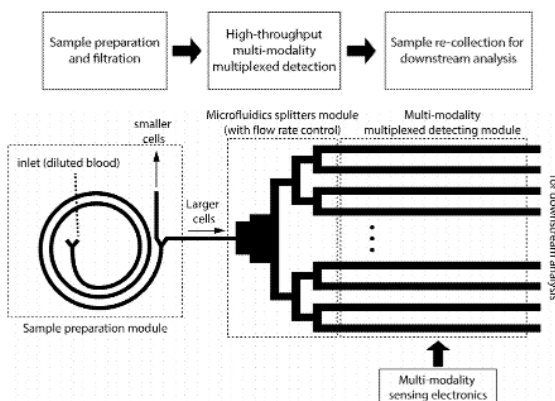


Fig.8. Microfluidice masive pentru numărarea multiplexă; Nr. brevet US2019039060A1 [8]

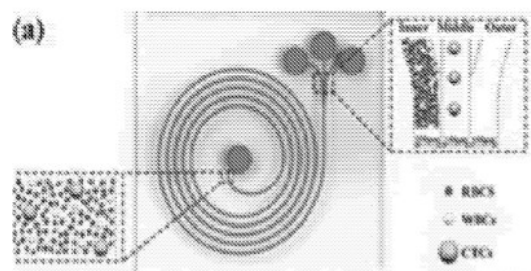


Fig.9. Aparat pentru detectarea celulelor canceroase în sânge; Nr. brevet KR20180110772A [9]

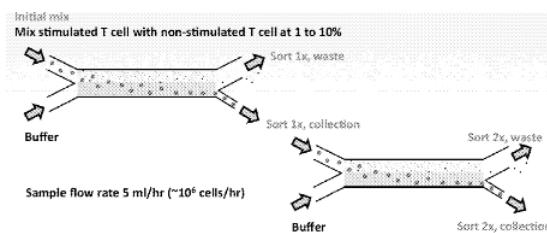


Fig.10. Sisteme și metode de concentrare a celulelor;
Nr. brevet WO2019140104A1 [10]

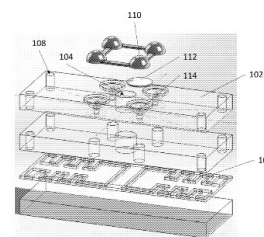


Fig.11. Dispozitive point-of-care de identificare grupele de sânge Nr. brevet - US2021102962A1 [11]

Pentru proiectarea mecanismului optim de prelucrare a dispozitivului s-a utilizat următoarea diagramă prezentată în figura 12 .

În urma analizării rezultatelor evidențiate după aplicarea metodei diagramei de idei, prin combinarea acestora s-au obținut practic un număr de soluții constructive egal cu produsul numerelor de variante aparținând fiecărui ansamblu formator, adică $5 \times 2 \times 6 \times 3 = 180$ posibile combinații.

După alcătuirea matriciei de triere a conceptelor au fost reținute trei dintre cele cinci concepte:

- A1B2C1D1
- A2B1C1D1
- A5B1C1D1

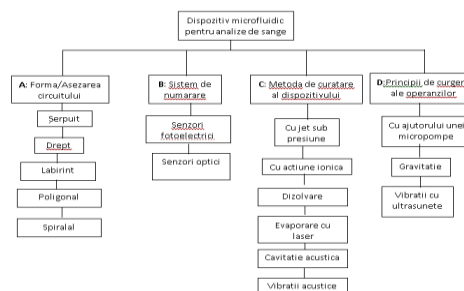


Fig.12. Diagrama de idei utilizabilă în cazul proiectării mecanismului optim de dispozitiv microfluidic .

| | A | B | C | D |
|---|----------------------------|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| | Forma/Așezarea circuitului | Sistem de numărare | Metoda de curățare al dispozitivului | Principii de curgere ale operanzilor |
| 1 | Serpuit | Senzori fotoelectrici | Cu jet sub presiune | Cu ajutorul unei micropompe |
| 2 | Drept | Senzori optici | Cu actiune ionica | Gravitatie |
| 3 | Labirint | | Dizolvare | Vibratii cu ultrasunete |
| 4 | Poligonal | | Evaporare cu laser | |
| 5 | Spirala | | Cavitate acustica | |
| 6 | | | Vibratii acustice | |

Fig.13. Concepte rezultate

Selectarea conceptelor cu ajutorul matricilor decizionale

- Au fost stabilite criteriile și ponderile de evaluare.
 - S-a ales un nou concept de referință – concept A1B2C1D1.
 - S-a realizat o scală de evaluare.
 - S-a alcătuit matricea de evaluare.
- Conceptul selectat final – A5B1C1D1.

S-a realizat o variantă preliminară de circuit, reprezentată în figura 14, ce a fost modelată și simulată în programul COMSOL Multiphysic. Vizualizarea rezultatelor în urma simulării se face urmărind variația vitezei de curgere a fluidelor (fig. 15) și a presiunii acestora (fig. 16). Conform fig. 16 și 17 se poate observa faptul că presiunea scade în momentul în care se ajunge în canalul de numărare datorită lungimii circuitului și schimbării de direcție de curgere.

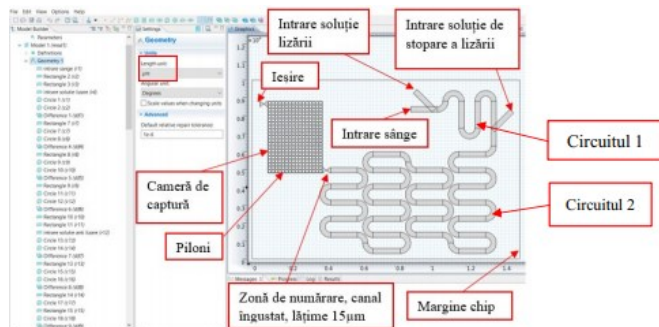


Fig. 14 Crearea geometriei dispozitivului microfluidic

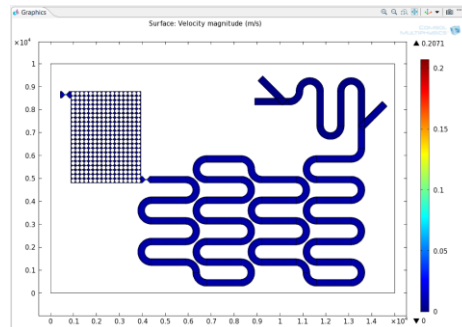


Fig. 15. Viteza în dispozitiv

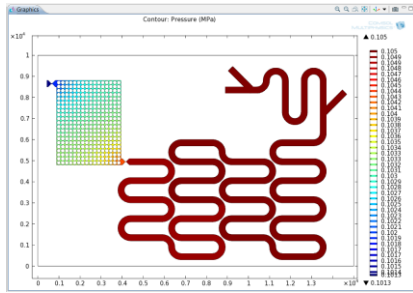


Fig. 16. Presiunea din dispozitiv

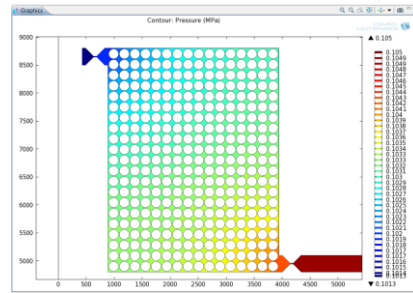


Fig. 17. Presiunea din camera de captură

6. Proiectarea detaliată

Proiectarea prototipului a fost realizată cu ajutorul programul Inventor 2020, respectând forma, dimensiunea și modul de curgere al fluidului analizate în faza de proiectare conceptuală.

Astfel în figura 18 este prezentat desenul de execuție al microcipului, iar în figura 19 sunt aratate elementele componente ale ansamblului dispozitiv microfluidic pentru analize de sânge.

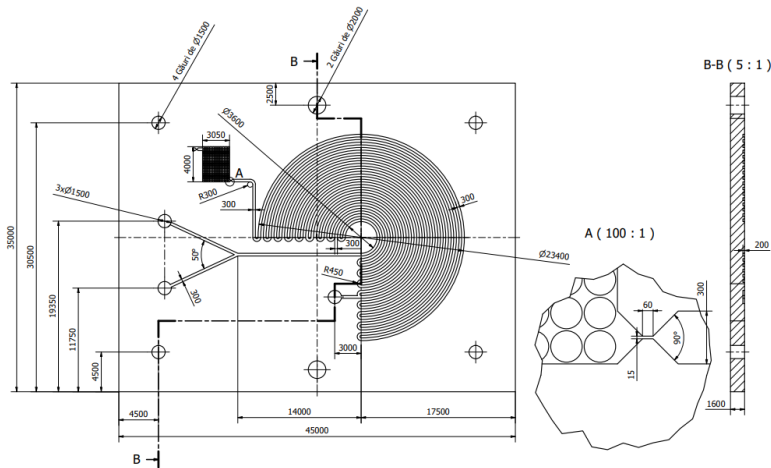


Fig. 18. Desen de execuție microchip.

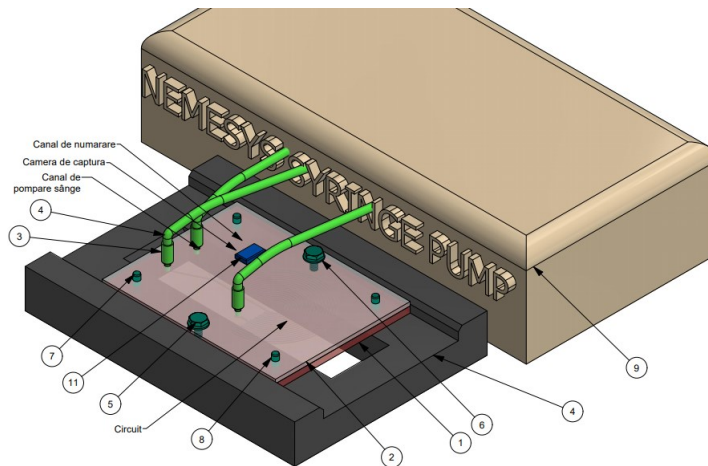


Fig. 19. Dispozitiv microfluidic pentru analize de sânge.

1. Microcip din siliciu cu circuitul modelat; 2. Capac; 3. Conectori de tip “tank”; 4. Suport de prindere și ghidare; 5. Șurub M1.6x8; 6. Șaibă plata Ø 1.6; 7. Stif centrare Ø1.5x4; 8. Stif centrare Ø1.5x8; 9. Sistem de pompare pentru pompe cu seringi NEMESYS; 10. Tuburi; 11. Senzor de numărare;

Desenul de execuție conține toate cotele pentru realizarea piesei și are dimensiunile în μm , iar scara la care este realizat desenul este de 5:1.

Microcipul, suportul și capacul se vor fabrica, în schimb, restul componentelor vor fi achiziționate de la furnizori și montate pe o suprafață plană.

7. Concluzii

1. Au fost cercetate diverse construcții ale circuitelor microfluidice în vederea realizării unor analize de sânge cu avantaje pe care tehnologiile convenționale nu le prezintă.

2. În urma analizei răspunsurilor primite prin intermediul chestionarului online s-a luat decizia că este necesar apariția a unui dispozitiv pentru realizarea rapidă a analizelor de sânge, ținând cont de situația actuală de pandemie.

3. A fost modelat un dispozitiv microfluidic de tip lab-on-a-chip (MEMS), în vederea realizării practice pe o plăcuță de siliciu cu dimensiuni milimetrice, folosind microtehnologii fotochimice; dispozitivul este utilizat pentru realizarea analizelor de sânge

4. Acest dispozitiv microfluidic prezintă avantaje majore printre care: furnizează un rezultat rapid al acestei analize; utilizează un volum foarte redus al probei de sânge;

5. S-au elaborat diverse concepte pentru realizarea circuitului de curgere a lichidului microfluidic și a elementelor componente ale dispozitivului final; în urma unei analize amănunțite s-a ales o variantă finală ce a fost modelată 3D în programul AutoDesk Inventor.

8. Bibliografie

- [1] Marinescu Roxana, Ghiculescu D., (2017) „Technological aspects regarding the use of photolithography in obtaining micro-electro-mechanical systems (MEMS)”, *Nonconventional Technologies Review*, Vol. XXI, Nr. 1, p. 24-29, ISSN 2359 – 8646.
- [2] Jingdong Chen, Di Che, (2013) „Progress of Microfluidics for Biology and Medicine”, *Nano-Micro Lett.* 5(1), 66-80 (2013).
- [3] *** „DSA Re-Enters Litho Picture”, disponibil la: <https://semiengineering.com/dsa-re-enters-litho-picture/> , accesat la: 07.02.2021
- [4] *** „Sânge” disponibil la <https://www.csid.ro/dictionar-medical/sange-11338704> , accesat la: 11.02.2021.
- [5] >/***, „Principiul lui Bernoulli”, 2016, disponibil la <https://www.green-mechanic.com/2016/10/bernoulli-experiment-lab-report.html/> ,accesat la: 25.03.2021
- [6]*** “ADAMRWBC”, disponibil la http://www.nanoentek.com/theme/nanont2_en/shop/02/product01_view.php?it_id=1547537203 ; accesat la: 03.05.2021.
- [7] *** “Celldrop”, disponibil la <https://www.denovix.com/products/celldrop/#1594752371820-e2488bbe-308c> ; accesat la:09.05.2021
- [8] Arbabian Mohammad Amin și Chien Jun-Chau, *Massive microfluidics for multiplexed counting*, internațional, USA, US2019039060A1, 2019.
- [9] Park Yong Won, *Apparatus for detecting cancer cells in blood*, internațional, Coreea de Sud, KR20180110772A, 2018.
- [10] Kung Yu-Chun, *Microfluidic cellular device and methods of use thereof*, internațional, USA, WO2019140104A1, 2019.
- [11] Day W. Steven și Refaai J. Majed, *Abo blood group point-of-care chip testing*, internațional, USA, 2021.