

Rapport du Professeur NADI Mustapha, Université de Lorraine

Sur le manuscrit de thèse de M. Pavel Fikar intitulé :

**«Cytométrie diélectrophorétique pour les mesures des signatures diélectriques de cellules vivantes au niveau d'une population »**

en vue de l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris-Est.

### **Présentation générale**

Le travail de thèse présenté par Monsieur Pavel Fikar vise l'amélioration des techniques de caractérisation de cellules biologiques basées sur la diélectrophorèse (DEP). Le développement et la création d'une nouvelle méthode pour aborder les questions de cytométrie diélectrophorétique est l'objectif principal. Un des objectifs associés est l'obtention d'une mesure probabiliste non-invasive des signatures diélectriques (DE) sans marquage de cellules vivantes à l'échelle d'une population de cellules, ainsi que de permettre l'identification de biomarqueurs intrinsèques fiables des changements cellulaires

### **Contexte**

Cette thèse a été effectuée sous la direction du Dr Vjačeslav Georgiev et du Pr Gaëlle Lissorgues dans le cadre d'une cotutelle entre le *Department of Applied Electronics and Telecommunications Faculty of Electrical Engineering de l'University of West Bohemia* et l'*ESYCOM-ESIEE de l'Université Paris-Est*.

### **Structure du manuscrit**

Le manuscrit, de rédaction claire et très bien structurée, se divise en quatre chapitres denses encadrés par une introduction et une conclusion générales. Il a été rédigé en anglais avec des résumés en anglais, tchèque et français et compte 129 pages complétées par la liste des publications relatives à la thèse et une liste de 112 références bibliographiques.

### **Objectif**

Les principaux aspects de ce travail ont été :

- d'établir l'état de l'art de la DEP et des technologies associées à des fins de cytométrie (Introduction générale/chapitre 1) afin d'en identifier les limites à améliorer. Outre des procédés de fabrication lourds, il apparaît parmi ces limites l'impossibilité d'une analyse en continu, la nécessité d'un biomarqueur, la difficulté d'un contrôle automatisé et d'une régulation du débit et l'interaction cellule-cellule diminuant la sensibilité de la méthode de mesure.
- Pour remédier à ces lacunes, une caractérisation est effectuée à l'aide du facteur de Clausius-Mossotti en vue d'améliorer les méthodes actuelles. Elle aboutit à la conception de dispositifs microfluidiques par simulations numériques (chapitre 2) basés sur une méthode de caractérisation non invasive sans marquage de cellules vivantes.
- La fabrication de ce dispositif est décrite ainsi que les améliorations technologiques apportées (chapitre 3). Ces améliorations permettent entre autres un alignement très précis des microcanaux et des électrodes.
- L'exploitation de ce microsystème a permis d'établir la possibilité de signatures diélectriques spécifiques sur deux types de cellules (*S. cerevisiae* et K562) (chapitre 4) et de démontrer que

la DEP est suffisamment sensible pour être utilisée à des fins de cytométrie pour l'identification de biomarqueurs fiables de changements cellulaires.

- Une analyse statistique (chapitre 5) associée à la cytométrie 2DEP et à la détermination de spectres en distance de Wasserstein retenus comme signatures a permis de quantifier des modifications cellulaires.
- Une conclusion générale (Chapitre 6) résume les apports de M Fikar et les perspectives de son travail.

Le manuscrit développe des travaux de recherche théorique, des procédés de fabrication, des protocoles expérimentaux et l'analyse de données obtenues par une nouvelle méthode.

#### Diffusion scientifique

M Fikar fait état d'un article de revue internationale, de 3 communications dans des conférences internationales avec actes et de 2 publications internes à l'University of West Bohemia.

Son manuscrit met en évidence une capacité de travail en équipe équilibrée entre les deux laboratoires d'accueil. Il a su travailler en symbiose avec d'autres collègues selon les aspects abordés dans ce travail interdisciplinaire, précisant à chaque fois leurs noms et leur appartenance institutionnelle (§ 1.4 *International collaboration*).

#### Avis du rapporteur

*Les travaux de recherche présentés par M FIKAR démontrent une bonne maîtrise scientifique dans le domaine du génie biomédical tant pour la modélisation et les simulations numériques que pour l'expérimentation. Le mémoire présenté et les résultats obtenus correspondent à un travail de thèse conséquent et de grande qualité. La dimension interdisciplinaire est très bien abordée et menée avec rigueur et en détail. Les résultats ont également été valorisés par un article de revue internationale et des communications internationales.*

*J'émet donc un avis très favorable pour que M FIKAR soit autorisé à présenter son travail de thèse en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'Université de Paris Est.*

Cet avis est basé sur le rapport détaillé ci-annexé.

Fait à Nancy,  
le 13 novembre 2016



NADI Mustapha,  
Professeur à l'Université de Lorraine  
(63<sup>ème</sup> section du CNU)

INSTITUT JEAN LAMOUR  
UMR7198-CNRS-UNIVERSITÉ LORRAINE  
Département N2EV  
Faculté des sciences et technologies  
BP 70239  
54506 VANDŒUVRE-LES-NANCY  
Tél. 03 83 88 41 64 - Fax 03 83 88 41 53

*Kopie souhlasí s originálem.*





## FACULTÉ DES SCIENCES D'ORSAY

UFR des Sciences - Orsay  
Université Paris Sud-Université Paris Saclay

Antoine Pallandre  
Professeur des Universités  
antoine.pallandre@u-psud.fr

### **Report about the dissertation of M. Pavel Fikar for the grade of Doctor of Philosophy**

M. Pavel Fikar has written a manuscript entitled "Dielectrophoretic cytometry for measurement of live cell dielectric signatures on population level" to present his thesis. I personally appreciate the presented dissertation. This thesis is organized into four main different chapters. The first one allows to have a rapid overview of the various types of dielectrophoresis and their principles. The second chapter proposes to underline the importance of fine alignment during the microfabrication process to carry out highly discriminant dielectrophoresis. The third chapter is dedicated to present the novel distributed Dielectrophoretic Cytometry technique and how the vertical motion of the live cells can be used to characterize a population. The chapter four searches to use statistical analysis to treat the data of the dielectrophoresis experiments.

The candidate, Pavel Fikar, has succeeded to write a uniform manuscript and has clearly introduced new concepts to improve the dielectrophoresis technique. He had the opportunity to work in a EU collaborative project and to realize different parts of his research in french and tchek laboratories. This work also demonstrates his will to propose a nice equilibrium between experimental research and computational activities for data treatment or optimization of the device geometry. Pavel Fikar has also succeeded to demonstrate the high sensitivity of his dielectrophoresis technique by finding clear differences in the dielectrophoretic signature distributions between normal and biologically modified cells.

However, several minor changes could improve this manuscript. (i) A longer introduction that focuses more about experimental results from the other colleagues of the dielectrophoresis domain would help to compare the results presented in chapter 5. (ii) The number of bibliographic references is rather small and some aspects of nonlinear electrokinetic phenomena in microfluidic are missing for a better discussion (Ajdari and many others did very interesting articles about this subject). (iii) More photographies and CAD design of the microfluidic devices would be helpful for the understanding of the reader. Finally some comments about the robustness of this dielectrophoresis technique could be added by considering the reproducibility and repeatability of the presented measurements.

Considering all these arguments and regarding to the quality of the presented research, I give a favorable opinion towards a public defense.

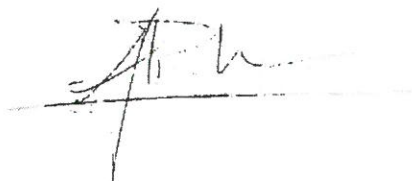
## Conclusion en français

En conclusion, M. Pavel Fikar a soumis un manuscrit de thèse très complet qui démontre un travail pluridisciplinaire original et de bonne qualité, dans le domaine de l'instrumentation et l'analyse miniaturisée. Le candidat a montré sa capacité à analyser en détails des résultats issus d'études complexes en simulation et en mesure.

Les résultats ont fait l'objet de plusieurs communications écrites et orales internationales.

Par conséquent, pour toutes ces raisons, je suis tout à fait favorable à la soutenance de thèse M. Pavel FIKAR afin d'obtenir le grade de Docteur de l'Université Paris Est.

Orsay (France), the 18<sup>th</sup> of November 2016



*Kopie souhlasí s originálem.*

