
Projet thématique MOON

AYRINHAC Elisa¹, DROUIN Clément² et JOUCLARD Charly³

¹HEPIA, MT2, elisa/ayrinhac@hes-so.ch

²HEPIA, MT2, clement.drouin@hes-so.ch

³HEPIA, MT2, charly.jouclard@hes-so.ch

28 avril 2023

Introduction

Ce rapport détaille le projet thématique de deuxième année de bachelor microtechnique de HEPIA option Bio-ingénierie. Cette année notre cliente, Mme Loussert-Fonta Céline est une biologiste travaillante sur l'endométriose, une maladie encore peu connue mais très commune, touchant environ 1 femme sur 10.

Cette pathologie se caractérise par le développement du tissu semblable à l'endomètre hors de l'utérus. Ces tissus peuvent proliférer dans les organes voisins comme les ovaires; l'intestin, la vessie ou même les poumons. Les symptômes varient énormément entre les femmes mais ont retenu, le plus souvent, celui de la douleur extrême provoqué par la croissance de ces tissus.

Les objectifs du projet sont, d'une part, de mettre en application les connaissances acquises durant nos études, mais également de développer de nouvelles compétences comme la gestion de projet. D'autre part, ce projet contribue à développer la recherche sur l'endométriose et servira de support pour le "project MOON : endoMetriosis Organoids to vOice up woman pain".

Le but de notre projet est de créer un bio-chip qui permettrait d'étudier les tissus de l'endomètre *in vitro* durant un cycle utérin. Cela signifie, imaginer, concevoir, fabriquer, et tester un dispositif capable de recréer les conditions d'un utérus (Température, humidité, concentration d'hormones, etc...)

Table des matières

1 Etudes préliminaire	4
1.1 Biologie	4
1.1.1 Contexte	4
1.1.2 L'endomètre	4
1.1.3 Le cycle menstruel	4
1.2 Etat de l'art	6
1.2.1 Incubateur	6
1.2.2 Matériau biocompatible	6
1.2.3 Fluidique	6
1.3 Aperçu du projet	7
1.3.1 Besoins	7
1.3.2 Fonctions	7
1.4 Cahier des charges	8
1.5 Catalogue de solutions	9
1.5.1 Gestion des nutriments, déchets et de la concentration des hormones	9
1.5.2 Contrôler l'environnement extérieur	9
1.5.3 Cultiver les cellules	9
1.5.4 Circulation du fluide	9
1.5.5 Mélanger les fluides	10
1.5.6 Analyser les concentrations	10
1.5.7 Contrôler le système (microcontrôleur)	10
1.5.8 Alimentation	11
1.6 Schéma bloc du système	11
1.7 Déroulé du projet	12
1.8 Choix pour le projet	12
2 Conception mécanique	13
2.1 Mélangeur hydrostatique	13
2.1.1 Simulation fluidique	13
2.1.2 CAO du mélangeur	15
2.2 Zone de culture	15
2.3 Support des réservoirs	16
2.3.1 Le boitier découpable au LASER	17
2.4 Assemblage des biochips	19
2.4.1 Le biochip cellules	19
2.4.2 Modélisation biochip cellules version 2	20
2.4.3 Le mélangeur	20
2.4.4 CAO mélangeur version 2	21
2.4.5 CAO boitier version 2	22
3 Conception électronique et programmation	23
3.1 Carte d'alimentation version 1	23
3.1.1 Carte d'alimentation version 2 et 3	24
3.1.2 Carte d'alimentation version 4	26
3.2 Programmation	26
3.2.1 GitHub	26
3.2.2 Raspberry Pi	26
3.2.3 Préparation des données	26
3.2.4 Programme pour vérifier les fichiers ftr	27
3.2.5 Programme de test des moteurs	27
3.2.6 Programme pour armer les pompes	27
3.2.7 Programme de l'expérience	27
3.2.8 Programme de contrôle	28

3.2.9	Programme pour reset les GPIO	28
4	Maquette final	29
4.1	Conception du chassis	29
5	Conclusion	33

1 Etudes préliminaire

1.1 Biologie

1.1.1 Contexte

Pour que l'expérience soit optimale, le client a besoin de suivre l'évolution d'un tissu d'endomètre sur la durée d'un cycle endométrial. Le système doit être compact et permettre l'observation des cellules en culture ainsi que la possibilité de collecter des cellules et du milieu de culture pour analyse. Afin mieux comprendre comment concevoir un appareil correspondant à la demande du client, une courte introduction biologique est nécessaire.

1.1.2 L'endomètre

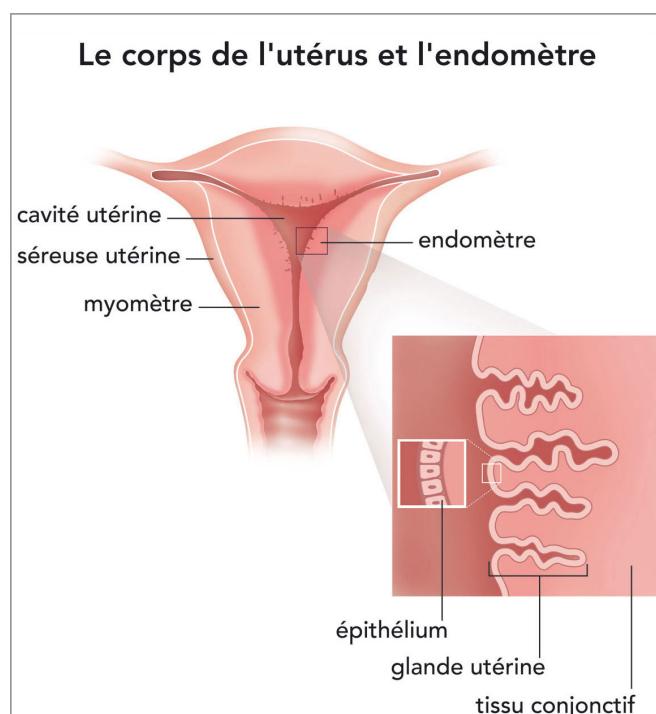


Figure 1: Localisation de l'endomètre dans l'utérus

L'endomètre est un épithélium qui compose une partie de l'appareil reproducteur féminin, il tapisse les parois de la cavité utérine et est composé de 3 couches :

- Le myomètre qui est la fondation de l'endomètre.
- la couche basale qui contient les glandes et les tissus conjonctifs.
- la couche fonctionnelle.

Cette dernière couche est celle qui voit sa taille changer durant le cycle menstruel.

1.1.3 Le cycle menstruel

"Le cycle menstruel est l'ensemble des phénomènes physiologiques, survenant le plus souvent de façon périodique, qui préparent l'organisme de la femme à une éventuelle fécondation. La connaissance du cycle menstruel est importante pour aborder l'étude des troubles de la menstruation, dans l'exploration de l'infertilité et dans la mise en œuvre des techniques de procréation médicalement assistées." [1]

L'hypothèse émise par la biologiste serait qu'il y a corrélation entre le cycle hormonal et l'apparition de kystes dus à l'endométriose. Durant le cycle utérin, le taux d'hormonal de la femme varie selon les jours. Cela

permet au corps de réguler la période de croissance de l'endomètre, puis de déclencher l'ovation et enfin S'il n'y a pas eu fécondation, de déclencher les menstruations.

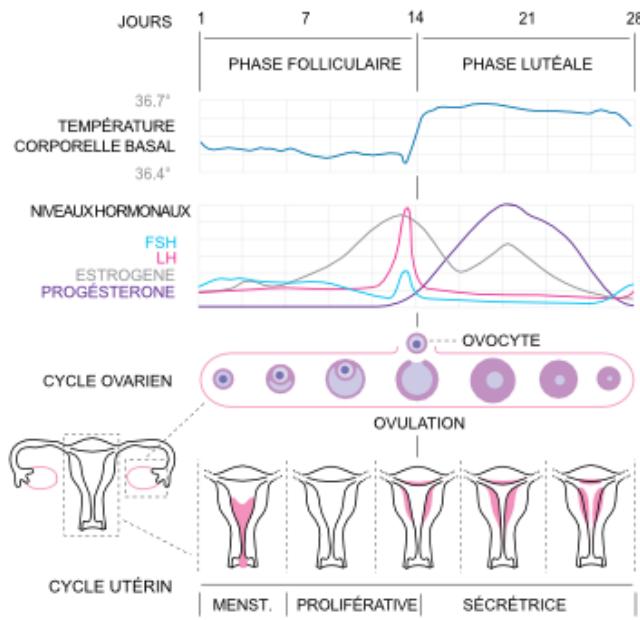


Figure 2: Graphique montrant le cycle menstruel avec ces variation hormonal et ce que cela implique

Comme vu dans la figure 2, les 4 hormones présentent dans le cycle sont :

- La progestérone.
- Les estrogènes, notamment l'estadiol.
- La LH pour luteinizing hormone.
- La FSH pour follicle stimulating hormone.

La consigne est de reproduire les cycles de concentration de l'estadiol et de la progestérone. Car ce sont les hormones suspectées dans l'apparition de l'endométriose. Cela signifie recréer les conditions d'homéostasie des cellules ainsi que les conditions de concentration de ce cycle et les appliquer à des cellules *in vitro*. Afin de répondre au mieux à cette problématique un état de l'art de la culture cellulaire sera établie ainsi qu'un inventaire des techniques présentent au campus biotech qui pourraient être utile dans notre projet.

1.2 Etat de l'art

1.2.1 Incubateur

Actuellement la culture cellulaire est un procédé connu et maîtrisé par l'Homme qui consiste à placer des cellules dans un milieu de culture afin de les faire proliférer. Cette méthode permet d'avoir des colonies de cellule pouvant aller jusqu'à former des organoïdes pouvant être utilisés à des fins de recherche. Les organoïdes se comportent de manière similaire à l'organe miniaturisé. Peu importe l'objectif, la méthode de culture garde toujours un objectif d'homéostasie et un objectif de prolifération. Dans la pratique cela revient à placer dans un incubateur une colonie de cellules contenue dans un milieu nutritif. Pour maintenir de bonnes conditions on place ces échantillons dans l'enceinte d'un incubateur qui permet d'isoler les cellules du milieu extérieur tout en maintenant les constantes de température, d'humidité et de CO₂ de façon optimale. Les incubateurs professionnels sont des machines de précision, asservis qui permettent de régler précisément toutes les conditions de leurs enceintes; cela permet de chercher l'expression de certains phénotypes au sein des colonies. Ils sont aussi dotés de sécurités notamment en matière de ventilation afin de protéger les cellules et le biologiste. Toutefois cette précision rend le matériel cher. Il faut compter entre 5 000 CHF et 15 000 CHF pour un incubateur professionnel. L'incubateur fait maison sont moins précise mais permettent une personnalisation complète en matière de condition de culture. Toutefois même si cela reste compliqué à construire dans sa totalité, il est assez simple de stabiliser la température et l'humidité. Ces machines permettant de créer une atmosphère apte à la reproduction cellulaire toutefois il nous faut quelque chose qui contient les cellules et leur milieu nutritif. Il faut des instruments de culture biocompatible.

1.2.2 Matériau biocompatible

On appelle matériau biocompatible, les matériaux qui ont la capacité à ne pas interférer; ne pas dégrader, le milieu biologique dans lequel ils sont utilisés. Dans notre cas, il faut que le lieu d'accueil des cellules ne dégrade en rien leurs fonctionnements. Actuellement les zones de culture sont

- Les boîtes de pétris.
- Les écouvillons.
- La verrerie de chimie.
- Dans les labo d'HEPIA à la FCBG des biochip en PMMA, un polymère biocompatible.

Cette liste n'est pas exhaustive, tout ce qui fait d'un matériau biocompatible peut en théorie accueillir des cellules.

1.2.3 Fluidique

La fluidique est une partie importante dans la survie des cellules, c'est grâce à elle que les nutriments sont acheminés jusqu'à la zone de culture. Elle se compose de tous les éléments comprenant du fluide, tel que :

- Les réservoirs.
- Les pompes.
- les tuyaux.
- les vannes.

Les tuyaux utilisés à la FCBG sont de qualités médicales, c'est-à-dire qui sont biocompatibles. Ils ne diffusent pas dans le milieu de culture, et ils ne sont pas sensibles aux méthodes de stérilisation.

1.3 Aperçu du projet

1.3.1 Besoins

On peut voir avec la figure 3 que le système conçu va permettre au biologiste d'étudier l'influence des hormones sur du tissu endométrial.

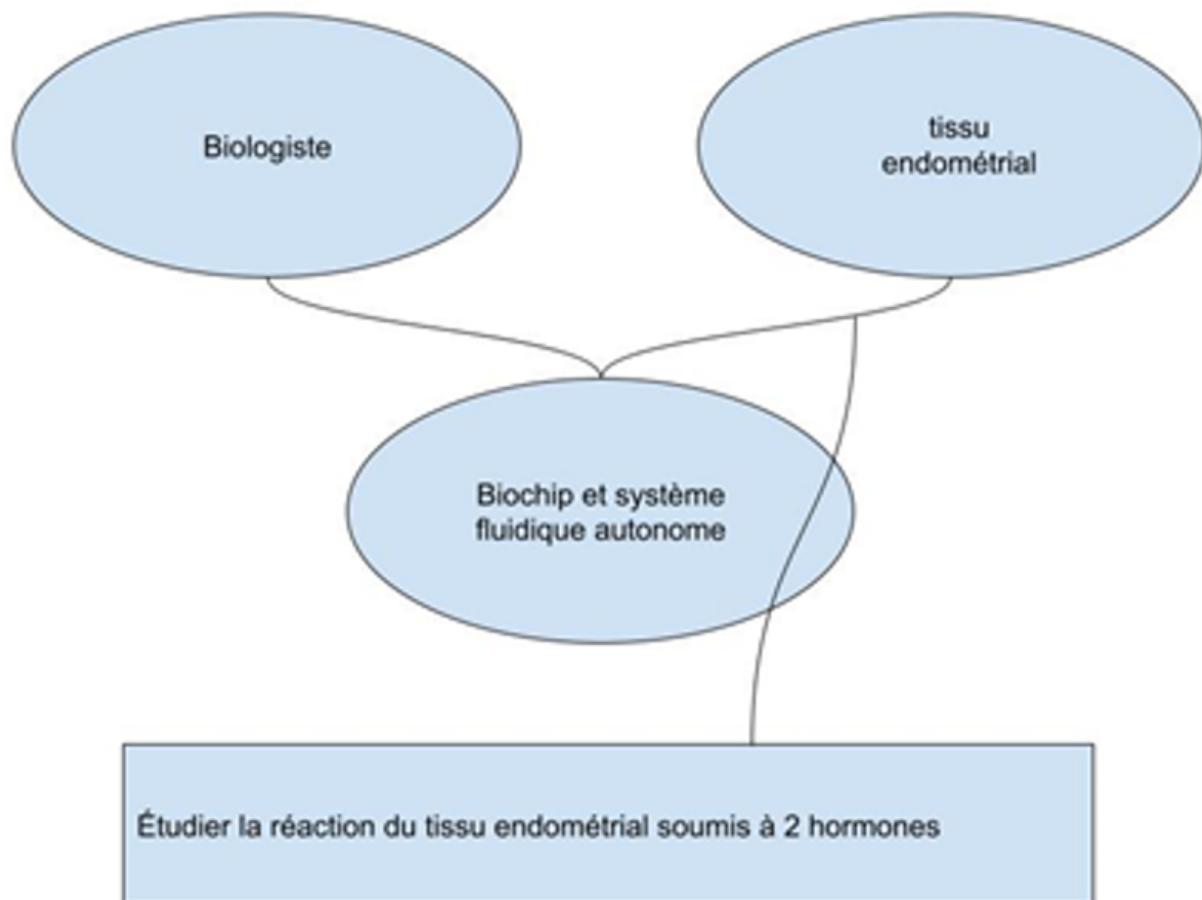


Figure 3: Bête à corne

1.3.2 Fonctions

N°	Fonction
FP1	Maintenir les cellules en vie
FP2	Intégrer des concentrations spécifiques d'hormone
FC3	Observer les cellules au microscope
FC4	Alimenter le système en énergie
FC5	Réaliser un système autonome
FC6	Résister au milieu imposé par les cellules
FC7	Utiliser un matériau biocompatible
FC8	Respecter le budget
FC9	Assurer un cycle de 28 jours

Tableau 1: Fonctions à assurer

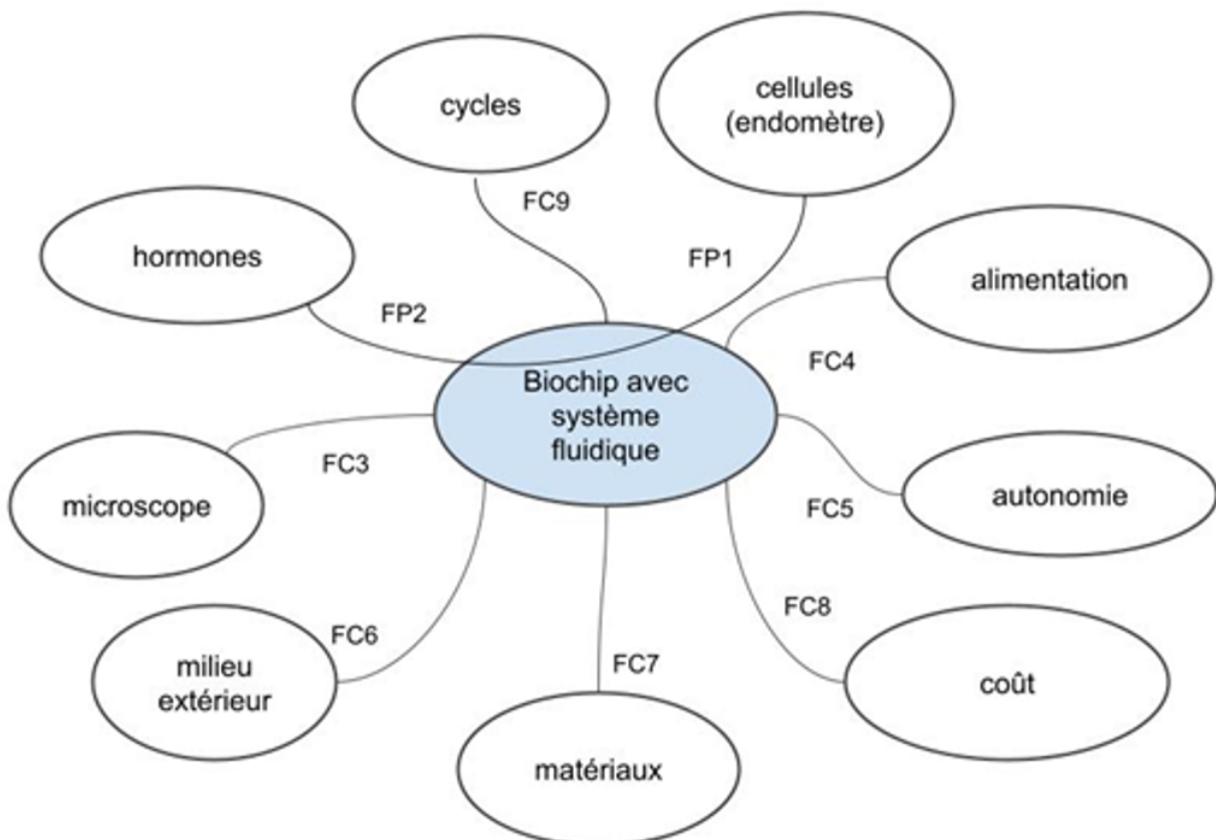


Figure 4: Diagramme pieuvre avec les fonctions associés

1.4 Cahier des charges

La première fonction à prendre en compte est la survie des cellules. Pour cela, notre système devra respecter les paramètres suivants :

- une température de 37°C
- un pH de 7
- un renouvellement du milieu de culture de 1 ml par jours
- atténuer toute variation de milieu
- la Biocompatibilité du milieu

Pour ce qui est du système fluidique, il permet l'apport du milieu de culture à la cellule et donc nécessite de répondre aux points suivants :

- un système étanche
- un écoulement laminaire
- un système de purge
- un système d'injection d'hormones
- un mélangeur pour éviter des pics de concentration
- une pompe pour un système dynamique

Enfin, le système dans sa globalité devra assurer :

- une autonomie de 28 jours minimum
- une zone transparente permettant l'observation des cellules

1.5 Catalogue de solutions

1.5.1 Gestion des nutriments, déchets et de la concentration des hormones

Solution	Avantages	Inconvénients
Seringues auto-poussés	-Précis -Facile d'utilisation -Facilement programmable -Réponse linéaire	-Energie -Limité en quantité -Espace
Pompe péristaltiques[2]	-Déjà présent au labo	-Peu précis -Energie
Système de goutte à goutte	-Low-cost -Economique en énergie	-Précision -A pression atmosphérique -Complexité d'asservissement -Réponse chaotique

Tableau 2: Solutions pour la gestions des nutriments, déchets et des hormones

1.5.2 Contrôler l'environnement extérieur

Solution	Avantages	Inconvénients
Incubateur	-Constante externe stable -A disposition -Retour d'expérience	-Placé dans l'incubateur -Protéger l'électronique
Système autonome	-Pas de dépendance	-Compliqué à réaliser -Energivore -Coût

Tableau 3: Solutions pour gérer l'environnement extérieur

1.5.3 Cultiver les cellules

Solution	Avantages	Inconvénients
Bio-chip en PMMA	-Usinage -Retour d'expérience -Sur mesure -Fluidique intégré	-Assemblage par couche -Long à fabriquer
Boîte de pétris	-Coût -Stérilité	-Pas de circulation de fluide

Tableau 4: Solutions pour le milieu de culture

1.5.4 Circulation du fluide

Solution	Avantages	Inconvénients
Pompe péristaltique	-Déjà présent au labo -Facile d'utilisation -Pas de contamination	-Débit limité -Energie
Gravité	-Pas besoin de matériel spécifique -Pas besoin d'alimentation	-Compliqué à mettre en oeuvre

Tableau 5: Solutions pour injecter les différents fluides

1.5.5 Mélanger les fluides

Solution	Avantages	Inconvénients
Mélangeur hydrostatique "2D"	-Economique -Facilité d'intégration -Compact -Volume sur mesure -Modélisable	-A créer -Perte de charge
Mélangeur hydrostatique "3D"	-Economique -Facilité d'intégration -Compact -Volume sur mesure -Modélisable	-A créer -Perte de charge -Usinage
Mélangeur magnétique	-Déjà présent au labo -Facilement nettoyable -Gestion de la puissance	-Espace -Biocompatibilité -Non modélisable -Non pilotable

Tableau 6: Solutions pour assurer l'homogénéité des liquides

1.5.6 Analyser les concentrations

Solution	Avantages	Inconvénients
Colorimètre externe	-Facilité d'intégration -Précis -Déjà présent au labo	-Aucune donnée interne -Nécessite présence utilisateur
Colorimètre interne	-Retour en temps réel -Gain de précision de l'asservissement -Donnée interne au système	-A créer -Précision

Tableau 7: Solutions pour contrôler les concentrations

1.5.7 Contrôler le système (microcontrôleur)

Solution	Avantages	Inconvénients
Arduino Uno	-Facilité d'utilisation -Flexible	-Pas de stockage interne -Pas de contrôle à distance -Pas de possibilité d'utiliser python -14 pin
Raspberry Pi	-Retour en temps réel -Contrôlable à distance -Stockage interne -Utilisation possible de Python -40 pin	-Faible disponibilité

Tableau 8: Solutions pour commander le système

1.5.8 Alimentation

Solution	Avantages	Inconvénients
Secteur	-Disponibilité	-Toujours branché
Batteries	-Portable	-Prix -Recharge compliqué

Tableau 9: Solutions pour alimenter le bio-chip

1.6 Schéma bloc du système

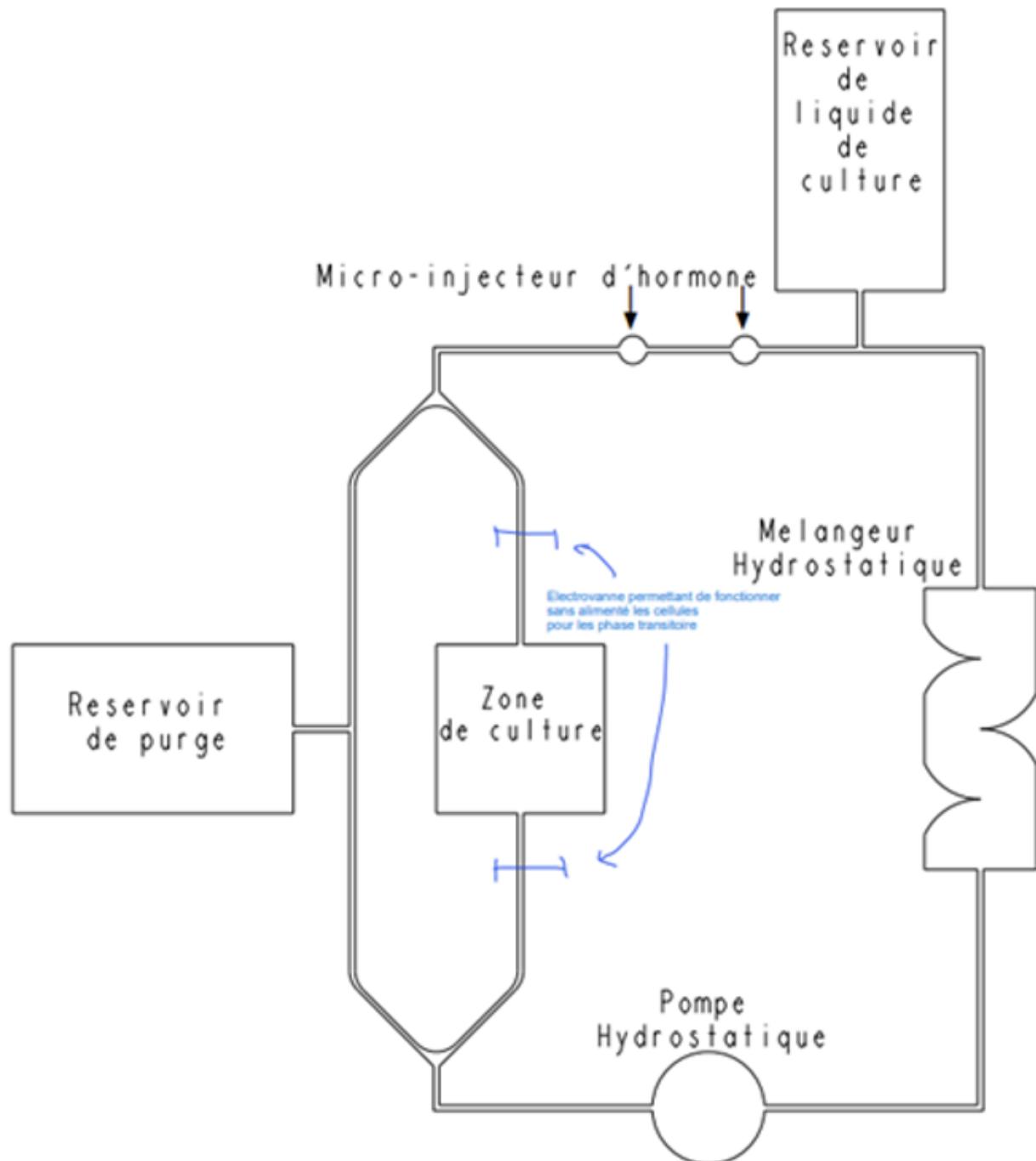


Figure 5: Schéma bloc du système

1.7 Déroulé du projet

insert diagramme de gant

1.8 Choix pour le projet

Afin de réaliser la culture de cellules de l'endomètre, tout en respectant le cahier des charges, la conception d'un bio-chip sur-mesure devient une . Pour ce faire on va utiliser différents outils disponibles dans le laboratoire afin de diminuer les coûts. Certaines pièces devront être fabriqués afin de répondre au besoin comme le boitier du bio-chip. Pour accueillir les cellules un boitier en PMMA sera conçu et usiner sur place grâce à la découpe laser qui se trouve dans le campus. Pour la régulation de l'environnement l'utilisation d'un incubateur présent dans le laboratoire sera utilisés pour accueillir les cellules afin de diminuer le cout de fabrication. Pour la partie commandée, l'utilisation d'un micro-ordinateur type Raspberry pie permettra de contrôler Les constantes du bio-chip. Pouvant contrôler celui-ci à distance et étant plus puissance, le raspberry a De multiples avantages face à l'ardu ino UNO. Pour un apport d'hormones et de nutriment précis les pousses seringues qui sont disponibles dans le laboratoire, vont être incorporer au système, toutefois l'éventualité d'utiliser des pompes à là place n'est pas écartée. Les pompes fournies par HEPIA, pour le projet, permettrons de créer un flux au sein du biochip. L'ensemble du bio-chip sera alimenté par le secteur afin de limiter les coûts de fabrication et éviter de devoir développer un système avec une batterie.

2 Conception mécanique

2.1 Mélangeur hydrostatique

2.1.1 Simulation fluidique

Dans cette partie porté sur la simulation et de la modélisation d'un mélangeur statique permettant de rendre le mélange homogène avant de l'envoyer sur les cellules. Afin de déterminer la forme du mélangeur une courte recherche a été faite sur la simulation fluide de créo. Dans l'industrie, les mélangeurs statiques sont des composants de fluidique en 3 dimensions conçue pour perturber l'écoulement et ainsi créer des turbulences. Cela a pour but de mélanger le fluide sans utiliser de composant actif tel qu'une pompe, un moteur; ou un mélangeur magnétique.

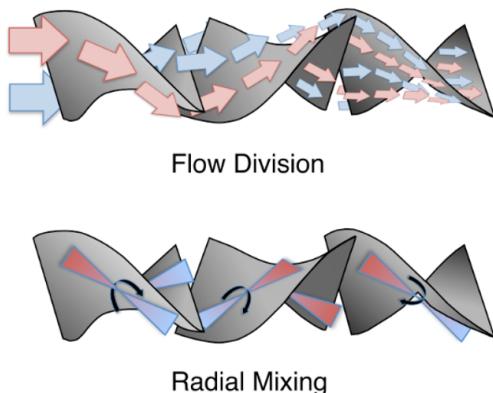


Figure 6: Schéma montrant comment ce mélange un fluide

Une première étape de conception fut donc d'essayer de comprendre à quoi pourrait bien ressembler ce type de mélangeur en 2D. On sait de par la mécanique des fluides que la pression et la vitesse d'écoulement sont liées à la géométrie du milieu d'écoulement. Ainsi pour mélanger les fluides il faut "perturber" le flux afin de faire varier la vitesse de manière hétérogène. Ainsi différents mélangeurs ont été modélisés afin d'observer le comportement du fluide alors d'une simulation. De plus le mode de fabrication le plus simple étant la découpe LASER il a fallu adapter la forme de ceux-ci afin qu'il soit réalisable en entier à la découpeuse LASER du campus.

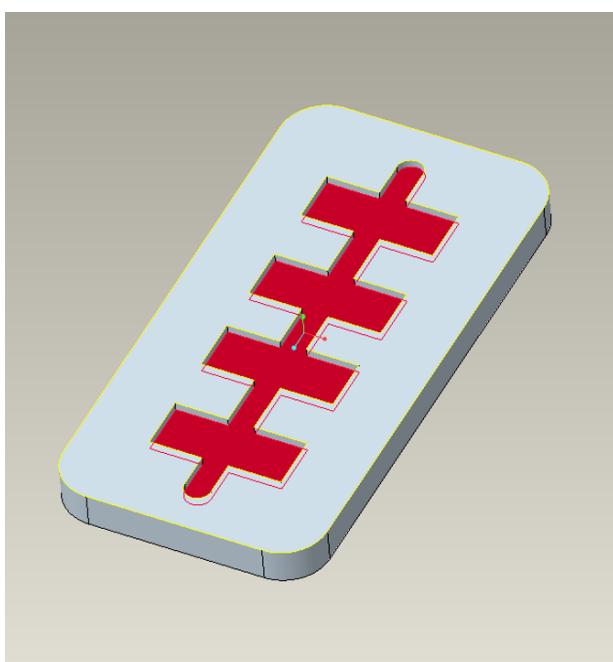


Figure 7: CAO du mélangeur avec chicanes

La figure 7 montre la première étape de recherche; le premier mélangeur était juste composé d'un chemin direct auquel ont été ajoutées des cavités latérales. Le flux de liquide assimilé à de l'eau dans la simulation entre par en dessous et sort par au-dessus; et les conditions de pression sont celles données dans la datasheet de la pompe, étant donné que le mélangeur sera placé juste derrière la pompe.

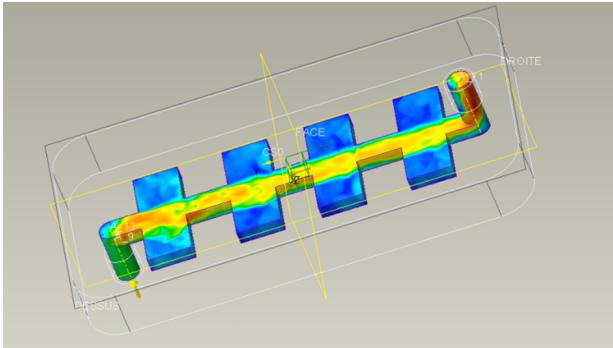


Figure 8: Première simulation fluidique

La figure 8 montre un résultat de simulation. Les couleurs représentent la vitesse du flux de liquide, ici la simulation avait juste pour but de tester les fonctionnalités de créo. Toutefois il y a des zones (en bleu) où le liquide est statique et des zones (Orange) où le liquide se déplace plus rapidement. L'idée a ensuite été de séparer le flux en deux et de les recombiner pour créer des turbulences. Une autre version avait pour idée de détendre et de comprimer le flux afin de créer des turbulences.

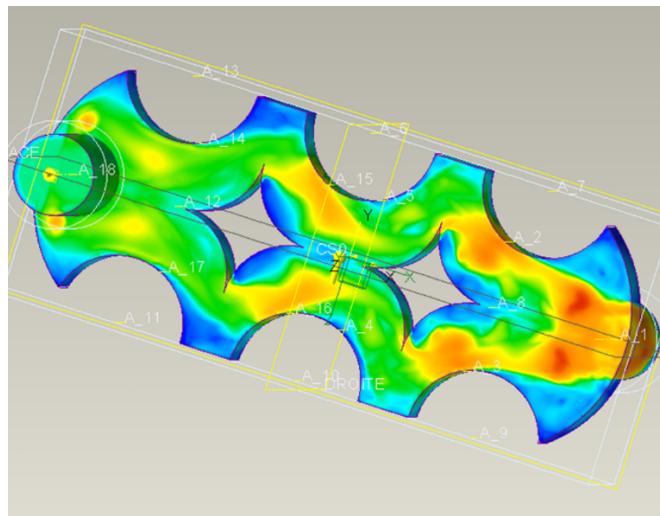


Figure 9: Simulation fluidique avec chicanes et obstacles

La figure 9 montre l'importance de placer un obstacle au centre du flux, de plus la variation de section vient ajouter des perturbations. C'est ce schéma qui est retenu pour la forme du mélangeur. Les variations de section vont être accentuées et le bloc central sera en un seul morceau afin de faciliter les découpages. Le principe de montage repose sur celui déjà utilisé dans les laboratoires de HEPIA. Le mélangeur sera composé de 3 couches;

- Une première couche servant de socle, dotée de trous dans lesquels des goupilles pourront être insérées.
- Une couche centrale contenant la forme du mélangeur, c'est-à-dire les bords et le centre.
- Une dernière couche permettant de refermer le mélangeur et de fixer les raccords de fluidique.

2.1.2 CAO du mélangeur

Après plusieurs simulations, les choix se sont tournés vers un mélangeur comportant l'entrée et la sortie de chaque côté du mélangeur. Le flux est séparé en deux par la partie centrale, puis les flux sont accélérés séparément pour réduction de la section découlement. Des zones plus vastes, (contenant plus de liquide) sont laissées volontairement afin de prévenir une différence de vitesse entre le liquide présent dans ces zones et celui qui arrive. Enfin le chemin fluide n'est composé que de parties de courbe, cela permet de limiter l'apparition de bulles.

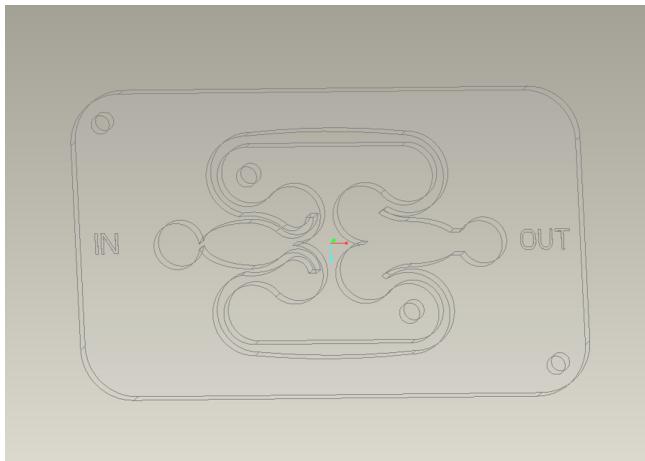


Figure 10: Couche central du mélangeur

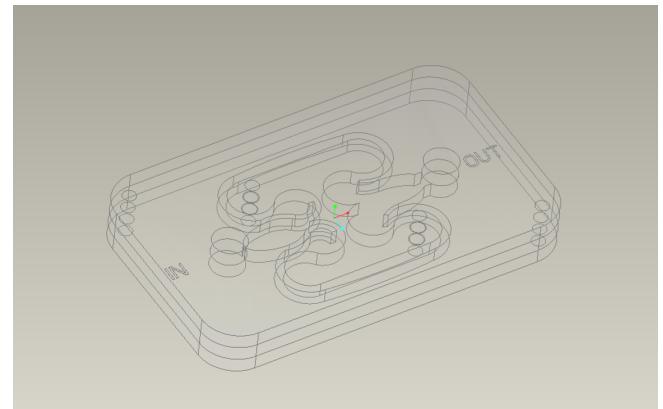


Figure 11: Mélangeur hydrostatique

Notre conception est basée sur un principe de sandwich, une première épaisseur permettant l'étanchéité, le support et le guidage des autres couches. Une couche centrale munit d'un détrompeur composé d'un élément externe guidé par deux goupilles extérieures, et un élément interne guidé par les goupilles intérieures. Et enfin une dernière couche permettant de fermer le tout, toujours guidé par les deux goupilles externes. L'adhésion et l'étanchéité sera assurée par une couche adhésive déposée sur les plaques.

2.2 Zone de culture

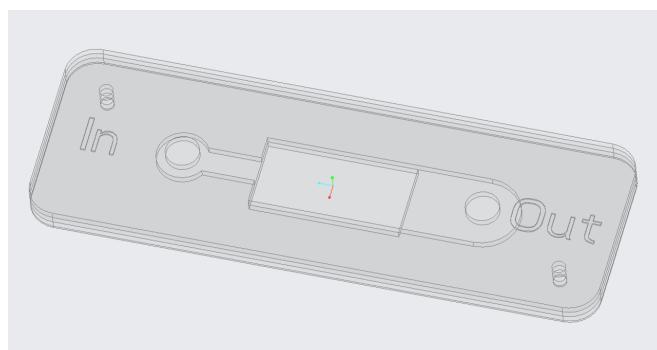


Figure 12: bio-chip pour les cellules

Pour le biochip contenant les cellules visibles sur la figure 12, nous avons choisi d'utiliser l'assemblage en plusieurs couches de PMMA. Celui-ci contient 4 couches d'épaisseur différentes pour répondre à certaines contraintes. Nous utiliserons des goupilles, pour être sûr que les différents éléments soient bien alignés.

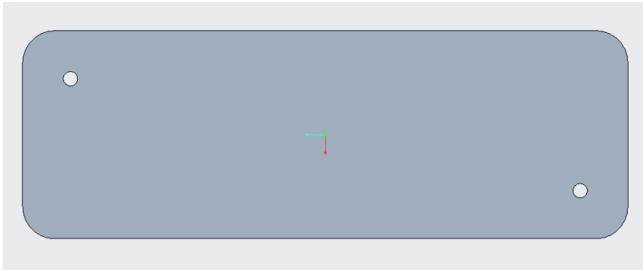


Figure 13: CAO de la première couche

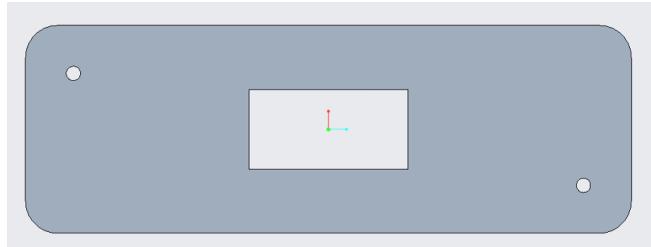


Figure 14: CAO de la seconde couche

La couche du dessous fait 0.3 mm d'épaisseur pour faciliter l'observation des cellules au microscope. La 2e couche est prévu pour contenir les cellules mais sera supprimer car elle crée des angles droits qui risque d'endommager les cellules.

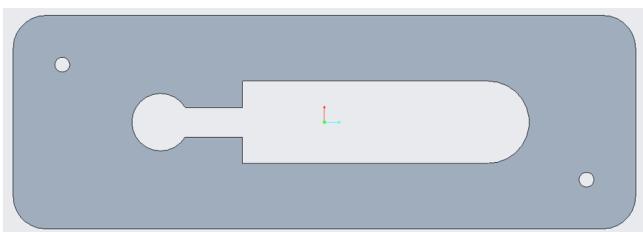


Figure 15: CAO de la troisième couche



Figure 16: CAO de la quatrième couche

La 3e couche permet au fluide contenant les hormones et nutriment de circuler la où seront accroché les cellules. L'entrée du fluide est plus étroite que la sortie pour éviter des problèmes de surpression. Et enfin la dernière couche contient les trous pour chasser les connecteur Luer lock, permettant de relier le bio chip contenant les cellules au reste du système par l'intermédiaire de tuyaux. Les angles devront être arrondit pour éviter d'endommager les cellules.

2.3 Support des réservoirs

Désormais le rendu physique projet devient très claire, celui-ci sera composer d'un boîtier auxquelles sera fixé les trois pompe, les quatre tube comprenant les hormones, le liquide de culture neuf, et usagé. Ce boîtier sera lui aussi découpé au LASER et au besoin renforcé par des pièces imprimé en 3D. Il ne contiendra pas l'électronique, celui-ci sera placer en dehors de l'incubateur et relier au système via un câble. Il est à noter qu'il manque les électrovannes, qui ont été modéliser et qui seront placer de l'autre côté des pompes.

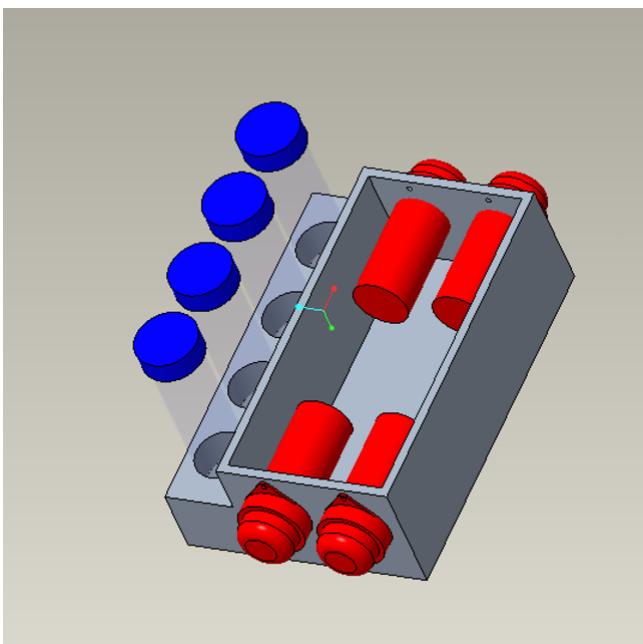


Figure 17: CAO du porte réservoir version 1
Projet thématique MOON AYRINHAC Elisa, DROUIN Clément, JOUCLARD Charly

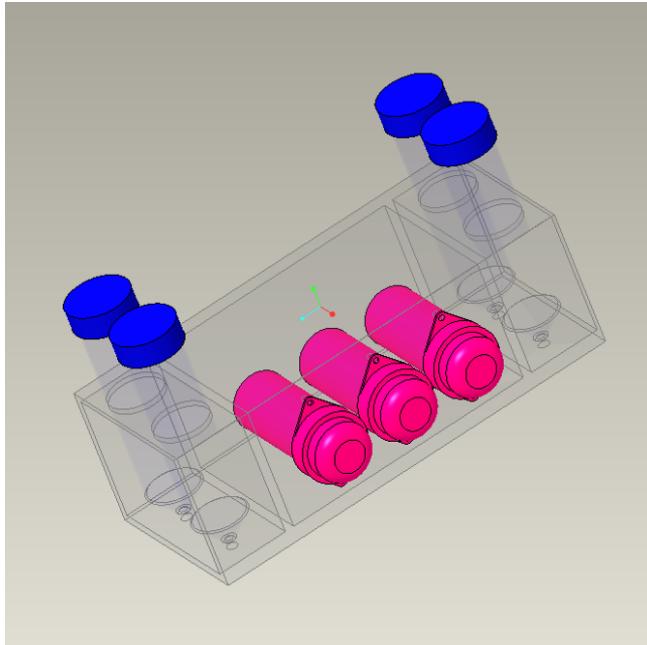


Figure 18: CAO du porte réservoir version 2

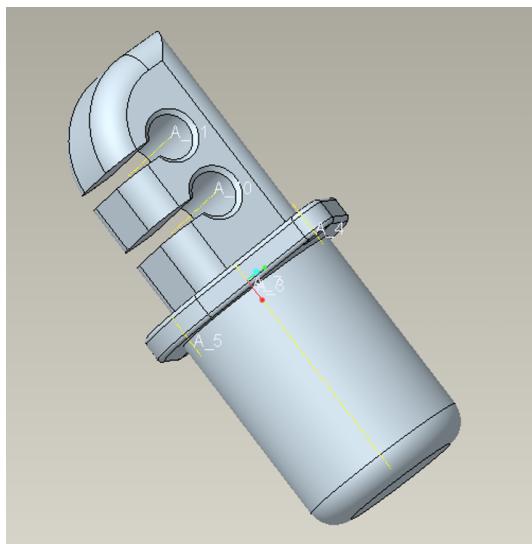


Figure 19: CAO des électrovannes

2.3.1 Le boitier découpable au LASER

Le boitier a été conçu pour être entièrement découpé au LASER. Pour cela chaque face du boitier a été modélisé de façon à se qu'elle s'emboite entre elles une fois assemblé. Pour des questions de maintien, 8 petites équerres de maintien à visser ont été conçus et les plaques seront collées entre elles par de la colle à plexiglass. On peut aussi imaginer ne pas fixer une des plaque mais la vissée et placer un joint papier. Cela permettrait d'avoir la possibilité d'ouvrir le boitier sans le casser.

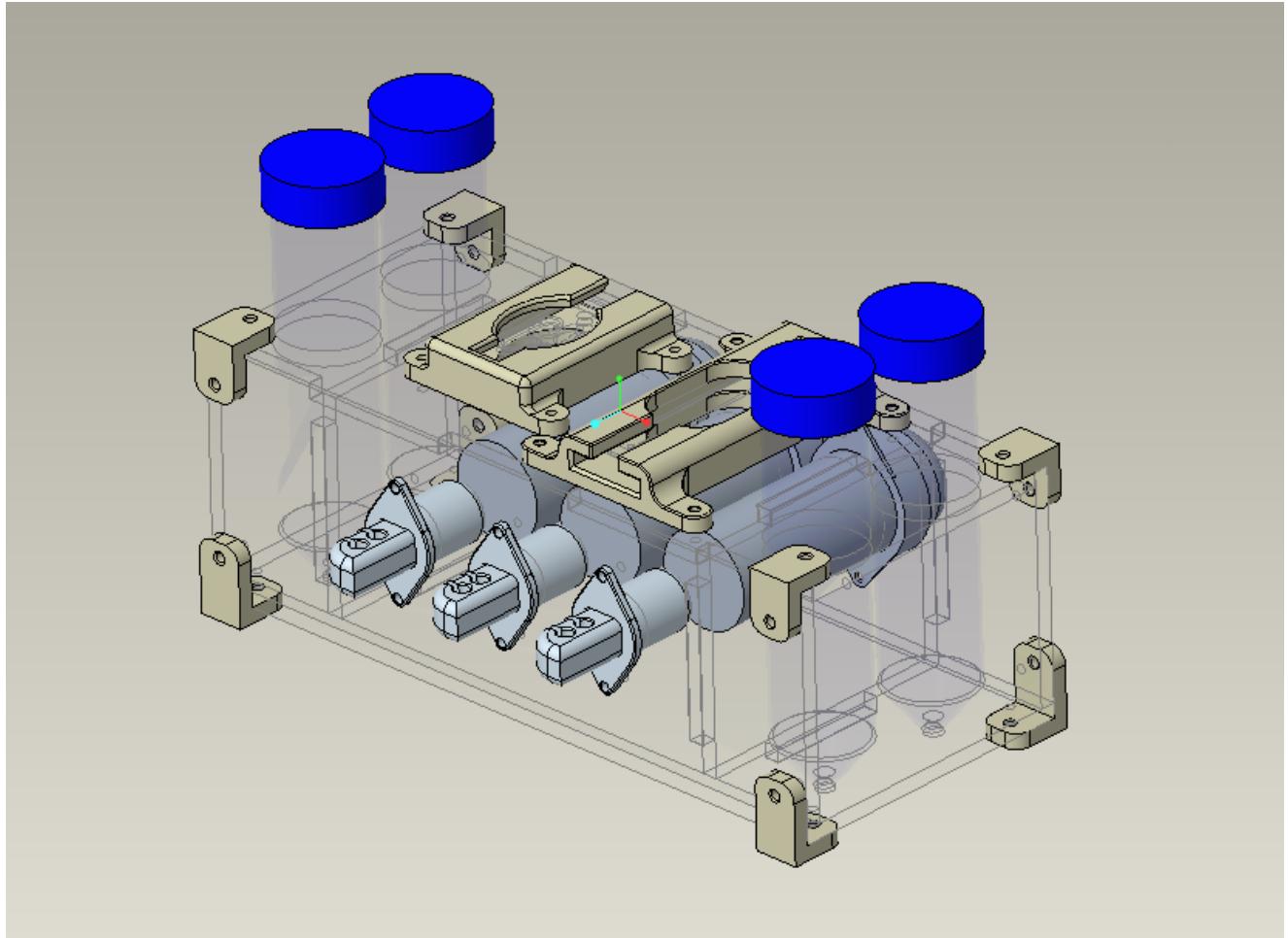


Figure 20: CAO du boitier à découper au LASER

De plus, deux support à imprimer en 3D, ont été ajoutées pour fixer le mélangeur et la zone de culture. Ces supports permettront de fixer la zone de culture et de pouvoir la retirer pour faire des observations.

2.4 Assemblage des biochips

Pour réaliser l'assemblage du mélangeur et du biochip qui contiendra les cellules, la première étapes a été de découper chaque éléments dans des plaques de PMMA. Afin de faciliter l'assemblage, seul la couche du milieu est recouverte de colle sur ces deux faces. La deuxième étape consiste à assembler le tout. Les goupilles du gabarit (voir figure 21) permettent l'alignement des 3 différentes couches. Une fois les 3 couches superposer, il faut s'assurer que celle-ci sont correctement collé entre elles. Pour cela, les trois couches sont pressé entre elles à l'aide d'un rouleau. Enfin, les luer-lock sont emboîter dans le boichip avec de la colle époxy.

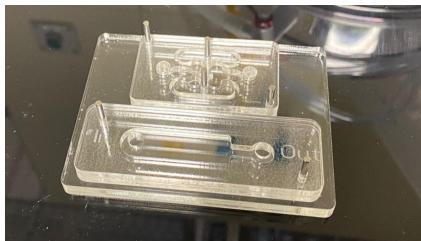


Figure 21: Photo du gabarit et des biochips



Figure 22: Photo de l'assemblage du mélangeur

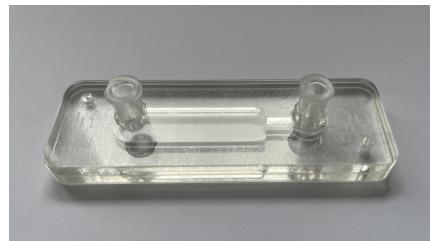


Figure 23: Photo de l'assemblage du biochip cellules

2.4.1 Le biochip cellules



Figure 24: Photo du test fluidique



Figure 25: Photo des restes de liquide

Après avoir injecté du fluide dans le biochip, celui-ci ne fuit pas. Cependant, le test a montré une mauvaise optimisation de l'espace. En effet, comme le montre la photo de la figure 4, le liquide reste bloqué à certains endroits. Pour optimiser la circulation du fluide, une nouvelle version de ce biochip a été modélisée.

2.4.2 Modelisation biochip cellules version 2

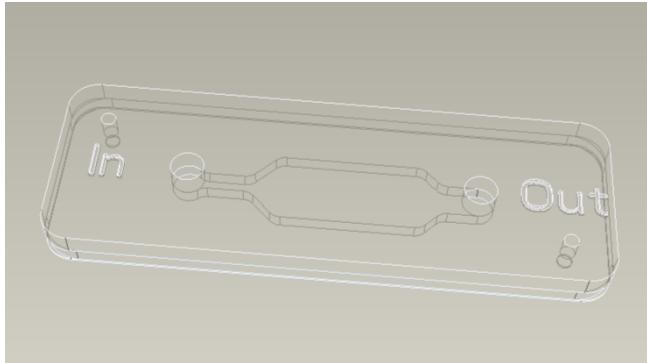


Figure 26: CAO assemblage biochip cellules V2

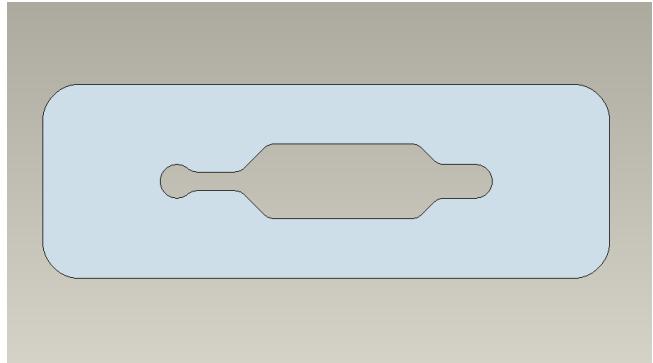


Figure 27: CAO milieu du biochip cellules V2

Les entrées et sorties du fluide ont le même diamètre que les trous pour insérer les embouts luer-lock, afin d'éviter d'avoir une zone inutile autour de ces embouts. De plus, pour la zone plus large qui accueillera les cellules, les angles à 90° ont été remplacés par des angles à 45°. Cela devrait éviter la formation de bulles d'air.

2.4.3 Le mélangeur

Les premiers tests du mélangeur ont été effectués en faisant circuler du liquide à l'intérieur, à l'aide de seringues.

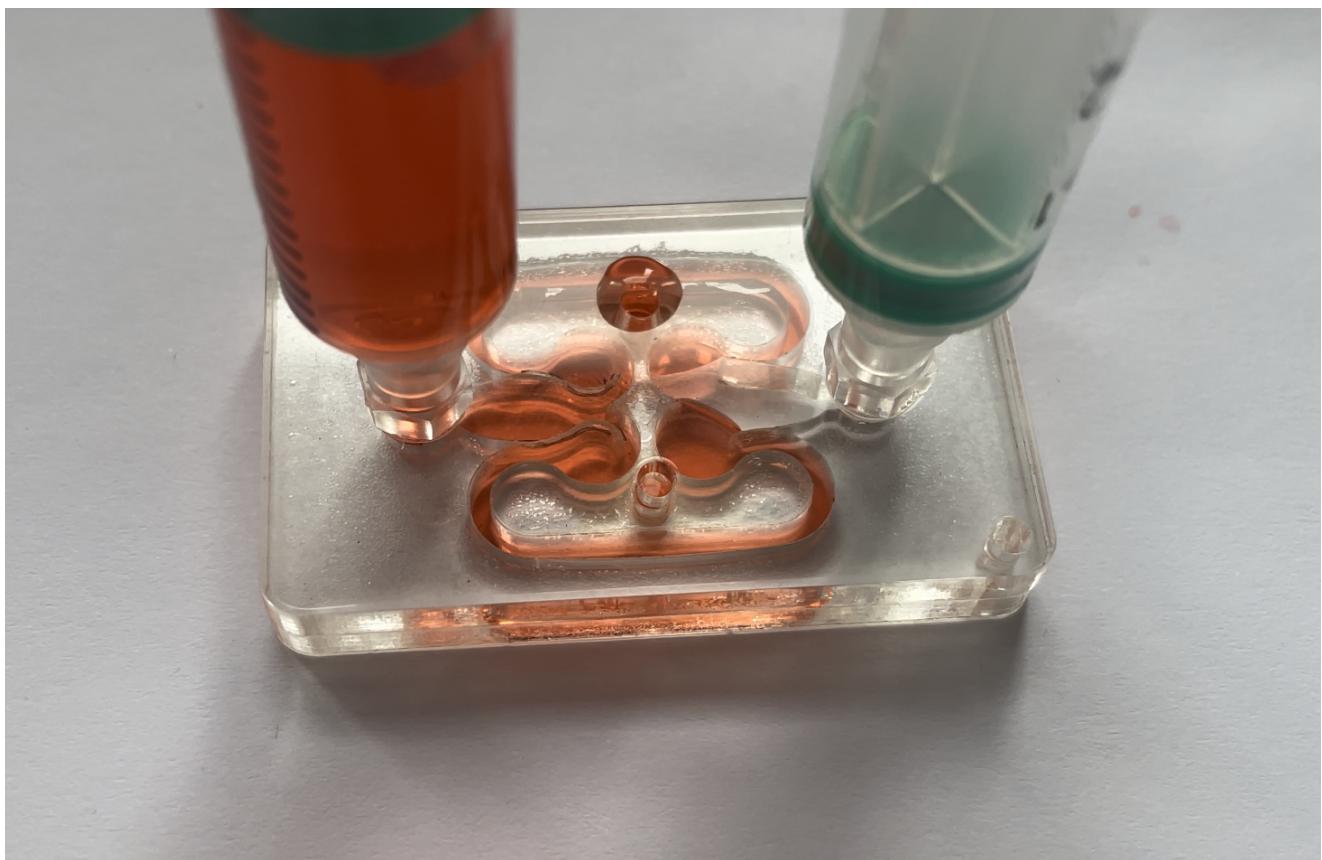


Figure 28: Photo test fluidique mélangeur

Comme on peut observer sur la photo, le liquide s'infiltra dans l'intercouche ce qui cause une fuite par un trou de fabrication.

2.4.4 CAO mélangeur version 2

Le premier mélangeur fuyait, cela était probablement dû à une surpression qui causait l'infiltration du liquide dans l'intercouche. Ainsi dans l'optique de pouvoir commencer le test le plus rapidement possible, un nouveau mélangeur, plus simple, a été modéliser. Celui-ci a pour but d'être plus solide, d'être encore usinable au LASER, et d'utiliser un volume moindre.

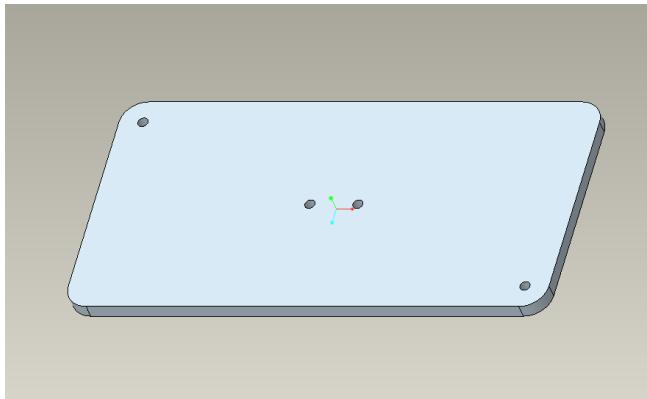


Figure 29: Première couche du mélangeur V2

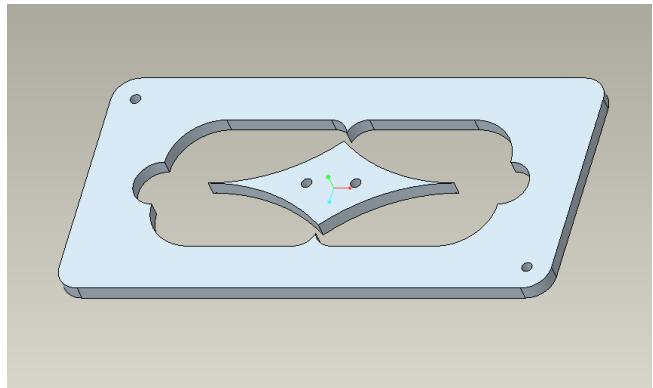


Figure 30: Deuxième couche du mélangeur V2

L'idée de séparer puis de refusionner le flux est rester sauf que le chemin est bien plus simple et les bords sont toujours arrondis. Une section reduite permet une accélération du flux. Les dimensions on été agrandi afin d'avoir 1cm de chaque coté ce qui est deux fois plus que l'ancien.

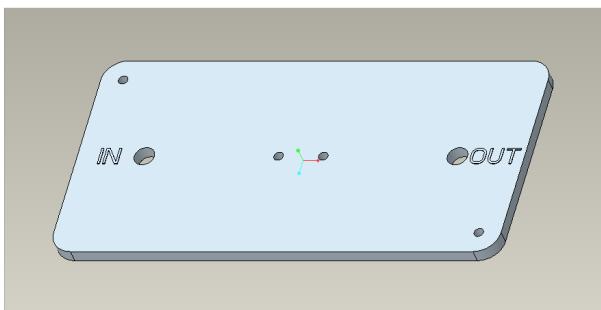


Figure 31: Dernière couche du mélangeur V2

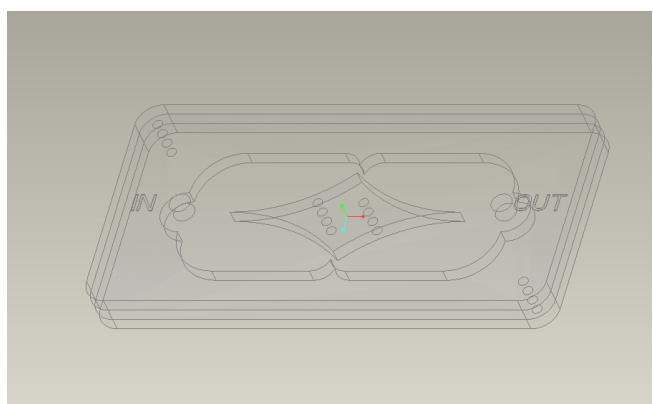


Figure 32: L'assemblage du mélangeur V2

Le nouveau mélangeur remplace l'ancien ainsi la pièce permettant la fixation du mélangeur au boitier a donc été ajusté.

2.4.5 CAO boitier version 2

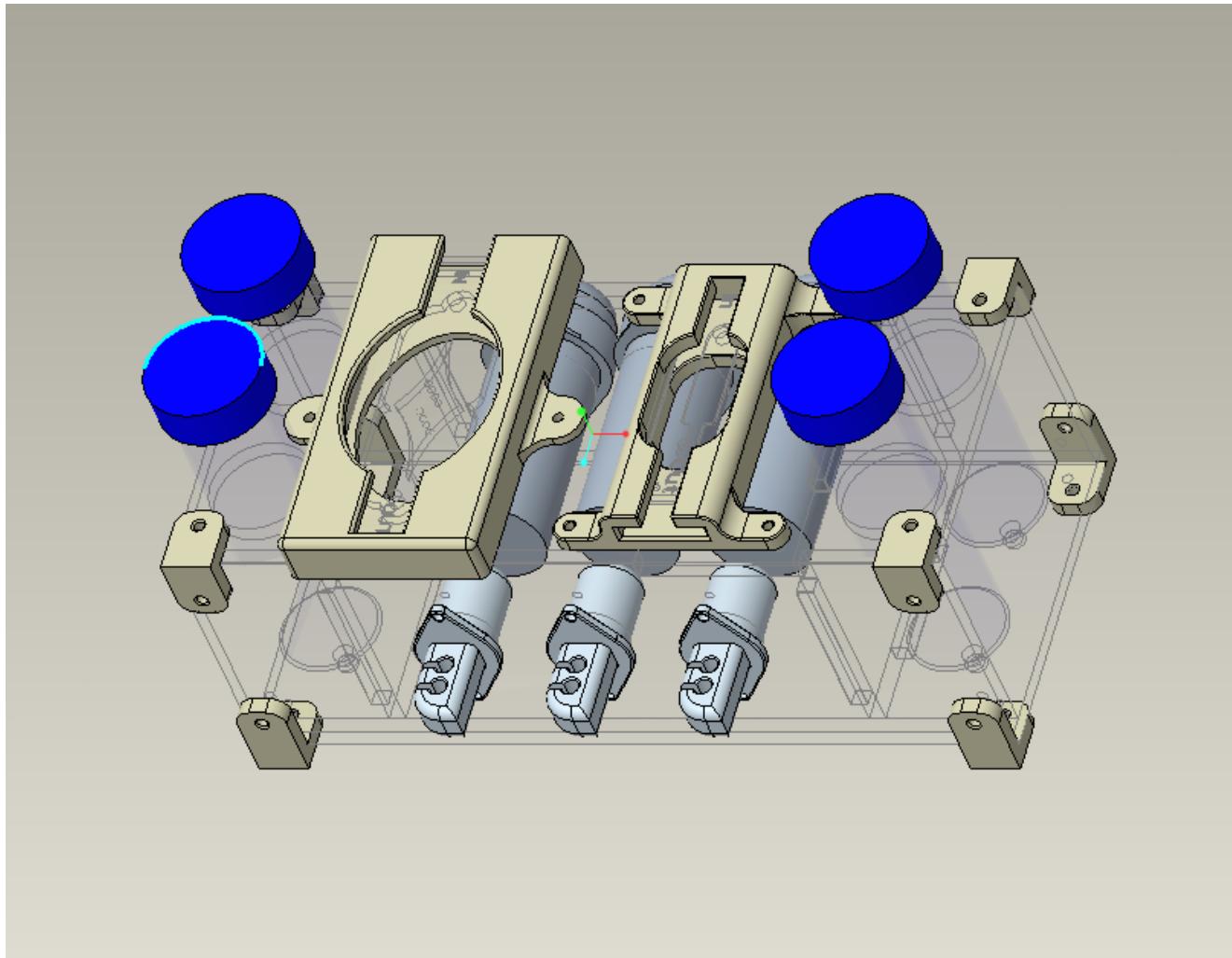


Figure 33: Boitier modifier pour accueillir le melangeur V2

La figure 33 montre le rendu final du prototype, il reste alors à le découper et à l'assembler.

3 Conception électronique et programmation

3.1 Carte d'alimentation version 1

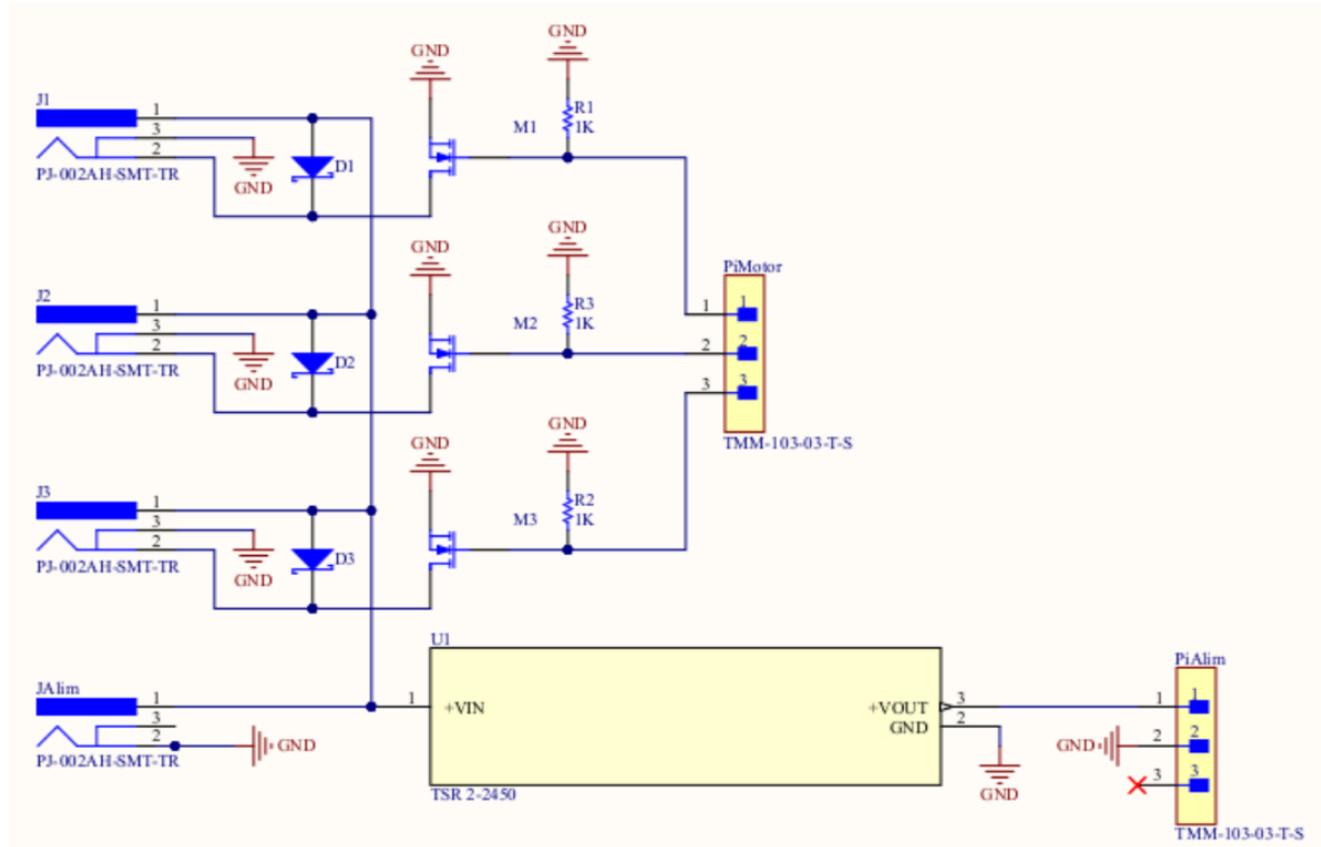


Figure 34: Montage électronique pour l'alimentation du Raspberry Pi et des pompes version 1

L'alimentation de tous le biochip se fera via l'alimentation d'un Arduino de 60 W. Il arrive sur la carte d'alimentation via la connectique circulaire JAlim. U1 est un régulateur de tension à découpage de la marque TRACO, il permet de descendre la tension de 12V à 5V il sert à alimenter le Raspberry pi qui sera alimenté par ses pins GPIO. Les moteurs seront contrôlés par les mosfet M1, M2 et M3. Les moteurs seront branchés à la carte via des connecteurs circulaire afin que le système soit le plus flexible possible. Les diodes D1, D2 et D3 sont des diodes de roues libres.

3.1.1 Carte d'alimentation version 2 et 3

Lorsque nous avons testé la première version du circuit électronique nous avons remarqué que le montage ne fonctionnait pas. En effet nous avons remarqué que le raspberry pi ne fournit pas assez de tension aux mosfets pour alimenter les pompes. Pour pouvoir alimenter correctement les pompes une tension de 3,5 V est nécessaire à la "gate" des mosfets. Cependant le raspberry pi ne peut fournir qu'une tension de 3,3 V via les pins qui sont contrôlables.

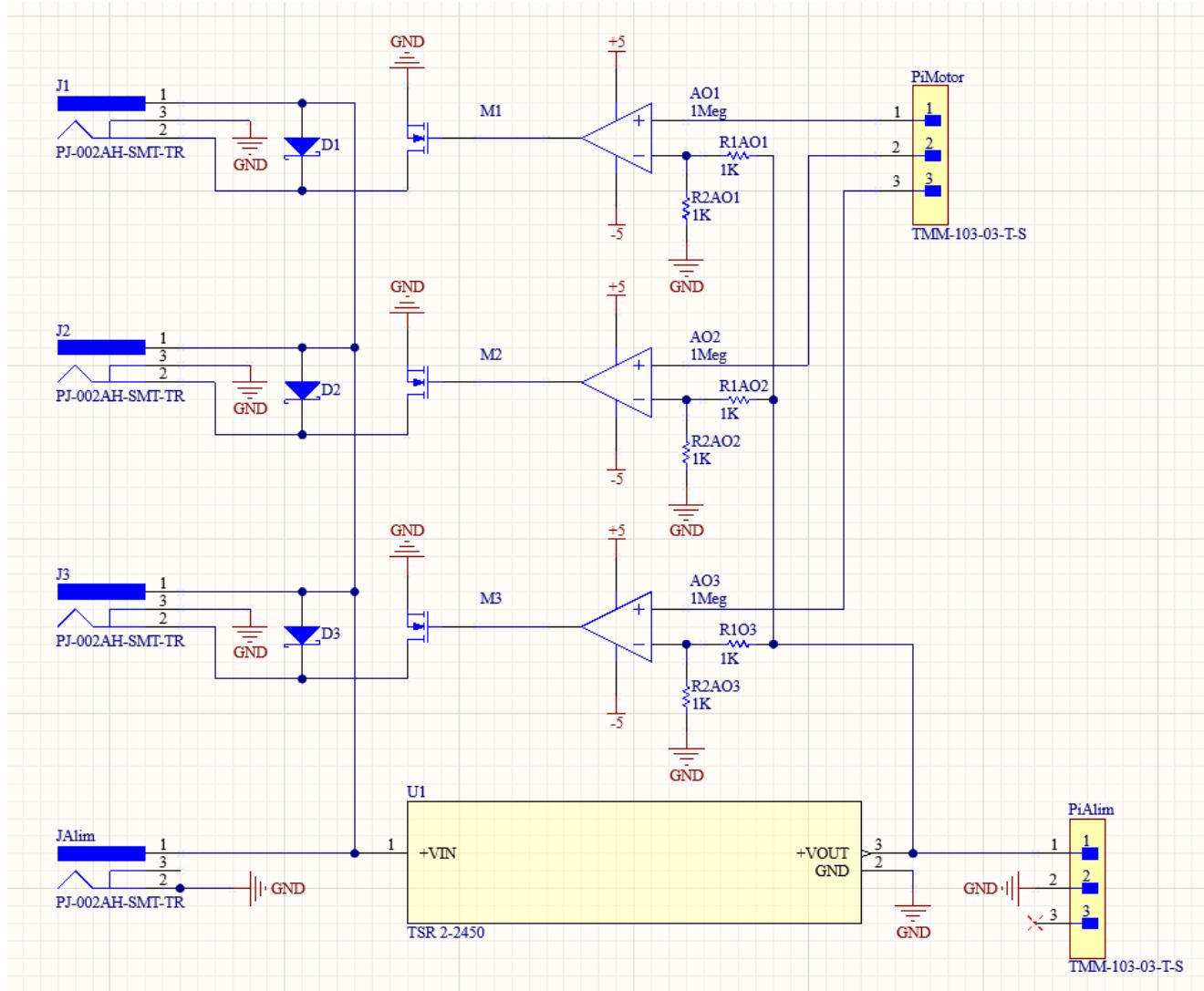


Figure 35: Montage électronique pour l'alimentation du Raspberry Pi et des pompes version 2

Pour obtenir la tension adéquate nous avons amplifié le signal grâce à un AOP pour pouvoir piloter les pompes. Les AOP devaient être alimentés via le 12 V du transformateur. Après plusieurs essais infructueux nous avons remarqué que les AOP que nous avons choisies ne peuvent être alimentées par une alimentation non-symétrique. En alimentant les amplificateurs via une alimentation de laboratoire stabilisé avec une tension symétrique +5/-5 V le montage fonctionnait correctement.

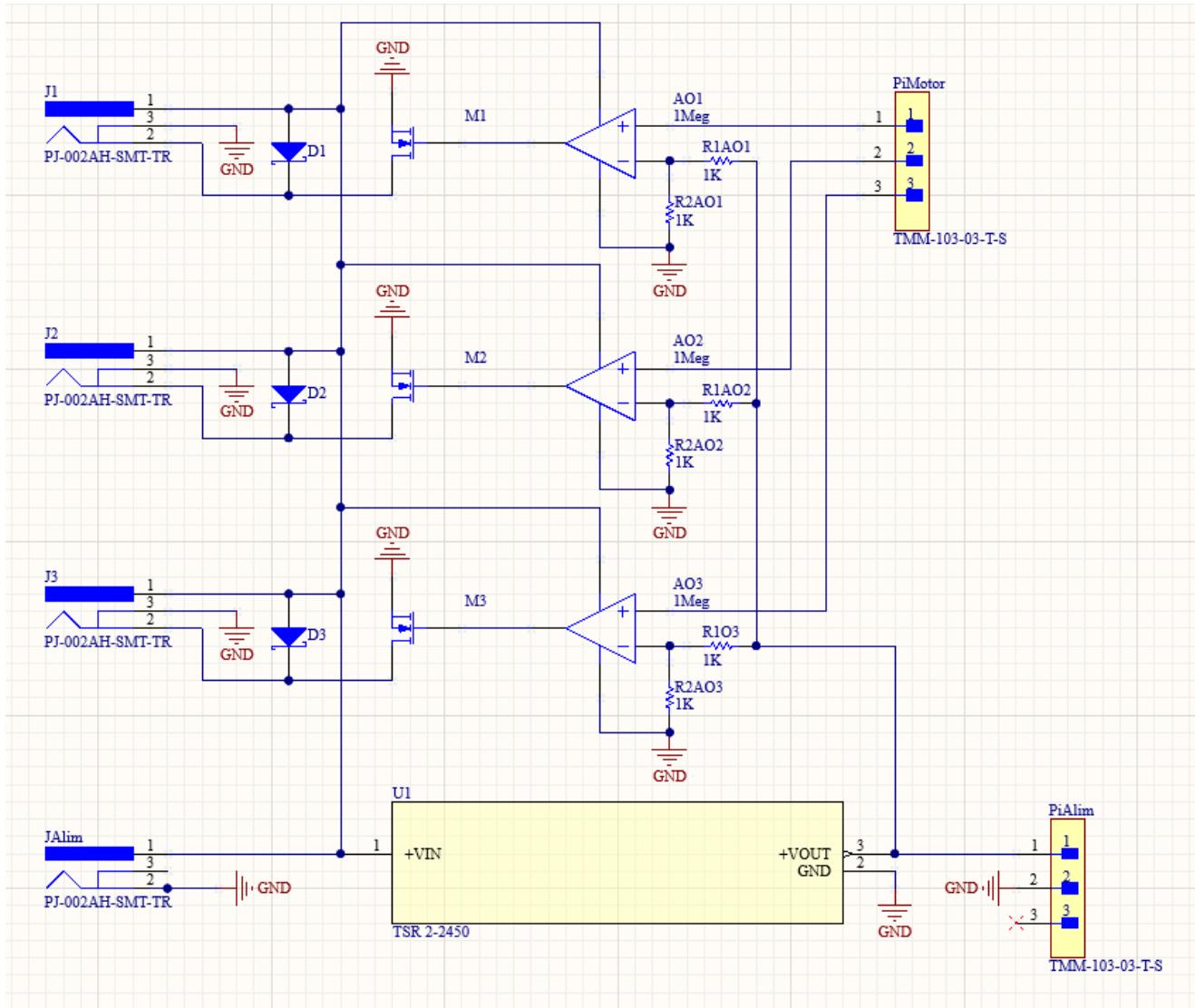


Figure 36: Montage électronique pour l'alimentation du Raspberry Pi et des pompes version 3

Nous avons récupéré de nouveau amplificateurs qui sont compatibles en alimentation non-symétrique, pour éviter de devoir alimenter une partie du montage via une alimentation de laboratoire.

3.1.2 Carte d'alimentation version 4

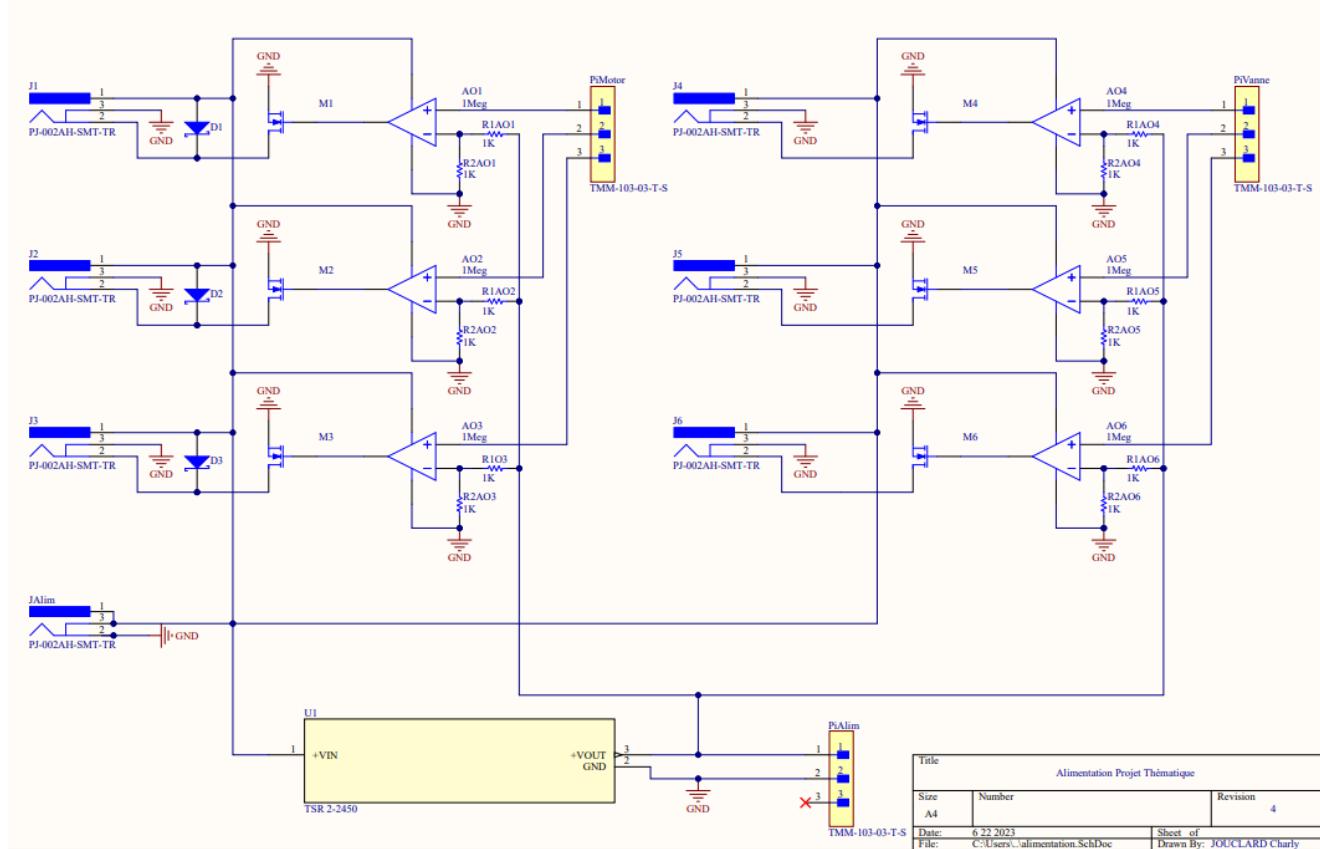


Figure 37: Montage électronique pour l'alimentation du Raspberry Pi, des pompes et des électrovannes version 4

Lors des essais, l'électronique ce comportait comme attendu. Voici donc la version final de l'électronique qui comprend le contrôle des électrovannes. Le contrôle des électrovannes se fait de la même manière que les pompes.

3.2 Programmation

3.2.1 GitHub

On a mis en place un GitHub pour se partager les codes de programmation, le "repo" contient aussi le guide d'utilisateur. Il est disponibles ici : https://github.com/Kgravn/projet_thematique

3.2.2 Raspberry Pi

Le Raspberry pi 4 est paramétré pour qu'on puisse se connecter dessus à distance à l'aide du protocole SSH. L'utilisateur peut s'y connecter facilement dessus à partir du moment que l'on se trouve sur le même réseau wifi. Il peut lui transmettre des fichiers ainsi que récupérer des fichiers qui sont stockées dessus.

3.2.3 Préparation des données

Ce code permet de préparer les datas afin de pouvoir être utilisé par le logiciel qui contrôle le biochip. Il a été conçu pour que l'utilisateur rentre un minimum de donnée afin de gagner du temps. Il permet de convertir un fichier csv que l'utilisateur aura créée au préalable avec les différents jalons de concentration en un fichier qui contient toutes les concentrations de l'expérience sur 28 jours. Sur la figure 38 on peut voir une représentation des données rentrées par l'utilisateur et les données produites par le programme.

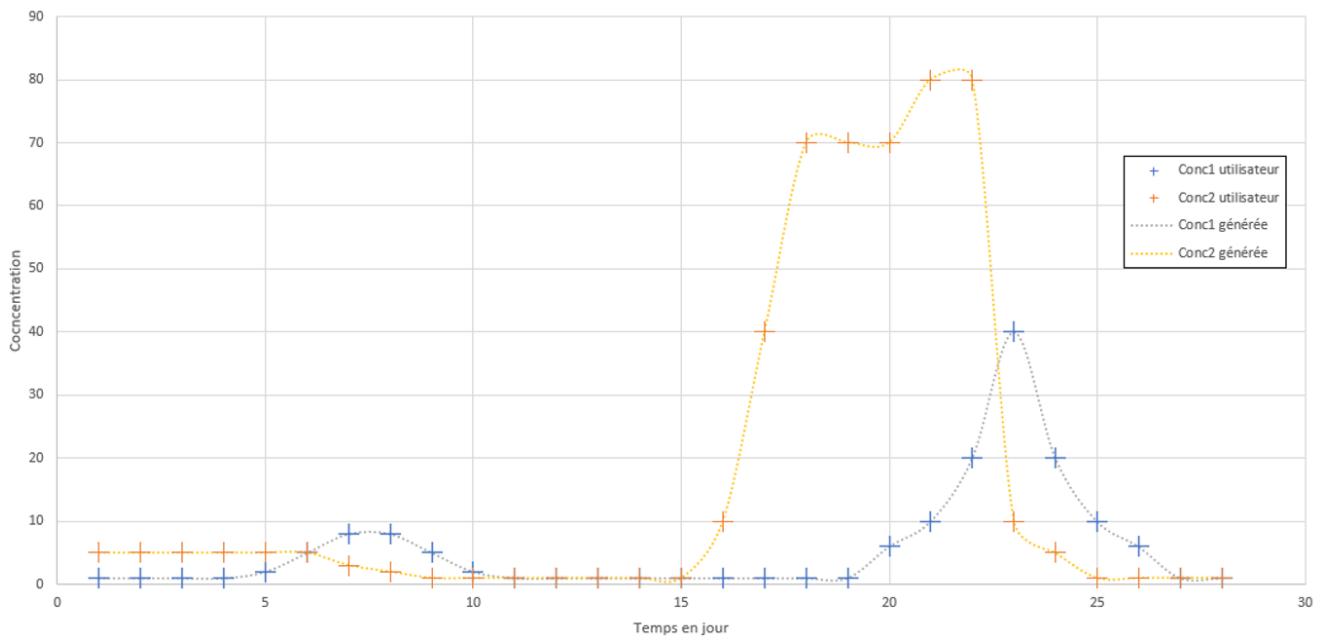


Figure 38: Données générées par le programme avec les données rentrées par l'utilisateur

L'utilisateur peut l'utiliser directement sur un ordinateur puis envoyer le fichier généré sur le Raspberry pi ou bien on peut envoyer le fichier csv sur le Raspberry pi puis le générer directement sur le Raspberry pi. Le fichier généré est un fichier de type ftr il n'est donc pas lisible directement ceci est fait afin de gagner en rapidité d'exécution et gagner du stockage. Si on utilisait un fichier csv équivalent il contiendrait tellement de données qu'il faudrait plusieurs secondes pour le générer et il prendrait 10 fois plus de stockage. Le fichier à préparer doit être présenté sous la forme :

Time	Conc1	Conc2
0	1	1
2	6	8
10	2	1
15	4	2

3.2.4 Programme pour vérifier les fichiers ftr

Ce programme permet d'avoir une prévisualisation des fichiers convertis pour vérifier si cela correspond à ce que l'utilisateur veut. Ce programme est fait pour fonctionner sur l'ordinateur de l'utilisateur.

3.2.5 Programme de test des moteurs

Un code python permet de vérifier si le contrôle des moteurs fonctionne bien. En plus de ça il permet d'effectuer les tests de débits des pompes. Normalement il faudrait environ 30 minutes pour pouvoir tester les débits de toutes les pompes sur une plage de tension d'alimentation des pompes de 6 V à 12 V. Le code qui permet de contrôler les pompes sera le même que celui dans le programme principal.

3.2.6 Programme pour armer les pompes

Ce programme permet d'armer les pompes afin de vider le circuit de toute bulles d'air.

3.2.7 Programme de l'expérience

Comme le programme devra tourner pendant 28 jours, il a fallut penser le programme pour qu'il puisse tourner en arrière plan. En effet si on coupe la connection SSH avec le Raspberry Pi cela coupe les programmes qui sont liés au terminal. L'une des problématiques est que si on lance un programme en arrière

plan on ne peut plus lui passer d'input et on ne peux plus voir les outputs du programmes. Pour passer outre ce problème le programme vas lire un fichier CSV afin de recevoir les inputs : controle.csv. Ses outputs sont redirigé vers 2 fichiers nohup.out et output.log le premier reçoit tous les outputs du programmes qui peuvent servir lors dévantuelle déboggage tandis que le deuxième uniquement celles liés à l'expérience. Le fichier de contrôle doit être modifier par le programme de contrôle afin d'éviter les bugs. Dans son fonctionnement le programme va effectuer plusieurs tâche. Sa tâche principale est de lire le fichier de concentration et réguler les pompes afin d'atteindre les concentrations désirés. Il va lire le fichier de contrôle en parallèle pour voir si l'utilisateur ne souhaite pas intéragir avec le système. Si il reçoit une interuption via le fichier de contrôle il va effectuer en priorité les actions de l'utilisateur comme par exemple couper les pompes et isoler les cellules pour une observation.

3.2.8 Programme de contrôle

Le programme de contrôle permet de contrôler le programme de l'expérience. Il est fait pour fonctionner sur le Raspberry Pi. Comme il n'as pas besoin d'être en arrière plan on peut intéragir avec via le terminal. Il a pour but de transmettre les ordres de l'utilisateur en écrivant sur le fichier de contrôle : controle.csv. Une fois que l'utilisateur à finit de transmettre ses ordres il peut juste fermer la connection SSH avec le Raspberry Pi. L'utilisateur peut transmettre un ordre pour stoper imédiatement l'expérience si il y a un problème.

3.2.9 Programme pour reset les GPIO

Ce programme permet de reset les pins GPIO si elles ont été utilisés par un autre programmes afin d'avoir la bonne configuration.

4 Maquette final

Cette dernière partie est une présentation du prototype final.

4.1 Conception du chassis

Le châssis utilisés ne sera pas celui présenté précédemment car ce projet n'a besoins d'une maquette fonctionnelle, il s'agit un projet visant à démontrer que le système fonctionne. La maquette n'ira pas dans l'incubateur, elle n'a pas besoin d'être étanche. Ainsi une CAO d'une maquette plus simple a été réalisée puis usinée.

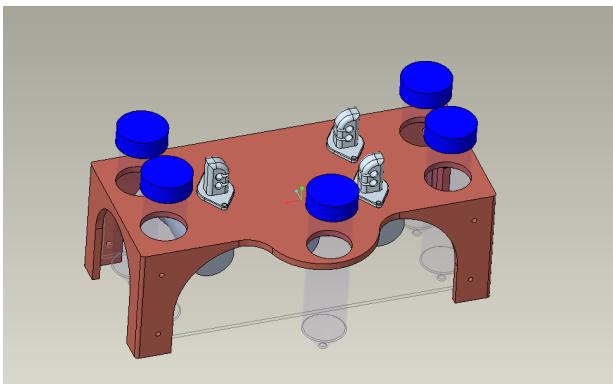


Figure 39: CAO final

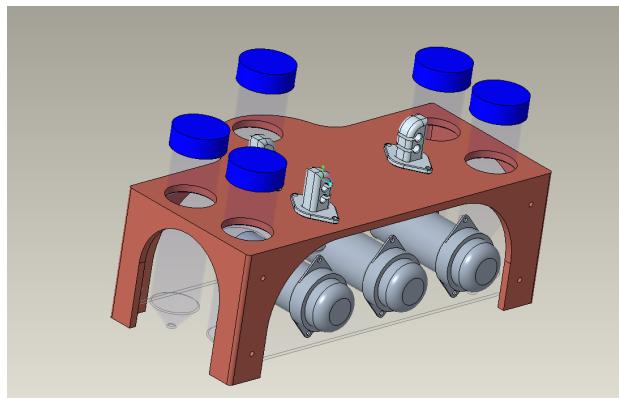


Figure 40: CAO final vue des moteurs

Le châssis a été pensé pour être imprimable en 3D, la structure est renforcée avec deux plaques de PMMA découpé au LASER de 3 mm d'épaisseur. La structure est montée grâce à des vis M3 et des écrous. Une des Pâques latérales sera usinée afin d'accueillir les pompes. Les électrovannes seront fixées sur la partie imprimée en 3D et fixées avec des vis M2. Le plus grand changement réside dans l'abandon du mélangeur découpé au LASER, en effet un 5ème réservoir a été ajouté pour servir de mélangeur. Celui-ci sera muni d'une entrée "compte-gouttes" qui Consistera en un bout monté sur le bouchon sans tube venant tomber dans le réservoir. Pour la sortie il s'agira d'un tube allant au fond du mélangeur. Le mélangeur fonctionnera comme une perfusion médicale, ce genre de dispositif est très efficace mais possède une constante de temps de mélange relativement grande, celle-ci dépendant en grande partie du volume engagé dans le système.



Figure 41: Maquette final

La maquette finale représentée dans la figure 41 est celle qui sera présentée à la fin de notre projet. On y retrouve les réservoirs, les électrovannes et toute la fluidique. Le biochip est juste posé sur le système il aurait pu être fixer au châssis avec des goupilles. Cependant dû aux nombreuses manipulations le choix fut de le laisser comme cela.

Une vue du dessus permet de bien comprendre le fonctionnement du prototype.

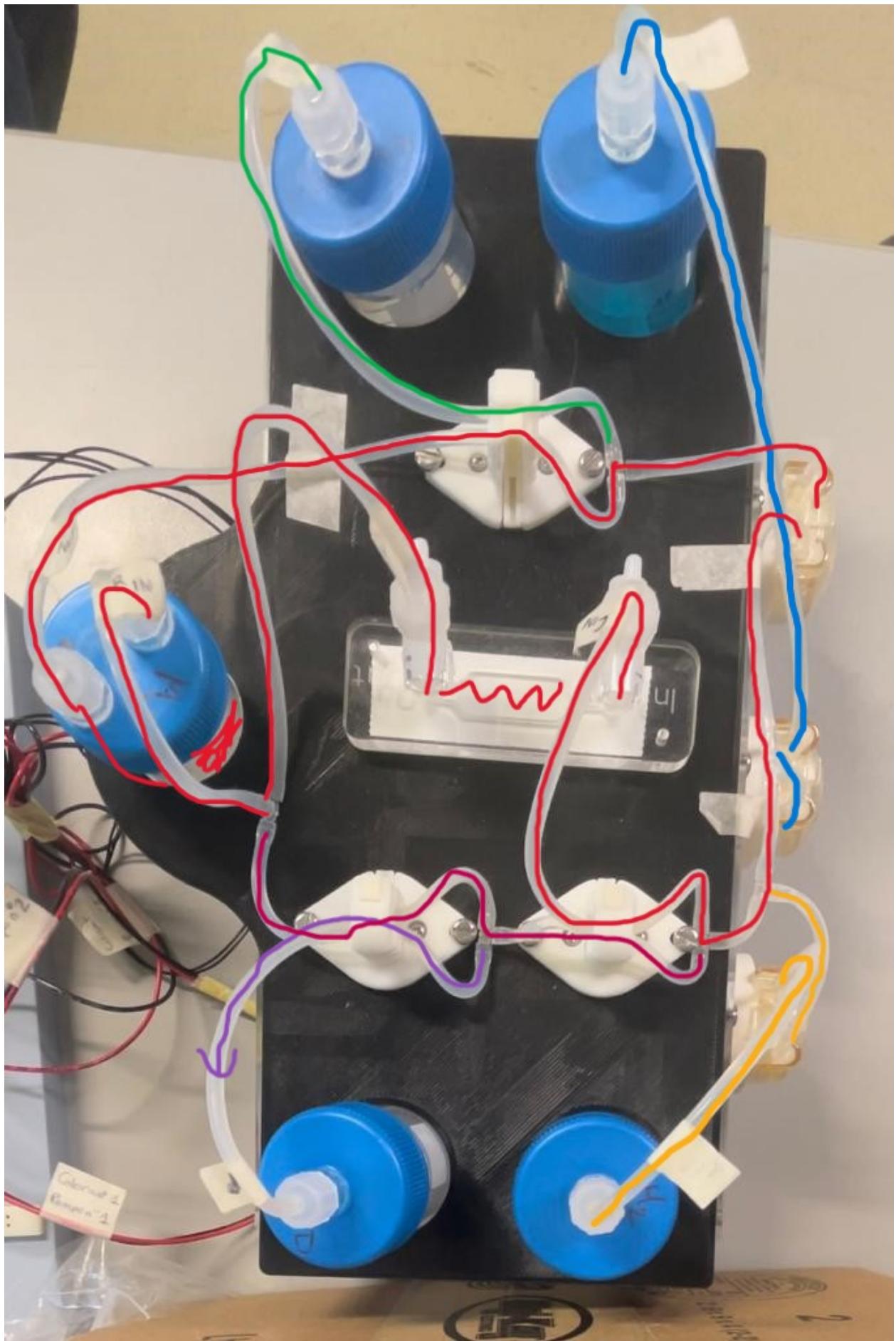


Figure 42: Explication de la fluidique.

- En rouge, le circuit principal, toujours en mouvement grâce à la pompe c'est lui qui maintient l'apport en nutriments.
- En jaune et en bleu, les injecteurs d'hormones, conçues avec des pompes peristatiques.
- À Magenta, le bipass de la zone de culture, permettant d'éviter un choc de concentration en attendant que le mélange ce fasse.
- En violet, le réservoir de purge.

5 Conclusion

La réalisation de ce projet a permis de mettre à profit nos connaissances afin de concevoir un système permettant de soumettre des cellules à un cycle de concentration d'hormones spécifique. Ce projet nous a enseigné les outils de gestion de projet, ce qui nous a conduit au développement du prototype final. Tout au long de ce projet en groupe, nous avons tiré des leçons de nos erreurs, améliorant ainsi notre efficacité.

Pour accueillir les cellules, nous avons conçu un biochip en PMMA, associé à un circuit fluidique. Ce circuit est composé de pompes et d'électrovannes, permettant de reproduire de manière contrôlée le cycle de concentration d'hormones.

L'ensemble du système est intégré dans un boîtier réalisé en impression 3D et en PMMA. Une version étanche de ce boîtier a été développée pour protéger les pompes et les électrovannes lorsqu'elle est placée dans l'incubateur, tandis que l'électronique de contrôle est placée en dehors de l'incubateur.

L'électronique est commandée par un Raspberry Pi 4. L'utilisateur peut interagir avec le système depuis son ordinateur grâce à la connexion WiFi. Il a ainsi la possibilité de transmettre un fichier CSV contenant des concentrations spécifiques, ce qui rend le système modulable et adaptable selon ses préférences.

Le prototype réalisé est fonctionnel, mais des améliorations peuvent être envisagées pour le rendre encore plus performant. Par exemple, la conception d'une carte PCB dédiée et d'un boîtier externe pour l'électronique contribuerait à améliorer la fiabilité et la robustesse du système.

En conclusion, ce système de fluidique offre une solution fonctionnelle pour soumettre des cellules à un cycle de concentration d'hormones spécifique. Des améliorations peuvent être envisagées pour améliorer les performances.

Requirements :

For Raspberry pi

- Raspberry Pi OS Lite (64-bit)
- Python 3.10
- Python Libraries :
 - numpy 1.22.2
 - pandas 1.4.1
 - feather-format 0.4.1

For Windows (optional)

- Python 3.10
- Python Libraries :
 - numpy 1.22.2
 - pandas 1.4.1
 - feather-format 0.4.1
 - matplotlib 3.5.2

RaspberryPi recommendation :

- RaspberryPi type : RaspberryPi-4
- RaspberryPi name : raspberrypi-projetMOON
- piUser : projetMOON

Useful command :

For windows with powershell :

- Connect to raspberryPi with SSH :
`ssh piUser@piName`
- Send file to raspberryPi :
`scp dataToSend piUser@piName:/home/piUser/folderPath`
- Retrieve file from raspberryPi :
`scp piUser@piName:/home/piUser/FilePath localFilePath`
if you are already in localFilePath, replace localFilePath by ".\"

For raspberry-pi terminal :

- View file in directory :
ls
- change directory :
cd directoryName
if you want to go in parent folder change directoryName by ..
- remove file :
rm fileName
- read file :
cat fileToRead
- start python script
python script.py
- start experience script
nohup python experience.py ftrFile.ftr

How to setup your raspberry-pi :

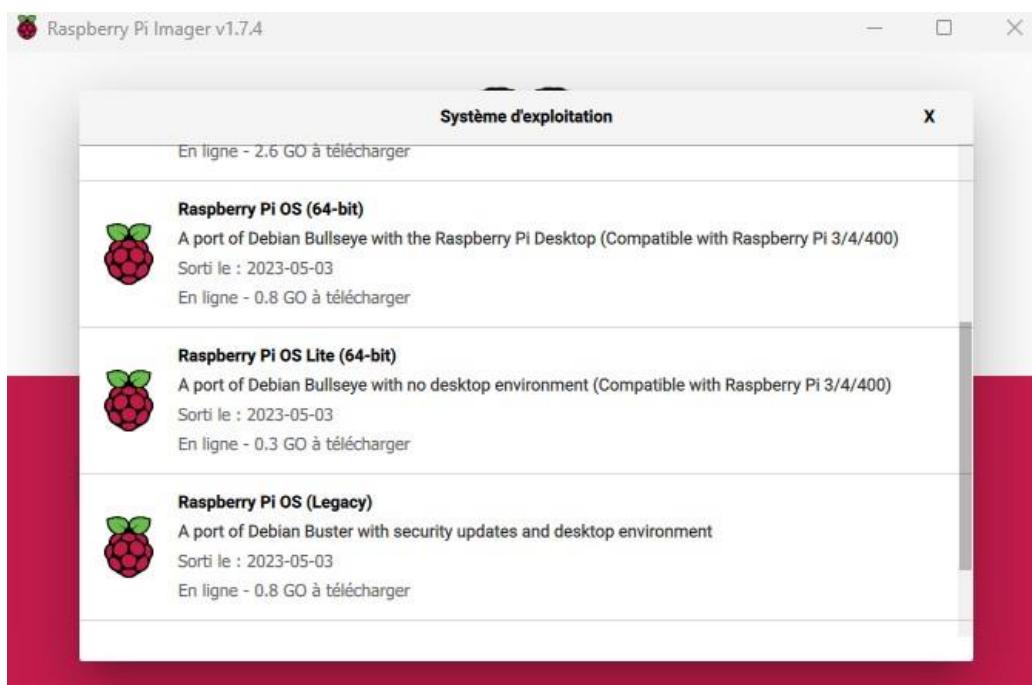
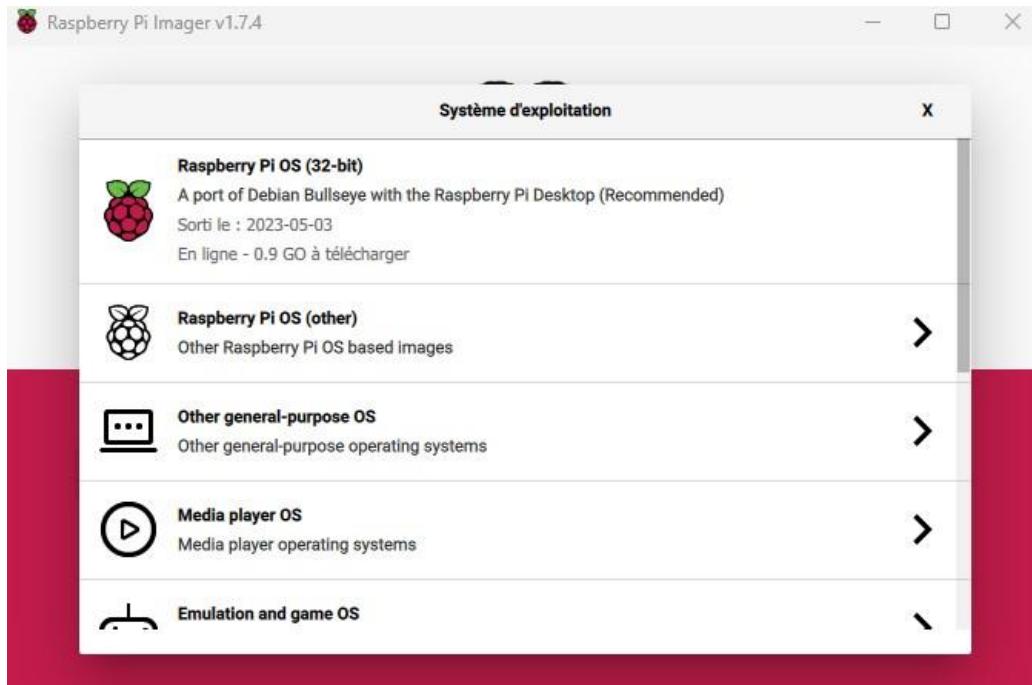
You need to use the Raspberry Pi Imager software available here : <https://www.raspberrypi.com/software/>



Step 1 : Choose OS

You need to choose the Raspberry Pi OS Lite(64-bit). Don't use 32-bit OS because some library needs a 64-bit OS.

You can find it in Raspberry Pi OS (other) menu.



Step 2 : Chose storage

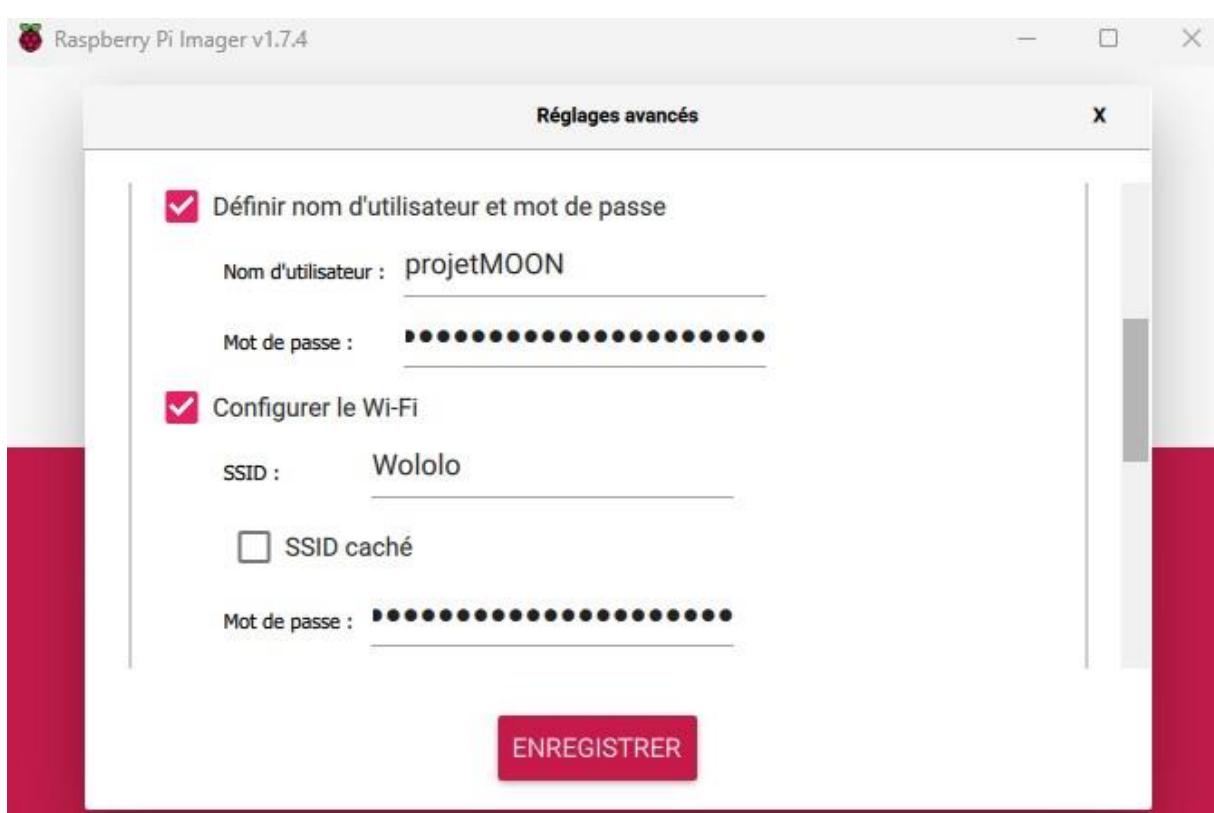
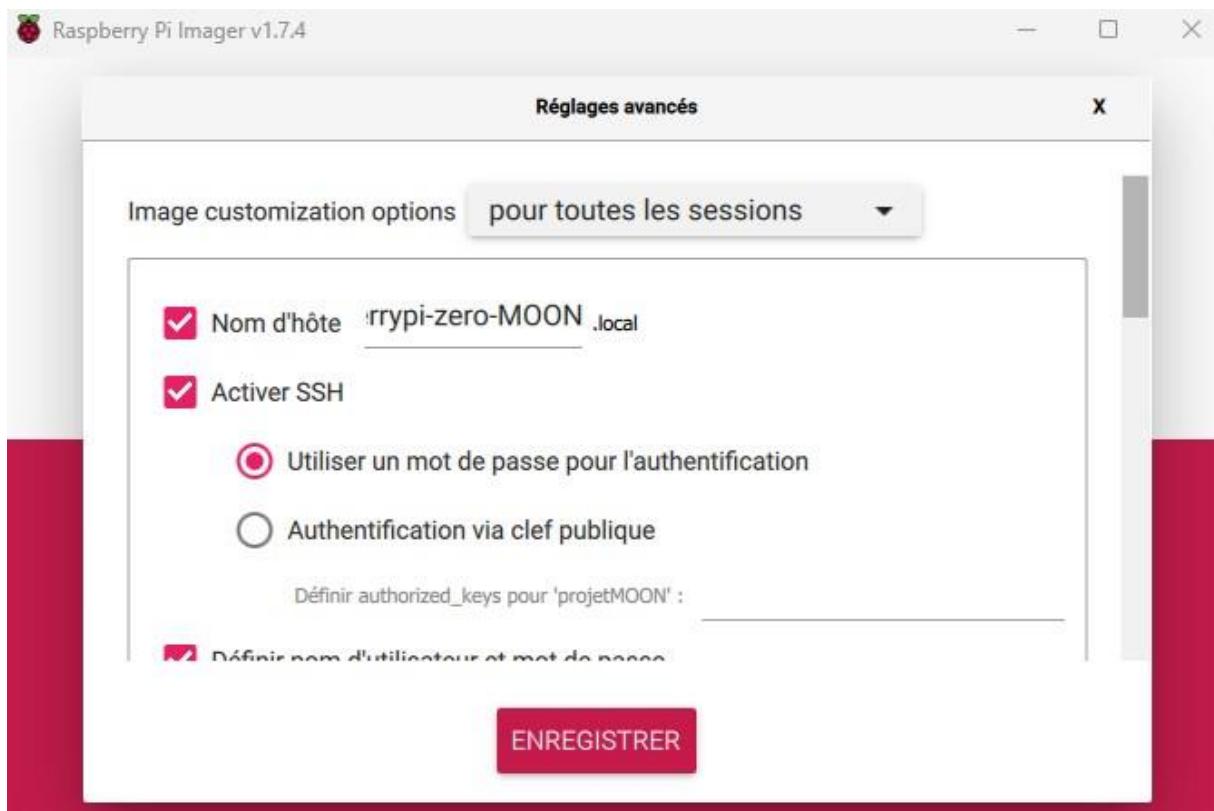
Select the SD card you will use for the raspberry pi.

Step 3 : Setup advance parameter

You need to change multiple parameter before writing the OS in the SD card :
You can find the parameter in the gear.

- Chose for all sessions in Image customization options
- Change the raspberry pi name
- Activate SSH :
use authentication by password
- Define username and password
- Configurate the wifi





Step 4 : Write on SD card

You can write the OS in the SD card and your OS it's ready !

Step 5 : Install dependencies and Setup directory

You need to install dependencies.

- Connect to your raspberry pi via SSH :
`ssh piUser@piName`
use the piUser and piName you have setup in step 3.
- Install OS update :
`sudo apt update`
`sudo apt upgrade`
- Install python :
`sudo apt install python3.10`
- Install python library :
`pip install numpy`
`pip install pandas`
`pip install feather-format`
- Create directory :
`mkdir data`
`mkdir userData`

All the dependencies are installed you can close the SSH connection by closing the terminal.

Step 6 : Transfert file on raspberry pi

You need to transfert all necessary file on raspberry pi.

Download following file from the repository :

- armerPompe.py
- controle.csv
- controle.py
- dataPreparation.py
- experience.py
- resetGPIO.py

repeat the following command for each file in the list to transfert to raspberry pi :

- Send file to raspberryPi :
`scp fileToSend piUser@piName:/home/piUser`

The setup of the raspberry pi is complete.

Plug experience

Motor

Motor n°1

- red wire to Mosfet 1 Drain
- black wire to Mosfet 1 Source

Motor n°2

- red wire to Mosfet 2 Drain
- black wire to Mosfet 2 Source

Motor n°3

- red wire to Mosfet 3 Drain
- black wire to Mosfet 3 Source

Electrovanne

Electrovanne n°1

- wires to Mosfet 4 Drain/Source

Electrovanne n°2

- wires to Mosfet 5 Drain/Source

Electrovanne n°3

- wires to Mosfet 5 Drain/Source

Raspberry pin

Alimentation

- pin 4 (Alimentation 5V) to 5 V
- pin 6 (GND) to GND

Motor

- pin 11 (GPIO 17) to Mosfet 1 Gate
- pin 13 (GPIO 27) to Mosfet 2 Gate
- pin 15 (GPIO 22) to Mosfet 3 Gate

Electrovanne

- pin 29 (GPIO 5) to Mosfet 4 Gate
- pin 31 (GPIO 6) to Mosfet 5 Gate
- pin 33 (GPIO 13) to Mosfet 6 Gate

Run an experience

Step 1 : Prepare your data

The data need to be in csv file. The separator need to be ";".
Your data are presented like this :

time	conc1	conc2
0	1	1
2	6	8
10	2	1
15	4	2

time correspond of time from the start in second.
conc1 and conc2 it's the concentration of element at time t.

If you have download dataPreparation.py on your computer you can convert your data on your computer directly. For convert your data directly on your computer follow the Step 3 before the Step 2.

Step 2 : Transfert your data on raspberry pi

Transfert your data on the raspberry pi in the folder userData.

Open terminal in the folder of your data and use this command :

```
scp dataToSend piUser@piName:/home/piUser(userData
```

If you have convert your data directly on your computer use this command instead :

```
scp dataToSend piUser@piName:/home/piUser(data
```

Step 3 : Convert your data

If you have transfert your CSV file on raspberry pi

- Connect to your raspberry pi via SSH :
`ssh piUser@piName`
- run dataPreparation.py :
`python dataPreparation.py`
Indicate the name of your data when ask.

Your data is now converted and placed in data.

The data converted is named by the date of creation like this:
year-moth-day_hourminsec.ftr

you can check the name of the data created in the folder data using :

```
cd data
```

```
ls
```

it will show all the data in the folder data.

If you want convert your data on Windows

Before convert your data on Windows make sure you have the optionnal requirement on your computer.

Create 2 folder in directory of dataPreparation.py:

- userData
- data

Put your data to convert in userData folder.

Run dataPrepartion.py and indicate the name of your data when ask.

Your data is now converted and placed in data.

The data converted is named by the date of creation like this:

year-moth-day_hourminsec.ftr

You can check the data created using the script verificationFtr.py

Now you can do Step 2.

Step 4 : Run experience

For start experience connect to raspberry pi if it's not already done :

```
ssh piUser@piName
```

Run experience.py in background with :

```
nohup python experience.py dataToUse.ftr
```

Close the terminal.

The Experience is running Step 5 and 6 will show you how to interact with experience.

Step 5 : Control experience

If you want take sample or make an observation during the experience you need to suspend the process.

- Connect to raspberry pi :

```
ssh piUser@piName
```
- run controle.py

```
python controle.py
```

- Choose what you want to do :
 - i. Sample
For take a sample, you need to indicate which quantity you take.
 - ii. Observation
For observe the cells.
 - iii. Restart cycle
When you have finished your sample/observation restart the cycle.
 - iv. Log
For see the last log of the experience.
 - v. Stop
Force stop of the experience if something goes wrong.
 - vi. Cancel
Close controle.py

When you have finished dont forget to restart cycle and you can press cancel for close controle.py

Step 6 : Check log

- Connect to raspberry pi :
`ssh piUser@piName`
- Open the log:
`cat output.log`

For debug log use instead :

`cat nohup.out`

References

- [1] *Definition du cycle menstruel.* Consulté le 12.03.2023. 2023. URL: https://fr.wikipedia.org/wiki/Cycle_menstruel.
- [2] Welco. *WPM peristaltic pump selection guide.*