

## SEPARACIÓN ULTRASÓNICA DE PARTÍCULAS Y CÉLULAS EN MICROCHIPS POLIMÉRICOS

PACS: 43.35.Zc

Icía González<sup>1</sup>, L. J. Fernández<sup>2</sup>, T. Gómez<sup>1</sup>, J. Berganzo<sup>2</sup>, M. Tijero<sup>2</sup>, A. Martín<sup>3</sup>, M. Bouali<sup>3</sup>, J. L. Soto<sup>4</sup>, N. Sagona<sup>4</sup>, A. Carrato<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Acústica, CSIC. Serrano 144. 28006 Madrid

<sup>2</sup> Ikerlan, S. Coop. MEMS/MST Department. 20500 Mondragón, Guipuzkoa

<sup>3</sup> Universidad politécnica de Mondragón. Dpt. Microfluidics. Mondragón, Guipuzkoa

<sup>4</sup> Hospital Gral. Universitario Elche. Camino de la Almazara 11. 03203 Elche, Alicante

<sup>5</sup> Hospital Ramón y Cajal de Madrid. S. Oncología. Madrid

### ABSTRACT

We present a new ultrasonic microchip made of polymer for separation and sorting of particles and cells in suspension. Includes a micro-channel through which flow in parallel a sample containing the particles and other liquids. The device acts as a resonant multilayer system with a pressure node within the channel, strategically located to collect and extract the target particles. The behavior of multilayer chip allows the use of an acoustically soft material, such as polymer.

The device was tested with organic and inorganic suspensions, obtaining values higher than 95% efficiency in inorganic suspensions 1MHz.

### RESUMEN

Se presenta un nuevo microchip ultrasónico fabricado en polímero para separación y clasificación de partículas y células en suspensión. Incluye un micro-canal por el que fluyen en paralelo una muestra conteniendo las partículas y otro líquido. El dispositivo actúa como un sistema multicapa resonante, con un nodo de presión dentro del canal, estratégicamente localizado para coleccionar y extraer las partículas diana. El comportamiento multicapa del chip permite la utilización de un material acústicamente blando, como es el polímero.

El dispositivo se ha probado con suspensiones orgánicas e inorgánicas, obteniendo valores de eficiencia superiores al 95% en suspensiones inorgánicas a 1mhz.

### MICRODISPOSITIVO ULTRASÓNICO

Se presenta un microdispositivo ultrasónico novedoso para micro-manipulación de partículas y células en suspensión.

Este incluye un chip realizado en material polimérico, recientemente publicado [1] y sin precedentes en este tipo de dispositivos de actuación ultrasónica.

El chip contiene un microcanal en el que fluyen dos muestras en paralelo en régimen laminar, una de las cuales contiene, entre otras, las partículas o células diana para ser extraídas mediante la aplicación ultrasónica. También se destaca la aplicación biomédica para la que se ha desarrollado el dispositivo, cuyo objetivo es el desarrollo de una nueva tecnología para detección precoz de metástasis a través de un sencillo análisis de sangre periférica extraída del paciente.

El principio de trabajo se basa en el establecimiento de una onda estacionaria en el dispositivo a través del ancho de las capas que lo conforman, incluyendo el actuador, el chip y el canal por el que circulan las muestras. El conjunto actúa como un resonador multicapa, con el establecimiento de un nodo de presión en el interior del canal y en una ubicación estratégica para proceder a la extracción de las partículas/células diana de su muestra inicial.

Ninguna de las capas del chip es resonante a la frecuencia de trabajo para la que se ha diseñado, de 1MHz, incluyendo el canal, algo más ancho que un cuarto de la longitud de onda. Esto permite el uso de polímeros o plásticos (materiales acústicamente blandos) como material constitutivo del chip en lugar de otros más caros, como silicio o cristal, utilizados en los microdispositivos convencionales para aplicaciones de separación ultrasónica por su elevada rigidez como condición necesaria para favorecer la resonancia del canal.

Con el que se presenta dispositivo se llevan a cabo procesos de extracción y separación de partículas en suspensiones inorgánicas bi-dispersas y de células humanas epiteliales circulantes en muestras de sangre periférica, demostrando la viabilidad del dispositivo en aplicaciones de clasificación (sorter) y detección precoz de enfermedades neoplásicas de alta impacto social.

El principio de operación del dispositivo se basa en el establecimiento de una onda estacionaria generando una fuerza de radiación que empuja a las partículas hacia una zona de equilibrio acústico dentro del canal. Esta fuerza se describe a través de la ecuación (1) (Gor'kov), asumiendo la partícula con un volumen  $V_p$ , densidad ( $\rho_p$ ) y compresibilidad ( $\beta_p$ ), mucho más pequeña que la longitud de la onda incidente,  $\lambda$ , aplicada con una amplitud de presión  $P_0$  sobre un líquido de densidad  $\rho_l$  y compresibilidad  $\beta_l$ :

$$FR = -\frac{\pi P_0^2 V_p \beta_l}{2\lambda} \phi(\beta, \rho) \sin\left(\frac{4\pi x}{\lambda}\right) \quad (1)$$

donde  $\phi(\beta, \rho) = \frac{5\rho_p - 2\rho_0}{2\rho_p + 2\rho_0} - \frac{\beta_p}{\beta_0}$  se conoce como el factor de contraste acústico.

La fuerza de radiación es una función de la distancia "x" desde el lugar donde se encuentra la partícula hasta el nodo de presión más cercano en la onda estacionaria, dando lugar a la colección de partículas en bandas en dicha localización. Esta fuerza es directamente proporcional al volumen de la partícula (potencia cúbica del radio en partículas esféricas). Por lo tanto, pequeñas variaciones en el tamaño de la partícula dan lugar a valores muy diferentes para la fuerza de radiación. Este efecto se usa para llevar a cabo procesos de separación en suspensiones o fluidos biológicos, explotando la diferencia de tamaño, densidad o compresibilidad. La figura 1 muestra una fotografía y esquema del dispositivo y de su sistema de funcionamiento.

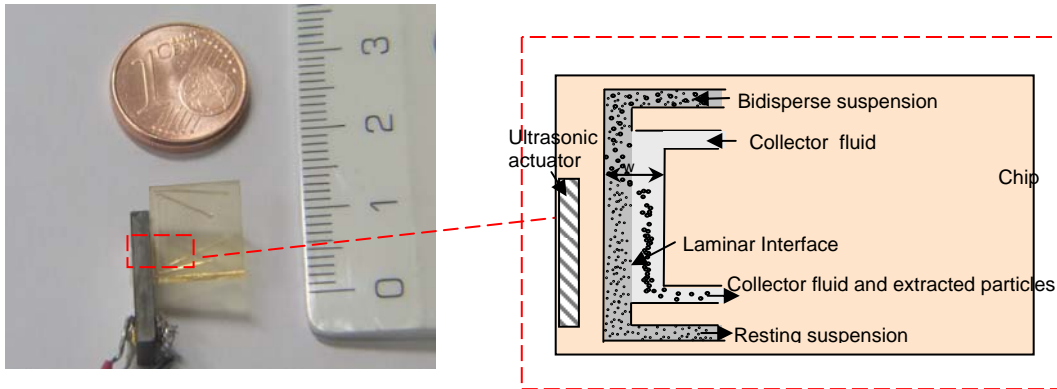


Figura 1: Micro-dispositivo separador y esquema de su funcionamiento

La viabilidad del dispositivo para llevar a cabo procesos de clasificación y separación/extracción de partículas/células se ha probado con suspensiones orgánicas e inorgánicas en flujo continuo, obteniendo un elevado nivel de eficiencia de separación, que en el caso de suspensiones inorgánicas alcanza valores incluso superiores al 95% a diferentes porcentajes de flujo dentro del régimen laminar y a una frecuencia próxima a 1MHz, para la cual el dispositivo fue diseñado. Las figuras 2 y 3 muestran fotografías de procesos de separación en suspensiones acuosas de partículas de polystyrene y de células circulantes en sangre periférica respectivamente.

Se destacan ventajas tecnológicas y de aplicación en este dispositivo, como es la rentabilidad económica que representa el uso del plástico como material constitutivo de los chips, la versatilidad de su funcionamiento (selección del nodo en la posición deseada dentro del canal según la aplicación) y, muy importante, el dispositivo constituye la primera tentativa tecnológica en el desarrollo de una nueva tecnología para detección precoz de metástasis, capaz de mantener la viabilidad de las células extraídas de forma completamente no invasiva para posteriores análisis biomoleculares en busca de biomarcadores.

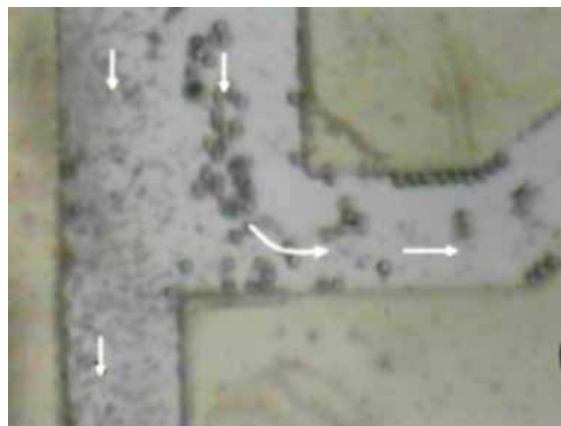


Figura 2. Separación ultrasónica de partículas de polystyrene con diámetros de  $20\mu\text{m}$  y de  $6\mu\text{m}$  en suspensión acuosa. Algunas de las partículas pequeñas son arrastradas por las grandes durante su proceso de extracción hacia la salida correspondiente, tras ser colectadas acústicamente en el nodo de presión.

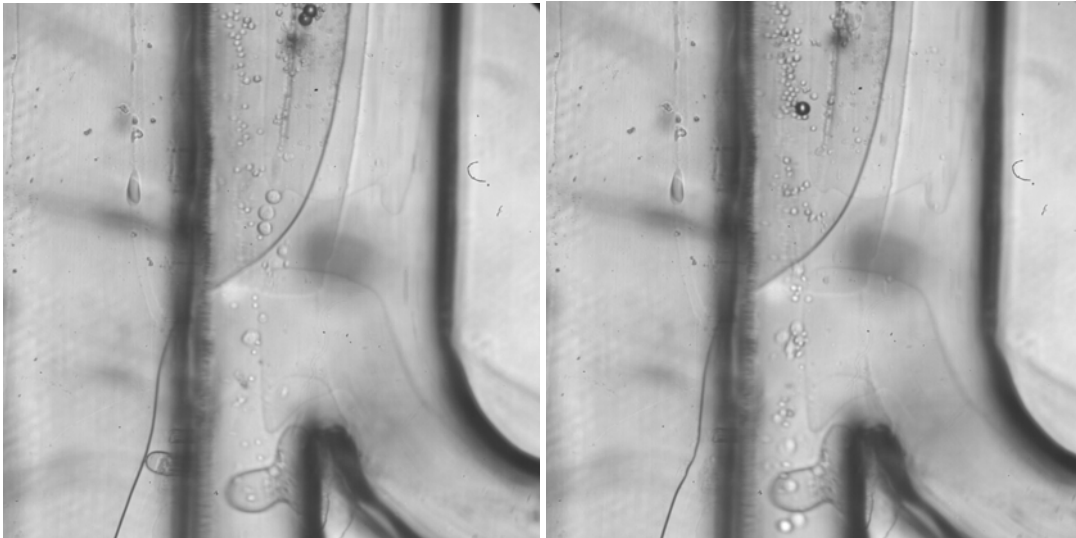


Figura 3: Dos secuencias de células tumorales fluyendo a  $Q=20 \mu\text{L}/\text{min}$  y colectadas a lo largo del nodo de presión, ubicado próximo a la pared izquierda del canal, antes de abandonar el canal de tratamiento por la salida inferior izda. Las CTs son extraídas de la muestra inicial de sangre que continúa fluyendo por el cauce derecho del canal hasta la salida inferior derecha. Velocidad de filmación 250 frames/s y en la muestra se incluyeron esferas de polystyrene (20  $\mu\text{m}$ ) como patrón de calibración standard. Algunos leucocitos son arrastrados por las células epteliales durante su proceso de conducción hacia el nodo de presión acústica.

## REFERENCIAS

1. I. González, L. J. Fernández, T. Gómez Alvarez-Arenas, J. Berganzo, J.L. Soto, A. Carrato, A polymeric chip for micromanipulation and particle sorting by ultrasounds based on a multilayer configuration, *Sensors and Actuators, B B* 144 (2010) 310–317, doi:10.1016/j.snb.2009.10.042