



**HAL**  
open science

# Caractérisation des tissus biologiques mous par diffusion multiple de la lumière

Naoual Zerrari

► **To cite this version:**

Naoual Zerrari. Caractérisation des tissus biologiques mous par diffusion multiple de la lumière. Biomécanique [physics.med-ph]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2014. Français. NNT : 2014LYO10052 . tel-00985084v2

**HAL Id: tel-00985084**

**<https://theses.hal.science/tel-00985084v2>**

Submitted on 26 Jun 2014

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## **THESE DE DOCTORAT**

Délivrée par

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ECOLE DOCTORALE **MEGA**

DIPLOME DE DOCTORAT (Arrêté du 7 août 2006)

Soutenue publiquement

Le **18/03/2014**

Par **Zerrari Naoual**

TITRE :

### **CARACTERISATION DES TISSUS BIOLOGIQUES MOUS PAR DIFFUSION MULTIPLE DE LA LUMIERE**

#### **JURY**

Mitton David

Rahouadj Rachid

Callé Samuel

Béra Jean-Christophe

Nicolle Stéphane

Palierne Jean-François

Directeur de recherche, IFSTTAR-Bron

Professeur, Université de Lorraine

Maitre de conférences, Université de Tours

Professeur, Université de Lyon

Maître de Conférences, Université de Lyon

Chargé de Recherche, ENS Lyon

Directeur

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Examineur

« La vie, c'est comme une bicyclette, il faut avancer pour ne pas perdre l'équilibre »

Albert Einstein

A la mémoire de mon très cher papa, qui a tout sacrifié pour notre bien-être,  
A mon époux qui m'a tant aimé et soutenu et que j'aime très fort,  
A ma mère pour son amour et ma princesse Aya « mon cœuuuur » qui m'a supporté,  
A mes beaux-parents qui m'ont encouragé surtout « ba-bidou »,  
A ma grand-mère, ma sœur, mon frère et mes belles-sœurs,  
A tous ceux qui m'aiment.

## Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier *Phillipe Vezin* le directeur du laboratoire de biomécanique et mécanique des chocs (LBMC), de m'avoir accueilli au sein de l'unité de recherche et de m'avoir permis de réaliser ce travail de thèse.

Je remercie énormément *David Mitton*, HDR responsable de l'équipe biomécanique des chocs et mon directeur de thèse, pour son soutien, sa disponibilité et ses conseils, pour ses grandes qualités humaines et professionnelles qui m'ont permis de surmonter les difficultés rencontrées au cours de ce travail et qui m'ont permis d'acquérir les principes d'un travail de recherche.

Un très grand merci à mon encadrant *Stéphane Nicolle*, maître de conférences à l'Université Lyon1, de m'avoir aidé tout au long de ces trois années de thèse, pour sa disponibilité, pour ses constants encouragements ainsi que pour la confiance qu'il m'a accordée.

Merci à *Jean-François Paliarne*, chargé de recherche à l'Ecole Normale Supérieure de Lyon, pour sa collaboration et son aide.

J'exprime toute ma reconnaissance à *Rachid Rahouadj*, HDR Professeur des Universités à l'Université de Lorraine, et *Samuel Calle*, HDR Maître de conférences à l'Université de Tours, d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail de thèse, et à *Jean-Christophe Béra*, HDR Professeur des Universités à l'Université Lyon1 pour sa participation comme examinateur.

Je remercie également *Eric Freyssingeas* pour ses discussions, pour l'aide et le soutien qu'il m'a apporté, et *Franck Vittoz* pour l'aide technique à la mise en place du dispositif expérimental.

Je salue *Brigitte Chimenton* pour sa bonne humeur et son épanouissement dans son travail, ainsi que tous les membres du laboratoire que j'ai eus le plaisir de rencontrer au cours de ces trois années.

Je remercie les membres de ma famille pour leur soutien, et je dédie ce travail à ma chère *Aya* qui a supporté mon absence et qui m'a toujours donné la force pour avancer avec son beau sourire.

## Table des matières

Résumé.....	9
Summary.....	10
Liste des annotations.....	11
Table des figures.....	13
Introduction .....	18

### Chapitre I : Méthodes expérimentales pour une caractérisation des tissus biologiques mous par rhéologie et diffusion de lumière

1. La rhéologie .....	21
1.1 Principe de la technique.....	21
1.2 Rhéologie des matériaux biologiques mous .....	21
1.2.1. Comportement viscoélastique linéaire .....	21
1.2.2. Comportement viscoélastique non linéaire .....	23
1.3 Autres techniques de caractérisation mécanique .....	25
2. Caractérisation des tissus biologiques par diffusion multiple de lumière .....	26
2.1 Introduction à la diffusion de lumière.....	26
2.2 Principe de la diffusion multiple de la lumière.....	28
2.2.1. Les configurations possibles .....	29
2.2.2. La fonction d'autocorrélation.....	30
2.2.2.1. La fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée $g_2(t)$ .....	30
2.2.2.2. La fonction d'autocorrélation du champ électrique $g_1(t)$ .....	30
2.2.2.3. Le corrélateur .....	32
2.3 Etude des spectres.....	32
2.4 Utilisation des spectres pour déduire les propriétés mécaniques .....	34
2.5 Etat de l'art de la DWS.....	36
3. Synthèse et objectifs de thèse.....	41

### Chapitre II : Montage expérimental, protocole et étalonnage

1. Rhéométrie.....	44
2. Mise en place du dispositif optique.....	45
2.1 Cahier de charge.....	45
2.2 Mise en place du dispositif expérimental de diffusion statique .....	46
2.2.1. Choix du support et illumination des échantillons .....	46

2.2.2.	Choix du laser et son effet sur les matériaux biologiques .....	47
2.2.3.	Transport du laser jusqu'à l'échantillon .....	48
2.2.4.	Système de récupération de la lumière diffusée .....	48
2.2.5.	Le corrélateur .....	48
2.2.6.	Isolation lumineuse .....	49
2.2.7.	Isolation vibratoire .....	51
2.2.8.	Position du polariseur .....	52
3.	Etalonnage avec du lait .....	54
3.1	Choix de l'épaisseur à utiliser .....	55
3.2	Comparaison à la littérature .....	56
3.3	Conclusion .....	57
4.	Approfondissement de l'étude du lait avec le nouveau dispositif mis en place .....	57
4.1	Etude du lait par rhéométrie .....	57
4.2	Etude du lait par DWS .....	58
4.2.1.	La répétabilité des essais sur le lait .....	59
4.2.2.	La reproductibilité des mesures sur le lait .....	60
4.2.3.	Mesure de la taille moyenne des diffuseurs à partir de résultats de la DWS et de rhéologie .....	62
5.	Conclusion .....	62

### Chapitre III : Etude de matériaux de complexité intermédiaire

1.	Suspension de polystyrène .....	65
1.1.	Etude de la suspension par rhéométrie .....	65
1.2.	Etude de la suspension par DWS .....	65
1.2.1.	Vérification de la répétabilité des mesures .....	65
1.2.2.	Vérification de la reproductibilité des mesures .....	67
1.2.3.	Calcul de la viscosité à partir des résultats de DWS .....	69
1.3.	Conclusion .....	71
2.	Mousse .....	72
2.1.	Etude rhéométrique de la mousse .....	73
2.1.1.	Etude de la mousse par le Bohlin .....	73
2.1.2.	Etude par le piézo-rhéomètre .....	74
2.2.	Etude de la mousse à raser par DWS .....	77
2.2.1.	Choix de l'épaisseur à utiliser .....	77
2.2.2.	Comparaison des résultats à la littérature .....	79

2.2.3.	L'étude de la répétabilité des mesures.....	81
2.2.4.	Etude de la reproductibilité des mesures sur la mousse.....	82
2.2.5.	Calcul de la viscosité à partir des résultats de DWS.....	82
2.3.	Conclusion.....	85
3.	Conclusion sur l'étude des différents milieux étudiés .....	85

#### Chapitre IV : Etude des matériaux biologiques mous

1.	Histologie des matériaux biologiques étudiés.....	90
1.1.	Rein : cortex rénal.....	90
1.2.	Foie : parenchyme hépatique.....	92
1.3.	Cerveau .....	93
2.	Protocole expérimental.....	94
3.	Etude par rhéologie .....	95
4.	Etude par DWS.....	96
4.1.	Découpe des échantillons .....	96
4.2.	Effet de l'épaisseur des échantillons.....	96
4.2.1.	Le cortex rénal.....	97
4.2.2.	Le parenchyme hépatique .....	98
4.2.3.	Le cerveau de porc.....	99
4.2.4.	Conclusion de l'étude de l'épaisseur .....	100
4.3.	Etude de la répétabilité et la reproductibilité des matériaux biologiques mous .....	100
4.3.1.	La répétabilité du cortex rénal porcin.....	100
4.3.2.	La reproductibilité du cortex rénal porcin .....	102
4.3.3.	La répétabilité du parenchyme hépatique.....	103
4.3.4.	La reproductibilité du parenchyme hépatique .....	105
4.3.5.	La répétabilité du Cerveau de porc.....	106
4.3.6.	La reproductibilité du cerveau de porc.....	107
4.3.7.	Conclusion sur la répétabilité et la reproductibilité des matériaux biologiques..	108
4.4.	Etude de la variabilité des matériaux biologiques mous.....	109
4.4.1.	Cortex rénal .....	109
4.4.2.	Parenchyme hépatique .....	110
4.4.3.	Cerveau.....	112
4.4.4.	Conclusion sur la variabilité .....	113
4.5.	Conclusion de l'étude des matériaux biologiques .....	113
4.6.	Calcul de la viscosité à partir des spectres de DWS.....	117



5. Etude du cortex rénal au cours de la déshydratation.....	118
6. Etude du cortex rénal au cours de la dégénérescence .....	121
6.1 Conservation à 4°C .....	121
6.2 Conservation à température ambiante .....	123
7. Conclusion .....	127
 Conclusion générale et perspectives.....	 130
ANNEXES .....	134
Annexe A : Protocole expérimental de DWS (2013_HST_OPT).....	135
Annexe B : Protocole expérimental de Rhéologie (2012_HST_SHE) [Nicolle] .....	143
Annexe C : Le corrélateur.....	147
Annexe D : Tableau récapitulatif des différentes études et essais réalisés .....	151
Annexe E : Calcul de la viscosité à partir des spectres de DWS. ....	154
Annexe F : Changements du socle inférieur du rhéomètre.....	157
Bibliographie.....	159

## Résumé

La diffusion multiple de la lumière(DWS) est une technique qui permet de sonder la dynamique interne de milieux opaques et concentrés à des fréquences élevées. Elle a été utilisée pour déterminer les propriétés viscoélastiques de ces milieux. Elle a l'avantage d'être non destructive, rapide et sensible. Ce travail a pour objectif l'étude des tissus biologiques mous par DWS.

La première étape est la mise en place du dispositif expérimental. Afin d'évaluer les limites de la technique, des études successives ont été réalisées sur des matériaux de complexité croissante (une suspension, le lait et une mousse) tendant vers la complexité structurale des tissus biologiques.

Pour la suspension et le lait, la théorie de DWS peut s'appliquer et permet de mesurer avec une bonne précision leur viscosité.

Les limites de DWS pour évaluer la viscosité sont atteintes avec la mousse dont la structure complexe est proche de celle des tissus biologiques.

Enfin, le cortex rénal, le parenchyme hépatique et le cerveau de porc ont été étudiés. La théorie appliquée pour les milieux précédents ne permet pas de remonter à leur viscosité. Mais la DWS a permis de suivre leur microstructure au cours de la déshydratation et de la dégénérescence.

Pour tous ces milieux la répétabilité, la reproductibilité, la variabilité et l'effet des conditions expérimentales ont été évalués.

La DWS pourrait être utilisée pour étudier l'effet de la température et de la congélation sur le spectre de DWS des tissus biologiques ou combinée à la rhéologie pour suivre l'évolution des spectres de DWS au cours d'un cisaillement.

---

**Mots-clés :** Diffusion multiple de lumière, Rhéologie, Tissus biologiques mous, Rhéo-optique, Déplacement quadratique moyen, Viscosité, Module de cisaillement

## Summary

Diffusing Wave Spectroscopy (DWS) is a technique that allows to probe the internal dynamics of opaque media and concentrated at high frequencies. It has been used to determine the viscoelastic properties of these media. It has the advantage of being non-destructive, rapid and sensitive. This work aims to study soft biological materials by DWS.

The first step is setting up of the experimental device. To evaluate the limits of the art, successive studies were conducted on materials of increasing complexity (a suspension, milk and a foam) tending to the structural complexity of biological tissues.

Concerning the suspension and milk, two concentrated media, and mono-dispersed in which the particles are in Brownian motion, DWS allowed to measure with good precision their viscosity.

The limits of DWS to evaluate the viscosity of the medium are achieved with the foam which the complex structure is similar to that of soft biological tissues.

Finally, the renal cortex, the hepatic parenchyma and porcine brain were studied. The theory applied to previous media does not allow to calculate viscosity. But the DWS allowed us to follow their microstructure during dehydration and degeneration.

For all these media, repeatability, reproducibility, variability and effect of experimental conditions were evaluated.

The DWS could be used to study the effect of temperature and freezing on the DWS spectrum of biological tissues, or combined with rheology to monitor the evolution spectra DWS during shear.

---

**Keywords:** multiple light scattering, rheology, soft biological Tissue, Rheo-optics, mean square displacement, viscosity, shear modulus.

## Liste des annotations

Diffusion dynamique de la lumière (DWS)

$\lambda$	La longueur d'onde du laser
$n$	L'indice de réfraction
$\vec{q}$	Vecteur d'onde
$g_2(t)$	La fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée normalisée
$g_1(t)$	La fonction d'autocorrélation du champ électrique
$I$	L'intensité de la lumière diffusée
$t$	Le temps de mesure
$\langle \rangle$	La moyenne temporelle
$\beta$	La fonction de l'appareil du système
$\langle \Delta r^2(t) \rangle$	Le déplacement quadratique moyen des diffuseurs
$L$	L'épaisseur de l'échantillon
$l^*$	Le libre parcours moyen de transport, qui est la distance au bout de laquelle la direction de propagation des photons devient aléatoire
$P(s)$	La distribution statistique de l'ensemble des chemins parcourus par les photons diffusés.
$s$	La longueur totale des chemins parcourus par les photons
$\tau$	Le temps de relaxation caractéristique
$\tau_c$	Le temps de corrélation
$n_i$	Le nombre de photons comptés pendant $\Delta t_i$
$M$	Le nombre de temps de décalage
$m$	La masse de la particule
$v(t)$	La vitesse de la particule
$f_R(t)$	Les forces aléatoires agissant sur la particule
$\mathfrak{F}[\langle \Delta r^2(\tau) \rangle]$	La transformée de Fourier du déplacement quadratique moyen des diffuseurs
$K_B$	La constante de Boltzmann

a	Le rayon des particules
$\omega$	La pulsation.
T	La température en Kelvin
$\Gamma$	La fonction gamma
D	Le coefficient de diffusion

### Rhéologie

$\tau$	La contrainte appliquée
$\gamma$	La déformation
$G^*$	Le module de cisaillement complexe
$G'$	Le module élastique
$G''$	Le module visqueux
$\eta^*$	La viscosité complexe
$\eta$	La viscosité

## Table des figures

Figure 1. Module de conservation $G'$ et module de perte $G''$ du cortex rénal de porc et du parenchyme hépatique de porc (Nicolle, 2010).....	22
Figure 2. Module de conservation $G'$ et module de perte $G''$ de la rate de porc en fonction de la fréquence (les modules représentent la moyenne de 38 tests) (Nicolle, 2012).....	23
Figure 3. (a) : comportement non linéaire du cortex rénal porcin à trois vitesses de déformation constantes : 0.0151, 0.133 et 0.6 $s^{-1}$ . (b) : comportement non linéaire du foie de porc à trois vitesses de déformation : 0.0151, 0.133 et 0.7 $s^{-1}$ . Dans les deux cas un modèle de comportement non-linéaire est représenté. (Nicolle, 2010).....	24
Figure 4. Comportement non linéaire de la rate de porc à trois vitesses de déformation différentes : 0.0151, 0.133 et 0.67 $s^{-1}$ . (Nicolle, 2012).....	25
Figure 5. Montage classique de diffusion de lumière, composé d'une source laser, d'un détecteur de la lumière diffusée, et d'un corrélateur (Suisa, 2006).....	27
Figure 6. Fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée ( $g_2(t)$ ) du cytoplasme d'une cellule vivante (Suisa, 2006).....	28
Figure 7. Les configurations possibles pour l'étude en diffusion de lumière (Tourbin, 2006).....	29
Figure 8. La fonction d'autocorrélation $\langle I(0) I(t) \rangle$ . Sa valeur initiale est $\langle I^2 \rangle$ . Pour des temps plus grands que le temps de corrélation, La fonction décroît jusqu'à $\langle I \rangle^2$ . (Pecora, 1976).....	33
Figure 9. Comparaison de fonction d'autocorrélation pour des petites et des grosses particules (Monti, 2010).....	33
Figure 10. Interprétation de la fonction d'autocorrélation en termes de taille des particules et de polydispersité (Monti, 2010). .....	34
Figure 11. Du haut en bas : (1) diffusion de la lumière par des cellules sanguines en mouvements. (2) : les fluctuations de l'intensité diffusée dues à la dynamique des cellules. (3) : la fonction d'autocorrélation du champ électrique $g_1(t)$ pour un flux faible et un flux sanguin plus grand (Sunar, 2006).....	39
Figure 12. Fonction d'autocorrélation du champ électrique normalisé des deux patients avec le modèle (fit). La décroissance est proportionnelle au flux sanguin (Rohrbach, 2012).....	40
Figure 13. Contraste du flux sanguin : (a) différence du flux sanguin entre la lésion et la périphérie du premier patient. (b) différence du flux sanguin entre la lésion et la périphérie pour le second patient. Le contraste est important pour les deux patients, les différences du flux sanguin sont également importantes. Les barres d'erreur représentent l'écart-type. (Rohrbach, 2012).....	40
Figure 14. Un exemple de rhéomètre : le Bohlin C-VOR 150 de Malvern Instruments .....	44
Figure 15. Montage expérimental permettant de réaliser des essais de diffusion multiple de la lumière sur différents types de matériaux, mis en place au cours de cette thèse.....	46
Figure 16. Les changements apportés au socle inférieur du rhéomètre qui sera le support des échantillons pour les tests de diffusion de lumière. Fig (A) : l'installation de la plaque en saphir sur le socle. Fig (B) : la fixation des supports des fibres optiques.....	47
Figure 17. Fonctions d'autocorrélation obtenues sans allumer le laser, avec et sans couvercle anti-lumières parasites.....	50
Figure 18. Fonctions d'autocorrélation moyennes du lait (5 essais/ cas), obtenues « avec table + sans vibrations » et « avec table + avec vibrations » et « sans table + avec vibrations ». .....	51
Figure 19. La variance calculée à partir des fonctions d'autocorrélation enregistrées avec te sans système d'isolation vibratoire.....	52

Figure 20. Fonctions d'autocorrélation du lait obtenues en tournant le polariseur de la position de référence (position 1 avec un angle 0°) à la position 6 (avec un angle de 45°) .....	53
Figure 21. Fonction d'autocorrélation moyenne (sur 10 essais) du lait, obtenue après fixation du polariseur sur la bonne position, elle est caractérisée par un $g_2(t)$ initiale qui s'approche de 2, ainsi qu'un temps de relaxation de 50 $\mu$ s.....	54
Figure 22. Fonctions d'autocorrélation moyennes du lait écrémé enregistrées à différentes épaisseurs.....	55
Figure 23. Comparaison entre la fonction d'autocorrélation moyenne du lait obtenue avec le nouveau montage (sur 40 tests) et celle trouvée dans la littérature (Dalglish, 2007) .....	56
Figure 24. Coefficient de variation de la fonction d'autocorrélation moyenne enregistrée avec le dispositif mis en place et celle de référence. ....	57
Figure 25. La viscosité moyenne (sur 10 essais) du lait obtenue avec le piézo-rhéomètre dans l'intervalle de fréquence [1 - 10 <sup>4</sup> ] Hz.....	58
Figure 26. Fonctions d'autocorrélation de 10 échantillons du lait écrémé obtenues dans les mêmes conditions expérimentales. ....	59
Figure 27. Le coefficient de variation des tests de répétabilité réalisés sur du lait dans les mêmes conditions expérimentales.....	60
Figure 28. Fonctions d'autocorrélation moyennes du lait obtenues sur trois jours de tests différents, chaque fonction représente la moyenne de 15 tests sur le même type et même marque de lait, en conservant le même état de fraîcheur et de conservation des échantillons.....	61
Figure 29. Coefficient de variation des essais de reproductibilité sur le lait réalisés à trois jours de tests différents.....	61
Figure 30. Fonction d'autocorrélation moyenne du lait enregistrée avec le dispositif mis en place. (B) : La viscosité mesurée par rhéométrie du même lait .....	62
Figure 31. Fonctions d'autocorrélation de la suspension des nanosphères de polystyrène (15 tests) enregistrées le même jour dans les mêmes conditions expérimentales avec un court intervalle de temps.....	66
Figure 32. Le coefficient de variation des tests de répétabilité réalisés sur la suspension de polystyrène sous les mêmes conditions expérimentales. ....	67
Figure 33. Fonctions d'autocorrélation moyennes (5 essais/jour) des nanosphères de polystyrène obtenues à 4 jours différents.....	68
Figure 34. Le coefficient de variation des mesures réalisées sur la suspension de polystyrène à des jours différents avec le nouveau dispositif, sous les mêmes conditions expérimentales.....	68
Figure 35. Fonction d'autocorrélation moyenne de la suspension concentrée de polystyrène après l'ajout de sel (moyenne sur 25 essais).....	69
Figure 36. Comparaison entre la viscosité mesurée à l'aide d'un piézo-rhéomètre et celle calculée à partir de la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée moyenne sur 25 tests.....	70
Figure 37. L'écart relatif entre les valeurs de la viscosité calculée à partir des spectres de DWS et celle mesurée par rhéométrie sur l'intervalle de fréquence [10 <sup>3</sup> - 10 <sup>4</sup> ] Hz .....	71
Figure 38. Photographie prise à la surface d'une mousse Gillette 20 min après sa fabrication (Labiausse, 2004).....	73
Figure 39. La viscosité moyenne mesurée à l'aide du rhéomètre (sur 15 essais). ....	74
Figure 40. Effet de la fixation de la mousse (avec du scotch double face) sur la valeur de la viscosité mesurée pour deux échantillons de même épaisseur : e = 500 $\mu$ m. ....	75
Figure 41. Viscosité de la mousse à raser à deux épaisseurs différentes avec l'usage du scotch double face pour fixer la mousse sur le plateau du piézo-rhéomètre.....	75

Figure 42. (A) de gauche à droite : viscosité de la mousse mesurée avec le piézo-rhéomètre en utilisant une épaisseur de 500 $\mu$ m avec fixation – le coefficient de variation calculé à partir de ces trois tests. (B) Viscosité mesurée avec une mousse de 800 $\mu$ m d'épaisseur avec fixation - le coefficient de variation de ces deux mesures.....	76
Figure 43. Fonctions d'autocorrélation moyennes (10 tests/épaisseur) de la mousse à raser Gillette à différentes épaisseurs allant de 0.5cm à 5cm.....	78
Figure 44. Coefficient de variation sur les mesures de la fonction d'autocorrélation à des épaisseurs différentes.....	79
Figure 45. Image de la mousse à raser Gillette au cours d'un test de diffusion de lumière montrant une forte diffusion dans toutes les directions et une importante intensité transmise malgré l'épaisseur importante de la mousse.....	79
Figure 46. Comparaison de la fonction d'autocorrélation (moyenne sur 20 essais) enregistrée par le dispositif mis en place au cours de la thèse et le spectre trouvée dans la littérature (Labiausse, 2004).....	80
Figure 47. L'écart relatif entre la fonction d'autocorrélation de la mousse à raser obtenue avec le dispositif mis en place et celle donnée dans la littérature.....	80
Figure 48. Fonction d'autocorrélation moyenne de la mousse à raser, obtenue en faisant la moyenne sur 10 échantillons de mousse testés dans les mêmes conditions expérimentales dans le même jour avec un court intervalle de temps.....	81
Figure 49. Etude de la répétabilité des essais sur la mousse à raser Gillette : Coefficient de variation (%)......	81
Figure 50. Fonctions d'autocorrélation moyennes de l'intensité diffusée de la mousse à raser à deux jours de test différents (10 essais/jour).....	82
Figure 51. (A) : la fonction d'autocorrélation moyenne de la mousse à raser : moyenne sur 30 essais - (B) : le déplacement quadratique moyen obtenu à partir du spectre de DWS - (C) : la viscosité calculée à partir de la courbe B du déplacement des éléments diffuseurs.....	83
Figure 52. Comparaison de la viscosité mesurée par le rhéomètre en configuration plan-plan, ainsi que celle mesurée par piézo-rhéomètre, celle calculée à partir de la fonction d'autocorrélation moyenne de l'intensité diffusée et celle rapportée dans la littérature.....	84
Figure 53. Les fonctions d'autocorrélation moyennes $g_2(t)$ des différents milieux étudiés (lait, suspension, mousse).....	86
Figure 54. Les différents milieux étudiés par DWS avec leur structure donnée dans la bibliographie [ ( <a href="http://www.nature.com">www.nature.com</a> , /) ( <a href="http://tpegastronomie-moleculaire.e-monsite.com">http://tpegastronomie-moleculaire.e-monsite.com</a> , /) (Dalglish, 2004), (Cheftel, 1977).....	88
Figure 55. (A) Section sagittale du cerveau. (1):Tronc cérébral, (2):Cervelet et (3):Prosencéphale – (B) : coupe transversale d'un cerveau humain où l'on distingue la substance grise et blanche (Nicolle, 2003).....	93
Figure 56. (A) : Découpe d'un échantillon de cortex rénal porcin avec un diamètre de 16mm et une épaisseur de 4mm – (B) : découpe du foie porcin avec une épaisseur de 4mm – (C) : les étapes de la découpe du cerveau de porc permettant d'avoir des échantillons avec les deux matières : blanche et grise.....	94
Figure 57. La viscosité du cortex rénal (A) – du parenchyme hépatique (B) - du cerveau (C) de porc mesurée par rhéologie.....	96
Figure 58. Fonctions d'autocorrélations du cortex rénal porcin obtenues à différentes épaisseurs allant de 0.5 mm à 1 cm.....	97
Figure 59. Fonctions d'autocorrélation moyennes à différentes épaisseurs, montrant une bonne répétabilité pour l'épaisseur de 4 mm.....	98



Figure 61. Fonctions d'autocorrélation moyennes (3 Echantillons / épaisseur) du foie de porc frais à différentes épaisseurs : 1mm-2mm-3mm-6mm et 10mm.....	99
Figure 62. Fonctions d'autocorrélation moyennes (3 tests/épaisseur) du cerveau de porc à différentes épaisseurs .....	100
Figure 63. Etude de la répétabilité : Exemple de fonctions d'autocorrélation obtenues dans les mêmes conditions expérimentales le même jour avec un très court intervalle de temps (3essais/échantillon) sur un échantillon de cortex rénal porcin de 4 mm d'épaisseur. ....	101
Figure 64. Répétabilité des mesures sur le cortex rénal porcin : Le coefficient de variation (%) des 54 tests réalisés sur le cortex rénal porcin avec e = 4mm .....	101
Figure 65. Fonctions d'autocorrélation moyennes (10 essais / jour) du cortex rénal porcin enregistrées dans les mêmes conditions expérimentales à 2 jours différents.....	102
Figure 66. Etude de la reproductibilité des tests sur cortex rénal porcin : Coefficient de variation (%) de 60 tests réalisés à 6 jours différents sur 5 reins de porc frais, et effectués dans les mêmes conditions expérimentales.....	102
Figure 67. (A) les fonctions d'autocorrélation d'un même échantillon de foie de porc conservé dans le liquide physiologique à 4°C pendant 45 minutes et testé dans les mêmes conditions expérimentales avec un court intervalle de temps – (B) : les fonctions d'autocorrélation d'un échantillon de foie de porc testé après une durée de conservation de 2 heures à 4°C.....	103
Figure 68. Exemple de test de répétabilité sur du parenchyme hépatique porcin. Pour chaque échantillon trois fonctions d'autocorrélation sont enregistrées.....	104
Figure 69. Répétabilité des mesures sur foie de porc frais : Cv (%) Coefficient de variation des essais. ....	104
Figure 70. Reproductibilité du foie de porc : Fonctions d'autocorrélation moyennes obtenues à 3 jours de test différent (7 essais/jour) .....	105
Figure 71. Reproductibilité des essais sur foie de porc conservé à plus de 2h au frais dans le liquide physiologique : Coefficient de variation en fonction du temps .....	106
Figure 72. Tests de répétabilité : Fonctions d'autocorrélation de l'intensité diffusée par un échantillon de cerveau de porc. ....	106
Figure 73. Coefficient de variation des tests de répétabilité sur cerveau de porc frais.....	107
Figure 74. Fonctions d'autocorrélation moyennes du cerveau de porc, obtenues à deux jours de test différents (15 échantillons/jour).....	107
Figure 75. Le coefficient de variation des fonctions d'autocorrélation du cerveau de porc obtenues à deux jours différents .....	108
Figure 76. Fonctions d'autocorrélation de 24 échantillons de cortex rénal porcin frais, enregistrée par le même opérateur en utilisant le même mode opératoire à différents jours de test.....	109
Figure 77. (A) la fonction d'autocorrélation moyenne (sur 24 échantillons différents testés dans les mêmes conditions expérimentales par le même opérateur) du cortex rénal porcin frais – (B) le coefficient de variation calculé à partir des résultats de variabilité sur cortex rénal porcin frais .....	110
Figure 78. Fonctions d'autocorrélation de 47 échantillons différents de foie de porc enregistrées dans les mêmes conditions expérimentales à différents jours .....	111
Figure 79. (A) : la fonction d'autocorrélation moyenne sur 47 échantillons différents testés dans les mêmes conditions expérimentales par le même opérateur du foie porcin frais – (B) : le coefficient de variation calculé à partir des résultats de variabilité sur foie de porc frais. ....	111
Figure 80. Fonctions d'autocorrélation (25) du cerveau de porc frais enregistrées à différents jours de tests sur des échantillons à même état de fraîcheur. ....	112

Figure 81. A : la fonction d'autocorrélation moyenne du cerveau de porc (sur 25). B : Le coefficient de variation des essais de variabilité sur cerveau de porc frais .....	113
Figure 82. Comparaison des fonctions d'autocorrélation moyennes du cortex rénal porcin, du parenchyme hépatique et du cerveau de porc frais. ....	115
Figure 83. Les modules de cisaillement élastique et visqueux $G'$ et $G''$ du rein du foie et du cerveau de porc (Nicolle, 2010).....	116
Figure 84. Comparaison de la viscosité mesurée par rhéométrie du rein, du foie et du cerveau de porc avec celle calculée à partir des résultats de DWS.....	118
Figure 85. Effet du séchage sur le module de stockage ( $G'$ en haut) et de perte ( $G''$ en bas) tracés en fonction de la fréquence (Nicolle, 2010).....	119
Figure 86. Etude de l'effet de la déshydratation sur le spectre de DWS : Fonctions d'autocorrélation moyennes d'échantillons fraîchement découpés considéré comme référence, et ceux hydratés avec du sérum physiologique, comparées aux fonctions d'autocorrélations d'échantillons séchés à l'air libre pendant 30 minutes. ....	120
Figure 87. Fonction d'autocorrélation $g_1(t)$ à différent flux sanguin, représenté en supprimant les données correspondant au temps $t > 1ms$ pour une meilleur visibilité de l'effet de la variation du flux sanguin. (Ninck, 2010).....	121
Figure 88. Évolution de la fonction d'autocorrélation du cortex rénal porcin au cours de la dégénérescence.....	122
Figure 89. Coefficient de variation calculé à partir des résultats de l'étude de la dégénérescence du cortex rénal comparé à la reproductibilité. ....	123
Figure 90. Fonctions d'autocorrélation du cortex rénal porcin enregistrée à différents stades de dégénérescence pour des échantillons conservés dans le liquide physiologique à température ambiante. ....	124
Figure 91. Comparaison du coefficient de variation des résultats obtenus sur le cortex rénal porcin à différents stades de dégénérescence pour des échantillons conservés à température ambiante .....	125
Figure 92. (En noir) la moyenne et l'écart type du module de cisaillement avant et après conservation à température ambiante pendant 2 jours. (En Gris) les courbes obtenues dans chaque cas. (Ternifi, 2013).....	126
Figure 93. Les variations de la fonction d'autocorrélation du cortex rénal porcin enregistrées au cours de la conservation dans le liquide physiologique à 25°C et à 4°C .....	126
Figure 94. Les fonctions d'autocorrélation moyennes enregistrées pour les différents milieux d'étude (lait, suspension, mousse, tissus biologiques).....	132
Figure 95. (A) les étapes de la découpe du foie de porc avec une épaisseur de 4mm. (B) du cerveau de porc avec une épaisseur de 4mm. (C) du cortex rénal porcin avec une épaisseur de 4mm et un diamètre de 16mm .....	136
Figure 96. Les modifications apportées au socle inférieur du rhéomètre .....	157
Figure 97. Mise en place de l'équerre (support des fibres optiques) .....	158
Figure 98. Support droit de l'équerre pour fixation de la fibre émettrice.....	158
Figure 99. Support incliné de l'équerre où sera fixée la fibre réceptrice.....	158
Figure 100. Résultat final des changements du socle inférieur du rhéomètre avec les supports des fibres optiques .....	158

## Introduction

Nombre d'études sur la caractérisation des tissus biologiques mous ont été menées pour des applications en biomécanique des chocs (au cours d'un chargement mécanique) ou dans le domaine biomédical (au cours de l'évolution d'une pathologie). Ces études ont permis de mieux comprendre le comportement mécanique macroscopique de ces matériaux biologiques en sollicitation, ceci en utilisant des techniques très répandues pour l'étude de tels milieux comme la rhéologie.

Cette dernière a permis de mieux comprendre la déformation de tissus provenant d'organes humains ou animaux sous l'effet de contrainte appliquée à l'aide d'un rhéomètre. Le module de cisaillement et la viscosité du milieu étudié en sont généralement extraits.

Cette technique a l'inconvénient d'être destructive, d'exclure les études in-vivo, et nécessite une préparation des échantillons et un temps de mesure non négligeable.

Afin de pallier ces limitations et de compléter cette première approche une technique innovante, plus rapide, sensible aux changements de la microstructure, non destructive, et peu invasive a été envisagée. C'est la technique de diffusion dynamique de la lumière (Diffusing Wave Spectroscopy : la DWS).

La diffusion simple a été utilisée pour des milieux où les photons subissent un seul événement de diffusion. Ce cas concerne des échantillons très dilués, et permet d'extraire la taille des diffuseurs.

La diffusion multiple concerne des milieux plus concentrés où les photons subissent plusieurs événements de diffusion avant d'être détectés. Elle a été développée et utilisée récemment (années 2000) pour la caractérisation d'échantillons subissant des changements de la microstructure au cours d'un procédé donné, en particulier dans le domaine de l'agroalimentaire pour le suivi de la fabrication des yaourts (LS-Instruments-AG, 2011), ou les propriétés des suspensions de lait concentré (Alexander, 2002).

La diffusion dynamique de la lumière est aussi nommée micro-rhéologie (Cipelletti, 2009), sonde le mouvement brownien de petites particules dans un matériau donné duquel sont déduites les propriétés mécaniques de la matrice dans laquelle baignent ces particules diffusantes. Elle est d'une très grande utilité pour l'étude des propriétés mécaniques des matériaux fragiles et complexes, tels que les gels à structure faible (yaourt, cosmétiques...), qui sont difficiles à évaluer en rhéométrie conventionnelle car aucune contrainte ne leur est appliquée, ce qui permet d'éviter leur destruction.

Globalement, la diffusion dynamique de la lumière est envisagée dans deux cas d'études (Formulation, 2009) :

- En micro-rhéologie passive, où aucune force externe n'est appliquée sur l'échantillon, la seule force locale agissant sur les particules diffusantes la lumière étant due à l'énergie thermique (mouvement brownien). Dans ce cas, on mesure un déplacement quadratique moyen (MSD) des particules au cours du temps. Prenant l'exemple d'un fluide purement visqueux, le déplacement des particules augmentera linéairement avec le temps (le cas du lait par exemple). Dans le cas

d'un fluide élastique, le mouvement des particules sera plus limité par la matrice élastique.

- En micro-rhéologie active qui consiste à appliquer localement une force externe sur le milieu étudié, et à mesurer par DWS les déplacements résultants. Cette technique est plus connue sous le nom de « rhéo-optique ».

Dans ce travail de thèse, nous utiliserons la première configuration (la micro-rhéologie passive) qui a l'avantage de mesurer les propriétés viscoélastiques de particules en mouvement brownien sans application de contrainte externe, et donc sans risques de dégrader la structure de l'échantillon.

Le travail réalisé dans cette thèse est un travail préparatoire à l'étude « rhéo-optique » des tissus biologiques mous. Comme dans tout travail exploratoire, la première tâche est d'évaluer la faisabilité de la technique, en particulier celle de la diffusion de lumière jamais appliquée à ce type de tissus. Pour se faire, le développement du dispositif de mesure s'est focalisé sur le système optique, sans sollicitations extérieures.

Ce rapport est divisé en 4 parties :

- Le premier chapitre est consacré à la bibliographie. Il décrit les deux techniques de caractérisation utilisées indépendamment dans cette étude, la rhéologie et la diffusion dynamique de la lumière, le principe de chacune ainsi que les travaux menés dans la littérature.
- Dans le deuxième chapitre, nous exposerons le protocole expérimental de DWS mis en place, ainsi que son étalonnage et l'étude d'un liquide purement visqueux (le lait) dont le spectre de diffusion est donné par la littérature.
- Le troisième chapitre est dédié à l'étude de milieux de complexité croissante, l'objectif de ce chapitre est de mettre en évidence les limites de la technique de DWS comme technique équivalente à la rhéologie dans le sens où elle permet d'accéder aux propriétés mécaniques macroscopiques des milieux étudiés.
- Le quatrième et dernier chapitre concerne l'étude par DWS de quelques tissus biologiques mous (cortex rénal, parenchyme hépatique et cerveau de porc) et se focalise en particulier sur la répétabilité, la reproductibilité et la variabilité des mesures. Quelques applications spécifiques portent sur la variation du spectre en fonction de l'état d'hydratation du cortex rénal, ainsi qu'au cours de sa dégénérescence pendant une conservation dans le liquide physiologique à 4°C et à 25°C.
- Dans la conclusion, nous dressons un bilan des principaux résultats obtenus et nous proposons des perspectives d'étude qui permettraient d'exploiter cette technique pour l'étude des tissus biologiques mous.

# Chapitre I : Méthodes expérimentales pour une caractérisation des tissus biologiques mous par rhéologie et diffusion de lumière

---

*Ce chapitre est consacré à l'étude bibliographique associée aux deux techniques expérimentales exploitées au cours de ce travail de thèse pour mieux comprendre les mécanismes de déformation des tissus biologiques mous : la rhéologie largement utilisée pour la détermination des propriétés macroscopiques en cisaillement de milieux viscoélastiques en général, et la diffusion multiple de la lumière capable de sonder la dynamique interne de ces mêmes milieux. La diffusion de lumière est dans ce sens une technique complémentaire à la rhéométrie.*

*En fin de chapitre, un bref aperçu de la rhéo-optique qui combine les deux sera présentée comme une perspective.*

*D'une synthèse de ce chapitre découleront les objectifs de cette thèse.*

## 1. La rhéologie

### 1.1 Principe de la technique

L'objectif de la mesure en rhéologie est d'identifier les propriétés viscoélastiques d'un matériau soumis à une déformation de cisaillement. Les principales grandeurs utilisées sont : la contrainte notée  $\tau$ , les modules visqueux (de perte) et élastiques (de conservation) notés  $G''$  et  $G'$  respectivement, la viscosité notée  $\eta$  et la déformation notée  $\gamma$ .

Expérimentalement, le contrôle de la contrainte ou de la déformation appliquée à un échantillon donné, est réalisé à l'aide d'un rhéomètre.

Schématiquement, le dispositif de mesure d'un rhéomètre est composé d'une partie mobile et d'une partie fixe entre lesquelles est placé l'échantillon. La partie mobile, dénommée « le rotor » (dans le cas d'un rhéomètre rotatif), permet de transmettre à l'échantillon la sollicitation souhaitée (une contrainte, une déformation, une vitesse de déformation), et de déterminer simultanément sa réponse associée via la mesure du couple résistant, lorsqu'une déformation ou une vitesse de déformation est appliquée, ou de l'angle de rotation, lorsqu'une contrainte est appliquée. L'ensemble des informations d'entrée et de sortie sont recueillies afin de calculer les propriétés viscoélastiques de l'échantillon dont l'expression dépend de la sollicitation appliquée et du rapport contrainte/déformation ou déformation/contrainte effectué (module de cisaillement complexe, fonction de fluage, module de relaxation, etc). La partie fixe, dénommée « le stator », comprend le système de régulation et de contrôle de la température.

### 1.2 Rhéologie des matériaux biologiques mous

Dans cette partie, les résultats de travaux antérieurs sur le comportement viscoélastique des matériaux biologiques mous sont exposés. Dans une première section, nous aborderons la description de leur comportement linéaire (indépendant de la déformation appliquée), puis dans une deuxième section celle du comportement non linéaire (dépendant de la déformation appliquée). Une approche analytique sera évoquée dans chaque cas.

#### 1.2.1. Comportement viscoélastique linéaire

Dans ce régime les propriétés mécaniques du tissu reste indépendantes de la déformation qu'il subit. A partir d'un certain niveau de déformation, le comportement dépend de la déformation appliquée et le régime est alors dit non linéaire. Cette limite de viscoélasticité a été étudiée et varie suivant le tissu, elle est de 1% pour le tissu cérébral [ (Brands, 1999) ; (Nicolle, 2004)] et respectivement de ~10% et ~40% pour le rein et le foie (Nicolle, 2010).

Parmi les principales études menées sur le comportement linéaire des organes parenchymateux, nous pouvons rapporter les travaux de Galford (1970) , Liu (1997) , Brands (1999) et Nicolle (2005) sur le cerveau, ceux de Farshad (1999) , Phan-Thien (2000), Nasserri (2002) et Nicolle (2010) sur le rein et ceux de Liu (2000), Kiss (2004) et Nicolle (2010) sur le foie (Voir la Figure 1).

Sur la base de ces données expérimentales, des modèles rhéologiques de type Maxwell ou Kelvin-Voigt généralisés ont été proposés (Galford, 1970) ; (Advani, 1972) ; (Liu, 2000) ; (Nicolle, 2004). Bien que ces modèles soient très attractifs, notamment du fait de leur simplicité d'utilisation, le nombre de paramètres peut être élevé et choisi de manière relativement arbitraire. Des variantes ont alors été utilisées parmi lesquelles se trouvent les modèles dits fractionnaires qui remplacent l'ordre entier des dérivées temporelles de la contrainte et de la déformation dans l'équation rhéologique d'état par un ordre fractionnaire (Suki, 1994) ; (Kiss, 2004) ; (Foegeding, 2006) ; (Nicolle, 2010).

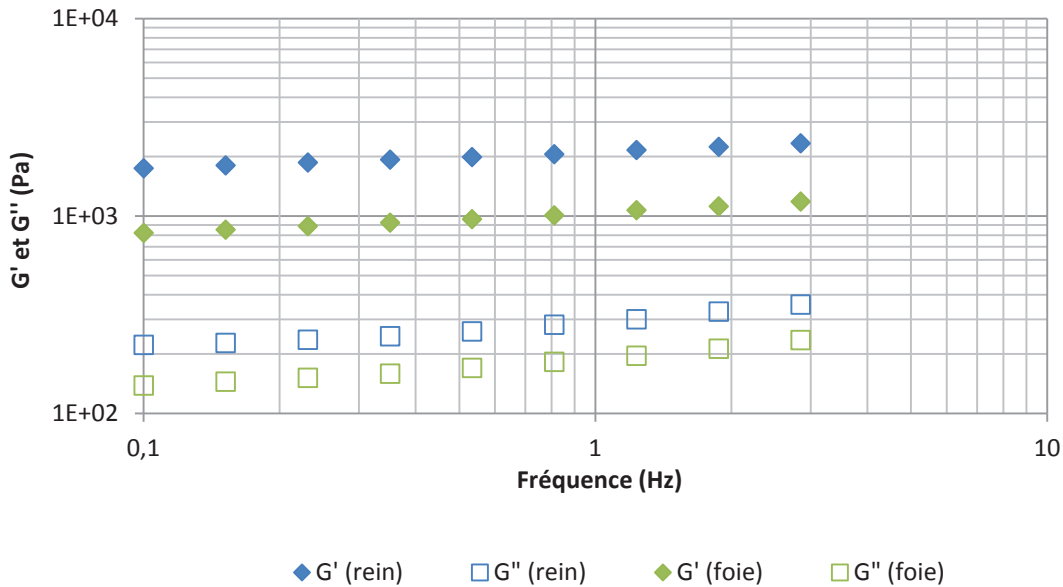


Figure 1. Module de conservation  $G'$  et module de perte  $G''$  du cortex rénal de porc et du parenchyme hépatique de porc (Nicolle, 2010).

De ces différentes études, il ressort qu'aux petites déformations, tous les tissus parenchymateux présentent un comportement similaire avec une faible dépendance à la fréquence tout en ayant des niveaux de rigidité différents.

En effet, comme le montre la Figure 1, le rein apparaît plus rigide que le foie bien que l'évolution fréquentielle des modules soit similaire. Le résultat d'autres études montre également que le comportement de la rate, du pancréas et du cerveau obéit à la même loi de comportement tout en étant plus mous (voir Figure 2).



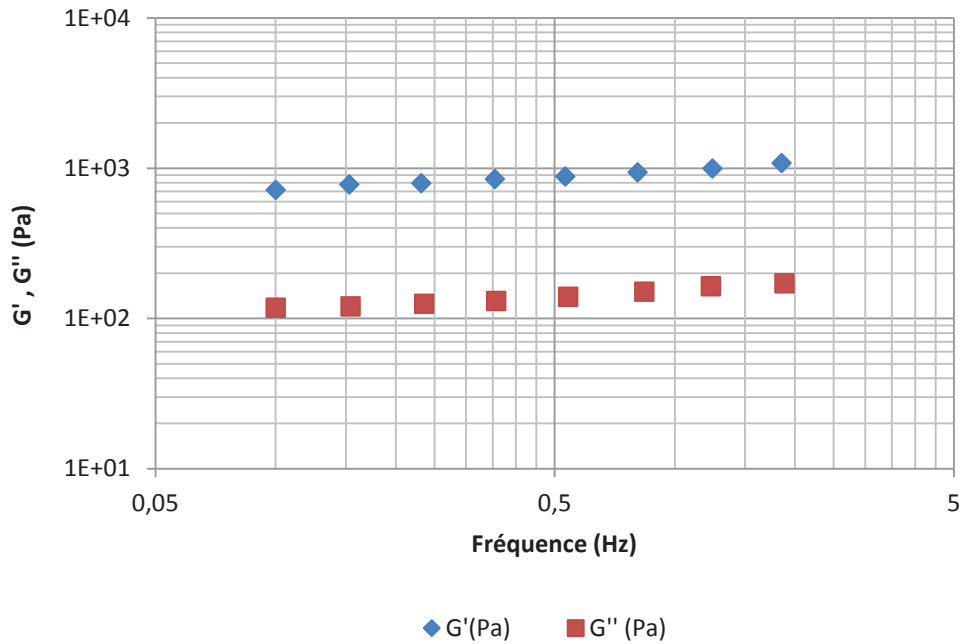


Figure 2. Module de conservation  $G'$  et module de perte  $G''$  de la rate de porc en fonction de la fréquence (les modules représentent la moyenne de 38 tests) (Nicolle, 2012)

### 1.2.2. Comportement viscoélastique non linéaire

Les chercheurs se sont rapidement intéressés au comportement des tissus mous aux grandes déformations et parmi les organes parenchymateux, le cerveau est sûrement le plus étudié (Galford, 1970) , (Advani, 1972) , (Mendis, 1995) , (Miller, 1997) , (Margulies, 2002) , (Nicolle, 2005) , (Foegeding, 2006). L'étude des autres organes est un petit peu plus récente : poumon (Suki, 1994) ; foie (Liu, 2000) , (Mazza, 2008); rein (Farshad, 1999) , (Nasser, 2002) ; divers organes de l'abdomen (Tamura, 2002) , (Brown, 2003) , (Kim, 2010). On constate alors des différences remarquables dans les résultats obtenus aux grandes déformations. En effet, le cerveau semble se ramollir (Prange, 2000) , (Margulies, 2002); alors que les autres organes (rein, foie) se rigidifient (Sparks, 2008).

A partir de ces observations expérimentales, des lois de comportement ont été élaborées. Les pionniers ont considéré une théorie d'élasticité non linéaire basée sur les modèles de Mooney-Rivlin (1940). Ces modèles ne sont pas complètement représentatifs des tissus biologiques mous du fait qu'ils négligent leurs caractéristiques visqueuses qui rendent leur comportement sensible à la vitesse de chargement.

Afin de pallier cette faiblesse, d'autres modèles non linéaires tenant compte du caractère visqueux ont été élaborés. Parmi ces modèles, le plus utilisé est certainement le modèle viscoélastique quasi-linéaire de Fung (1976), (1993). Beaucoup de chercheurs ont utilisé cette loi comme support de leurs travaux (Kauer, 2001) , (Tamura, 2002) , (Mazza, 2008).

D'autres modèles ont également été proposés. On trouve le plus souvent les modèles visco-hyperélastiques basés sur les équations de Mooney-Rivlin (Mendis, 1995) , (Miller, 1997) , (Miller, 2000) , (Snedeker, 2005) et d'Ogden (Nicolle, 2004).



Outre ces lois basées sur des modèles hyperélastiques, il en existe d'autres qui trouvent leur fondement dans la théorie viscoélastique. C'est le cas de la loi développée par Nicolle (2010) qui permet de décrire le comportement du foie et du rein aux grandes déformations avec des paramètres matériels ayant une signification physique.

Comme indiqué précédemment, le comportement des tissus mous devient non linéaire à partir d'un certain niveau de déformation spécifique au tissu étudié. Les effets non linéaires dans le comportement du cortex rénal et du parenchyme hépatique sont illustrés dans la Figure 3.

De même pour la rate, elle représente un comportement non linéaire à grande déformation, la Figure 4 illustre son comportement non-linéaire.

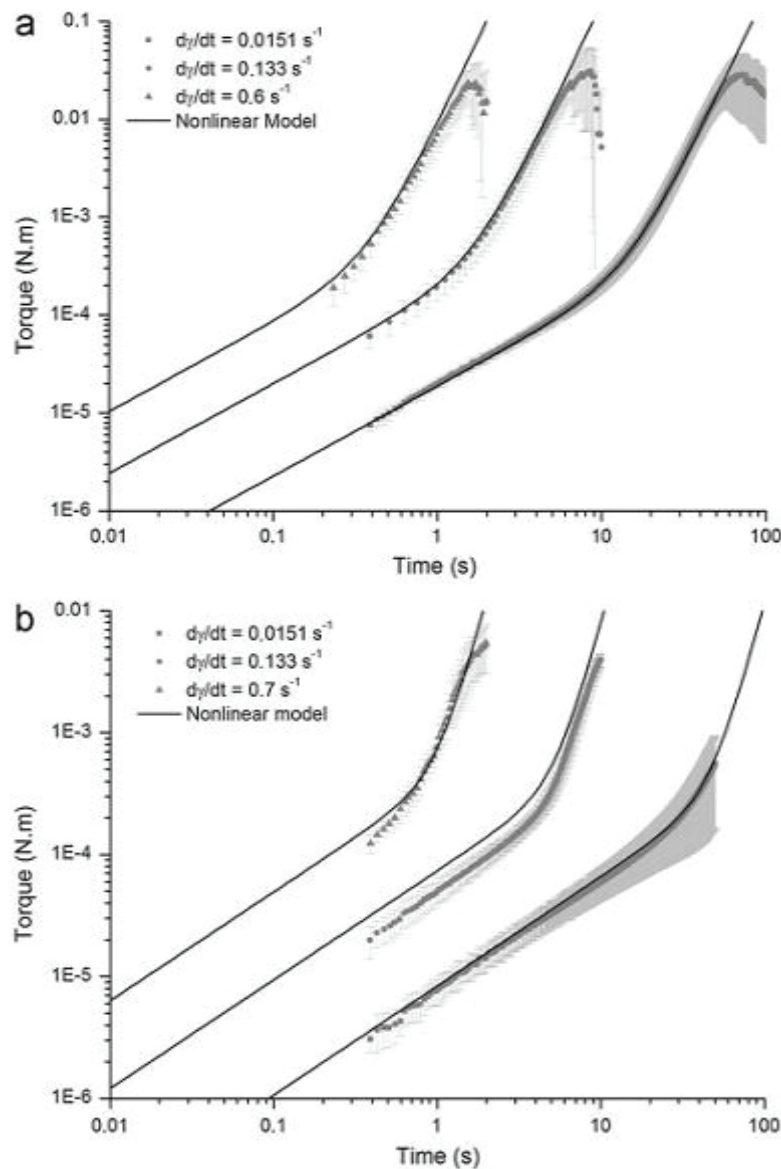


Figure 3. (a) : comportement non linéaire du cortex rénal porcin à trois vitesses de déformation constantes : 0.0151, 0.133 et  $0.6 \text{ s}^{-1}$ . (b) : comportement non linéaire du foie de porc à trois vitesses de déformation : 0.0151, 0.133 et  $0.7 \text{ s}^{-1}$ . Dans les deux cas un modèle de comportement non-linéaire est représenté. (Nicolle, 2010)

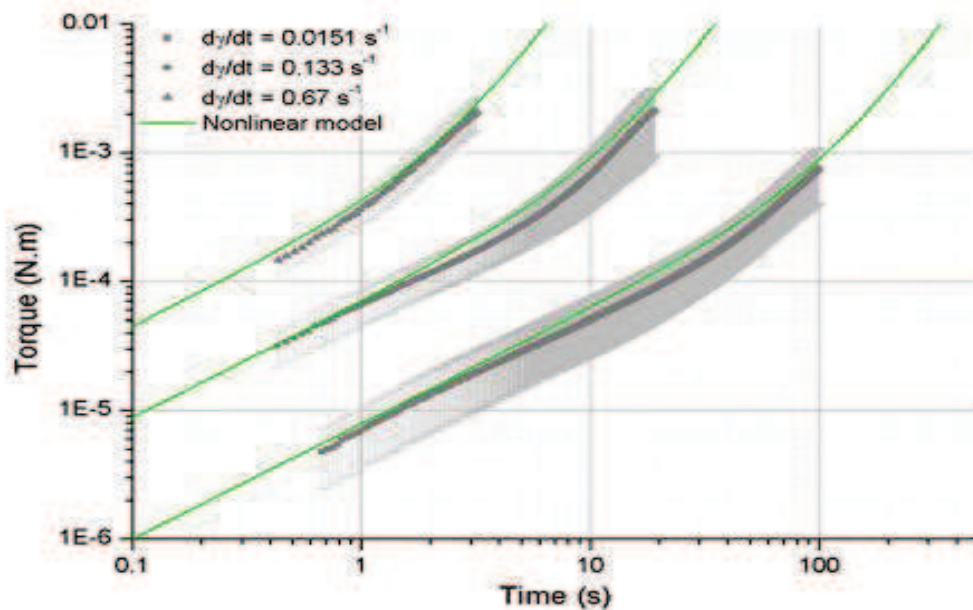


Figure 4. Comportement non linéaire de la rate de porc à trois vitesses de déformation différentes : 0.0151, 0.133 et 0.67 s<sup>-1</sup>. (Nicolle, 2012)

### 1.3 Autres techniques de caractérisation mécanique

Différentes techniques, autre que la rhéologie, sont actuellement en cours de développement pour aider à une meilleure caractérisation des tissus biologiques. Ces nouvelles techniques reposent sur des outils d'imagerie médicale, telles que l'imagerie par Résonance Magnétique (IRM) ou l'imagerie par ultrasons.

L'élastographie connaît un essor particulièrement important.

En effet, la présence d'une pathologie modifie les propriétés mécaniques des tissus concernés, à titre d'exemple, les tissus cancéreux sont plus durs que les tissus sains environnants (Basset, 2009). Une cartographie relative à l'élasticité des tissus examinés est donc d'un grand intérêt pour contribuer au diagnostic.

L'élastographie par ultrasons peut considérer une contrainte quasi-statique ou dynamique.

- Si l'on applique une contrainte quasi-statique, le champ de déformation est directement estimé à partir des images ultrasonores enregistrées au cours de la compression. Les régions saines (molles) se déforment plus que celles pathologiques (rigides), on peut donc accéder aux propriétés élastiques locales du milieu.

- Si l'on applique une contrainte dynamique, le module de cisaillement ( $G$ ) est alors estimé, car il influence la vitesse de propagation des ondes de cisaillement dans le tissu.

L'élastographie par résonance magnétique a été proposée pour étudier les propriétés mécaniques des tissus mous (Robert, 2009). Cette technique consiste à étudier la vitesse de propagation d'ondes de cisaillement, afin d'estimer le paramètre de l'élasticité qui est le module de cisaillement :  $G$ .

Une bonne compréhension des mécanismes de déformation d'un tissu biologique ne peut se limiter à une description de son comportement macroscopique. L'origine du comportement doit être recherchée à l'échelle mésoscopique, en sondant le mouvement et la déformation des différents éléments constituant le tissu. Dans le cas d'un cancer par exemple, les cellules prolifèrent anormalement au sein du tissu et se divisent indéfiniment, une caractérisation microscopique de ce milieu est d'une grande importance pour le diagnostic de telle pathologie.

La diffusion dynamique de la lumière est un des outils potentiellement capables de fournir de telles informations. Elle repose sur les règles qui régissent l'interaction entre la lumière et les particules du milieu illuminé qu'il s'agit maintenant de présenter.

## **2. Caractérisation des tissus biologiques par diffusion multiple de lumière**

### **2.1 Introduction à la diffusion de lumière**

La diffusion simple de la lumière est une technique classique qui permet d'analyser les interactions entre un photon et une seule particule (Pecora, 1976). De nombreux ouvrages (Berne, 2000), (Brown, 1993), (Pine, 1990), (Brown, 1996), (Sidney, 1981), (Pike, 1997), (Hulst, 1957) expliquent en détails les divers mécanismes qui entrent en jeu lorsqu'un photon est diffusé par la matière (Chu, 1991).

Le montage classique consiste à focaliser un faisceau laser de longueur d'onde  $\lambda$  au centre d'un échantillon, et de recueillir la lumière diffusée en plaçant un détecteur à un angle  $\theta$  du faisceau incident (Figure 5).

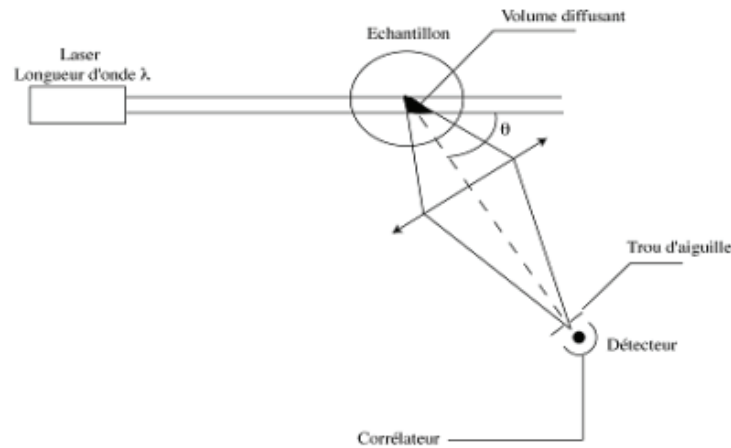


Figure 5. Montage classique de diffusion de lumière, composé d'une source laser, d'un détecteur de la lumière diffusée, et d'un corrélateur (Suissa, 2006)

Le vecteur d'onde  $\vec{q}$  est donné par l'équation suivante :

$$\vec{q} = \frac{4n\pi}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad \text{Équation 1}$$

Où «  $\lambda$  » est la longueur d'onde du laser, et «  $n$  » est l'indice de réfraction.

L'analyse des fluctuations de l'intensité diffusée à des angles de détection différents, apporte des informations sur la dynamique interne du milieu. Ceci est obtenu à partir de la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée normalisée, notée  $g_2(t)$

$$g_2(t, q) = \frac{\langle I(0, q)I(t, q) \rangle}{\langle I(t, q) \rangle^2} \quad \text{Équation 2}$$

Où «  $I$  » est l'intensité de la lumière diffusée, «  $q$  » le vecteur d'onde, «  $t$  » le temps de mesure, et  $\langle \rangle$  signifie la moyenne temporelle de l'intensité.

Cette fonction est comprise entre 2 et 1, et est reliée à la fonction d'autocorrélation du champ électrique notée  $g_1(t)$ , par la relation de Siegert :

$$g_2(t, q) = 1 + \beta |g_1(t, q)|^2 \quad \text{Équation 3}$$

Où  $\beta$  représente la fonction de l'appareil du système comprise entre 0 et 1.

Cette fonction  $g_1(t)$  s'écrit

$$g_1(t, q) = \exp\left[-q^2 \frac{\langle \Delta r^2(t) \rangle}{6}\right] \quad \text{Équation 4}$$

Où  $\langle \Delta r^2(t) \rangle$  représente le déplacement quadratique moyen des diffuseurs. Les variations de  $\langle \Delta r^2(t) \rangle$  sont déduites du spectre de la fonction d'autocorrélation  $g_2(t)$  en utilisant cette équation.

Cette technique n'est valable que lorsque le photon est diffusé une seule fois par une seule particule avant d'être détecté, ce qui limite son utilisation à des solutions très diluées, ou des milieux très peu diffusants. Elle a été utilisée en biologie pour étudier une cellule vivante. La Figure 6 montre la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée par le cytoplasme d'une cellule vivante.

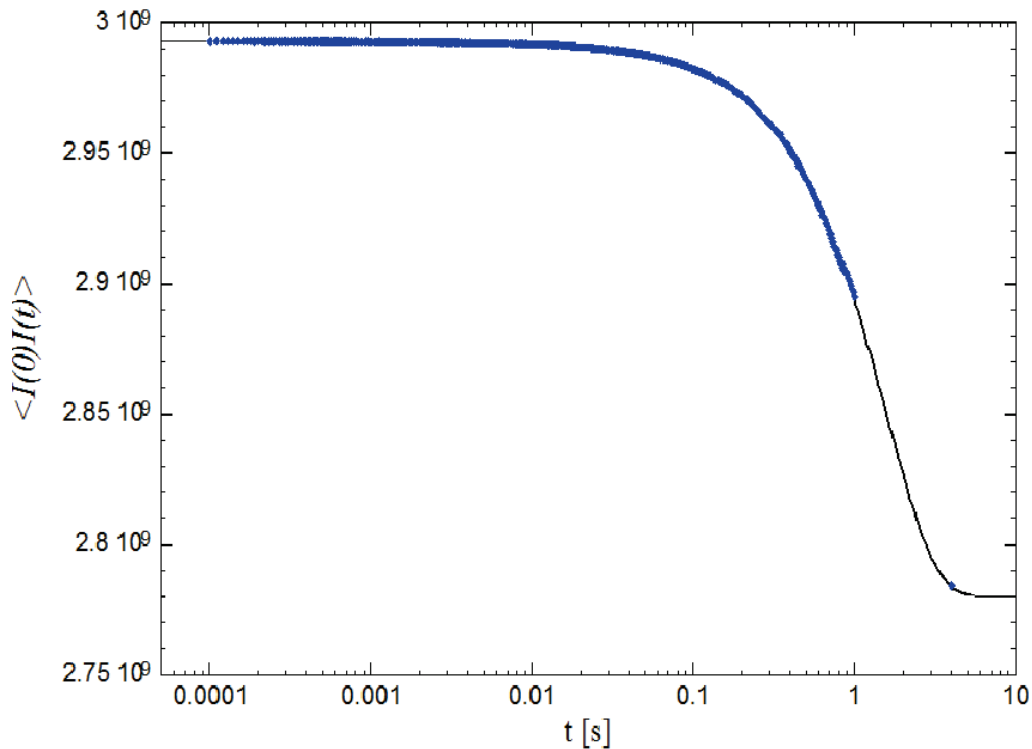


Figure 6. Fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée ( $g_2(t)$ ) du cytoplasme d'une cellule vivante (Suissa, 2006)

Pour des milieux plus concentrés, la technique la plus adaptée est la diffusion multiple de la lumière ou Diffusive Wave Spectroscopy (DWS), dont nous allons développer le principe dans le paragraphe suivant.

## 2.2 Principe de la diffusion multiple de la lumière

La technique de diffusion multiple de la lumière, développée par Pine (1988), supplante la technique de diffusion simple pour des milieux fortement diffusants, turbides et opaques. Elle est particulièrement adaptée à l'étude des suspensions dans lesquelles les particules sont suffisamment petites pour que l'agitation thermique soit importante, voire prépondérante, et à l'étude d'autres milieux fortement diffusants dans lesquels un photon est diffusé de nombreuses fois par un grand nombre de particules avant d'être détecté.

Dans un milieu turbide concentré, les variations locales de la concentration ou de l'organisation spatiale des éléments le constituant provoquent des modulations locales de l'indice de réfraction (Pecora, 1976). Par conséquent, en illuminant un tel milieu les

photons seront diffusés plusieurs fois et la lumière diffusera dans toutes les directions, ce qui donne lieu aux variations temporelles de l'intensité diffusée.

L'étude de ces variations apporte des informations sur la dynamique des processus à l'origine de ces fluctuations dans le milieu étudié.

De la même manière qu'en diffusion simple, la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée  $g_2(t)$  nous permet d'analyser ces fluctuations. Son équation (qui sera développée dans le chapitre suivant) est proche de celle définie en diffusion simple, excepté qu'en diffusion multiple, le vecteur d'onde va disparaître étant donné qu'aucune information ne peut plus être extraite sur les particules individuelles.

### 2.2.1. Les configurations possibles

Dans l'étude de diffusion multiple de la lumière, deux configurations sont possibles. Les photons seront diffusés de nombreuses fois, et ils peuvent soit traverser tout l'échantillon avant d'être captés (transmission), soit ressortir du même côté que les photons incidents (rétrodiffusion). Le choix de la configuration se fait en fonction du montage et des besoins expérimentaux, ainsi que de la structure à étudier et des caractéristiques recherchées. Le système de détection et le principe de la mesure restent en revanche les mêmes.

#### 2.2.1.1 Transmission

Dans cette configuration, l'intensité est captée du côté opposé au laser incident. Le plus court chemin est donc imposé par l'épaisseur  $L$  de l'échantillon et les photons collectés sont ceux qui ont parcouru une distance supérieure ou égale à  $L$ . (Voir Figure 7)

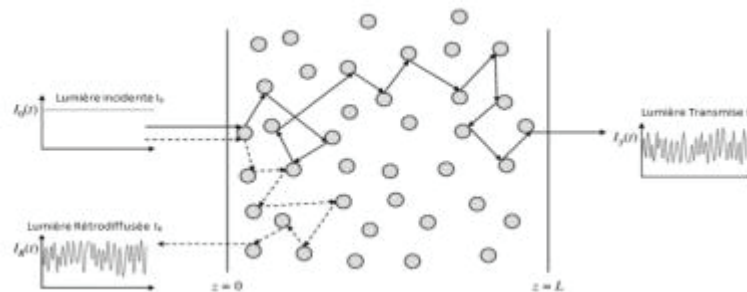


Figure 7. Les configurations possibles pour l'étude en diffusion de lumière (Tourbin, 2006)

#### 2.2.1.2 Rétrodiffusion

Dans cette configuration la réception des photons diffusés par l'échantillon se fait du même côté que l'illumination de ce dernier. Les photons réceptionnés peuvent donc parcourir un court chemin avant d'être détectés ou de longues distances avant de finalement ressortir du même côté que la lumière incidente, comme le montre la Figure 7.

Cette configuration est préférable dans le cas des milieux épais et très diffusants où l'intensité transmise par l'échantillon est très faible.

### 2.2.2. La fonction d'autocorrélation

Une fonction d'autocorrélation permet de comparer le signal avec lui-même dans un court intervalle de temps. En diffusion de lumière, la fonction d'autocorrélation d'intérêt est celle de l'intensité diffusée, notée  $g_2(t)$ .

#### 2.2.2.1. La fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée $g_2(t)$

Cette fonction permet de caractériser les variations de l'intensité de la lumière diffusée qui reflètent les informations liées à la dynamique du milieu traversé. (Monti, 2010)

$$g_2(t) = \frac{\langle I(0)I(t) \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} \quad \text{Équation 5}$$

Où  $I(0)$  et  $I(t)$  représentent les intensités mesurées aux instants 0 et t.

Cette fonction normalisée et décroissante est comprise entre 2 et 1.

#### 2.2.2.2. La fonction d'autocorrélation du champ électrique $g_1(t)$

La fonction d'autocorrélation du champ électrique est reliée à la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée par la relation de Siegert (voir équation 4).

Dans le cas où une fibre optique est utilisée,  $\beta = 1$  et la relation devient :

$$g_2(t) = 1 + |g_1(t)|^2 \quad \text{Équation 6}$$

Lors d'un essai de diffusion de lumière, l'échantillon à tester est illuminé par une lumière incidente avec un vecteur d'onde  $K_0^2$ . Chaque photon détecté aura effectué au sein de l'échantillon une marche aléatoire d'un pas «  $l^*$  » dont la longueur totale est notée « s ». Il existe une distribution statistique des longueurs parcourues caractérisées par la distribution «  $P(s)$  » qui dépend de la configuration choisie et qui sera explicitée plus tard. Pour calculer la fonction d'autocorrélation du champ électrique, il faut effectuer une intégrale sur toutes les longueurs des chemins possibles.

L'expression générale de  $g_1(t)$  est donc:

$$g_1(t) = \int_0^\infty P(s) e^{[-\frac{K_0^2}{3} \langle \Delta r^2(t) \rangle \frac{s}{l^*}]} ds \quad \text{Équation 7}$$

$\langle \Delta r^2(t) \rangle$  représente le déplacement quadratique moyen des éléments diffuseurs au cours du temps.

Cette équation signifie que chaque pas effectué par un photon dans le milieu diffusant contribue à la décorrélation du champ électrique (effet cumulatif), et donc à la décroissance de  $g_1(t)$  d'une quantité  $\exp(-K_0^2/3 \langle \Delta r^2(t) \rangle)$ .

Le terme  $P(s)$  tient compte de la distribution statistique de l'ensemble des chemins parcourus.



La distribution  $P(s)$  dépend principalement de la configuration de diffusion utilisée. Si la lumière diffusée est récupérée du côté opposé à la lumière incidente (en transmission), la distribution  $P(s)$  est faible car le chemin parcouru par un photon est supérieur ou égal à l'épaisseur de l'échantillon testé et seuls les photons qui ont parcouru toute l'épaisseur avant de sortir sont détectés.

Alors qu'en rétrodiffusion, lorsque la lumière diffusée est récupérée du même côté que la lumière incidente, la distribution  $P(s)$  est très large, puisqu'on tient compte des photons qui ont fait une très grande distance avant de sortir ainsi que ceux qui ont parcouru de très courtes distances avant de ressortir du même côté que la lumière incidente. Cette configuration est la plus compliquée.

En transmission, l'équation de la fonction d'autocorrélation du champ électrique est décrite par Pine (1990)

$$g_1(t) \approx \frac{\left(\frac{L}{l^*} + \frac{4}{3}\right) \sqrt{\frac{6t}{\tau}}}{\left(1 + \frac{8t}{3\tau}\right) \sinh\left[\left(\frac{L}{l^*}\right) \sqrt{\frac{6t}{\tau}}\right] + \frac{4}{3} \sqrt{\frac{6t}{\tau}} \cosh\left[\left(\frac{L}{l^*}\right) \sqrt{\frac{6t}{\tau}}\right]} \quad \text{Équation 8}$$

Dans une configuration de rétrodiffusion, la formule  $g_1(t)$  devient (Hemar, 2003)

$$g_1(t) = \frac{\sinh\left[\left(\frac{L-z_0}{l^*}\right) \sqrt{\frac{6t}{\tau}}\right] + \frac{2}{3} \sqrt{\frac{6t}{\tau}} \cosh\left[\left(\frac{L-z_0}{l^*}\right) \sqrt{\frac{6t}{\tau}}\right]}{\left(1 + \frac{8t}{3\tau}\right) \sinh\left[\left(\frac{L}{l^*}\right) \sqrt{\frac{6t}{\tau}}\right] + \frac{4}{3} \sqrt{\frac{6t}{\tau}} \cosh\left[\left(\frac{L}{l^*}\right) \sqrt{\frac{6t}{\tau}}\right]} \quad \text{Équation 9}$$

Ou en fonction du déplacement quadratique moyen (Cucheval, 2009)

$$g_1(t) = \frac{\frac{L/l^* + 4/3}{z_0/l^* + 2/3} \left\{ \sinh\left[\frac{z_0}{l^*} \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle}\right] + \frac{2}{3} \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle} \cosh\left[\frac{z_0}{l^*} \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle}\right] \right\}}{\left(1 + \frac{8t}{3\tau}\right) \sinh\left[\frac{L}{l^*} \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle}\right] + \frac{4}{3} \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle} \cosh\left[\frac{L}{l^*} \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle}\right]}$$

Où

$L$  : l'épaisseur de l'échantillon

$l^*$  : le libre parcours moyen de transport, qui est la distance au bout de laquelle la direction de propagation des photons devient aléatoire.

$Z_0$  : la longueur de pénétration

$t$  : le temps de mesure



$\tau$  : le temps de relaxation caractéristique, qui est directement lié au coefficient de diffusion du milieu étudié  $D$  par la relation:  $\tau = \frac{1}{DK_0^2}$ , avec  $K_0^2 = \frac{2\pi}{\lambda}$ . Ceci est valable pour des particules à mouvement brownien.

### 2.2.2.3. Le corrélateur

Le corrélateur permet la comparaison de l'intensité diffusée par l'échantillon avec elle-même sur un très court intervalle de temps.

Pour réaliser cela, le corrélateur échantillonne le temps  $t$  en  $N$  intervalles de temps, dont le  $i$ ème a une longueur  $\Delta t_i$ . Le signal délivré étant une série d'impulsions, chacune d'elles signalant la détection d'un photon, l'intensité de la lumière diffusée pendant cet intervalle est le nombre de photons comptés pendant  $\Delta t_i$ , qui est notée :  $n_i$ .

$$\tilde{C}(\tau_j) = \lim_{N \rightarrow \infty} \frac{N_j}{N} = \lim_{N \rightarrow \infty} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N n_i n_{i-1}, j = 1, 2, 3, \dots, M \quad (\text{BI9000AT, 1999})$$

Où  $M$  est le nombre de temps de décalage.

La fonction d'autocorrélation tracée est donc la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée  $I(t)$ , et qui s'écrit :

$$C(\tau) = \langle I(0)I(\tau) \rangle \quad \text{Équation 10}$$

Chacun des points de la fonction  $C$  correspond à la similitude entre la fonction  $I$  et une version décalée d'elle-même d'un temps  $\tau$ .

## 2.3 Etude des spectres

Le spectre obtenu est donc une fonction d'autocorrélation qui est exponentiellement décroissante. A partir de cette dernière, on peut tirer plusieurs informations.

### 2.3.1 Le temps de relaxation

Le temps de relaxation  $\tau_r$  est déduit du spectre d'autocorrélation obtenu sans avoir besoin de le normaliser (Pecora, 1976).

La Figure 8 montre comment ce temps caractéristique (noté  $\tau_A$  sur la figure) est extrait à partir de la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée  $g_2(t)$ .

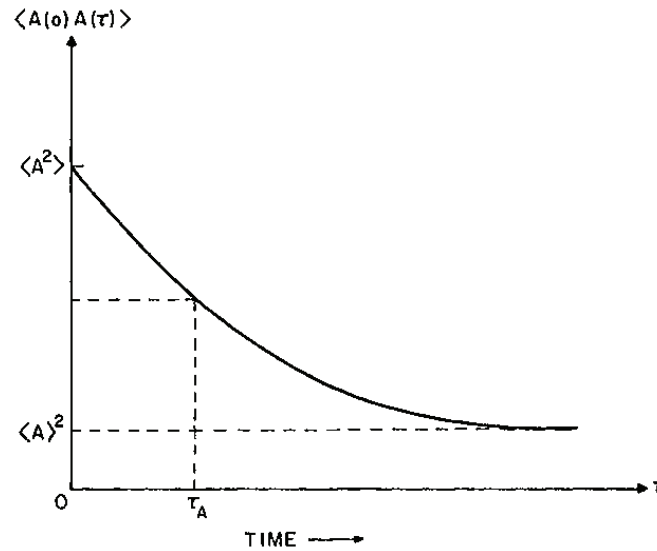


Figure 8. La fonction d'autocorrélation  $\langle I(0) I(t) \rangle$ . Sa valeur initiale est  $\langle I^2 \rangle$ . Pour des temps plus grands que le temps de corrélation, la fonction décroît jusqu'à  $\langle I \rangle^2$ . (Pecora, 1976).

Il renseigne sur le diamètre moyen des particules qui diffusent, car le temps de relaxation est proportionnel à la taille des particules (Tourbin, 2006) comme illustré sur la Figure 9

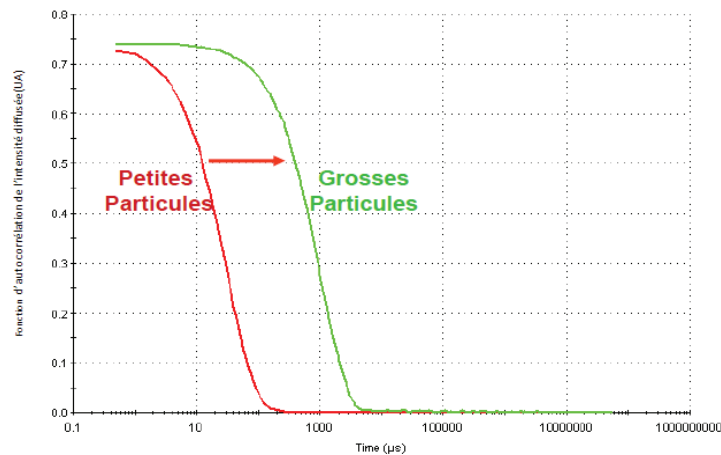


Figure 9. Comparaison de fonction d'autocorrélation pour des petites et des grosses particules (Monti, 2010).

### 2.3.2 Le temps de corrélation

Les fluctuations ne décroissent pas toutes de manière exponentielle. Pour avoir un paramètre caractérisant l'échelle de temps de la décroissance des corrélations, le temps de corrélation  $\tau_c$  a été défini comme suit (Pecora, 1976):

$$\tau_c \equiv \int_0^{\infty} d\tau \frac{\langle \delta A(0) \delta A(\tau) \rangle}{\langle \delta A^2 \rangle} \tag{Equation 11}$$

On constate que pour la décroissance exponentielle :  $\tau_c = \tau_r$ .

En général, le temps de corrélation sera une fonction compliquée de tous les processus de relaxation contribuant à la décroissance de l'intensité.

### 2.3.3 L'angle de descente

L'angle de descente renseigne sur la polydispersité de la distribution. En effet, plus la descente est rapide (petit angle), plus la polydispersité est faible, et inversement (Figure 10).

### 2.3.4 La ligne de base

Les perturbations de la ligne de base nous renseignent sur la présence d'agrégats des éléments diffuseurs (Monti, 2010).

La Figure 10 résume les différentes informations tirées d'une fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée en termes de taille des diffuseurs.

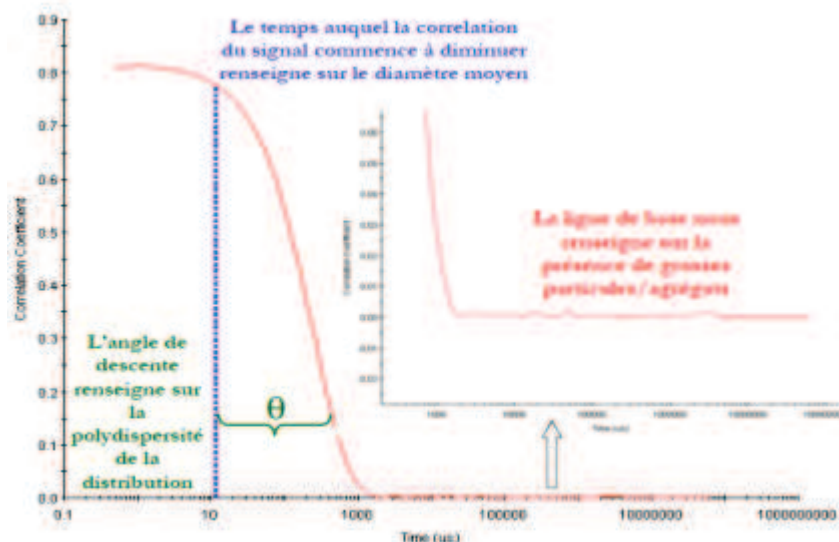


Figure 10. Interprétation de la fonction d'autocorrélation en termes de taille des particules et de polydispersité (Monti, 2010).

## 2.4 Utilisation des spectres pour déduire les propriétés mécaniques

Les premiers tests de diffusion multiple de la lumière (Pine, 1988), (Mason, 1995), (Mason, 1997), (Pinder, 2006) démontrent qu'il est possible de déterminer les propriétés viscoélastiques de milieux complexes tels que les émulsions, les suspensions ou les gels de polymères.

En effet, les fluctuations de l'intensité diffusée par l'échantillon sont dues à la mobilité des particules (mouvement brownien). Les interférences d'ondes rétrodiffusées sont traitées par le corrélateur qui quantifie la vitesse de déplacement des diffuseurs et permet de

tracer la courbe d'autocorrélation. De cette courbe est déduit le déplacement quadratique moyen  $\langle \Delta r^2(t) \rangle$  au cours du temps de chaque particule diffusante, lui-même relié aux propriétés viscoélastiques du matériau (au module de cisaillement en particulier) par le biais de la relation de Stokes-Einstein.

#### 2.4.1 Le déplacement quadratique moyen

Le déplacement quadratique moyen  $\langle \Delta r^2(t) \rangle$  représente la dynamique des particules. En mesurant  $g_1(t)$ , il est possible d'inverser point par point cette fonction pour déterminer le déplacement des éléments diffuseurs de la lumière au cours du temps.

#### 2.4.2 Le module de cisaillement complexe

Le déplacement quadratique moyen est relié aux propriétés mécaniques du matériau. En effet, en faisant la transformée de Laplace de la relation de Langevin (Mason, 1995):

$$m\mathbf{v}'(t) = \mathbf{f}_R(t) - \int_0^t \xi(t - \tau)\mathbf{v}(\tau)d\tau \quad \text{Équation 12}$$

Où  $m$  est la masse de la particule,  $\mathbf{v}(t)$  sa vitesse,  $\mathbf{f}_R(t)$  sont les forces aléatoires agissant sur la particule et où l'intégrale représente la force visqueuse du fluide entourant la particule.

On obtient après une transformation de Laplace:

$$\bar{\mathbf{G}}(\mathbf{s}) = \mathbf{s} \cdot \bar{\boldsymbol{\eta}}(\mathbf{s}) = \frac{\mathbf{s}}{6\pi a} \left[ \frac{6K_B T}{\langle \Delta r^2(\mathbf{s}) \rangle s^2} - m\mathbf{s} \right] \quad \text{Équation 13}$$

Ignorant les effets d'inertie, cette équation s'écrit dans l'espace de Fourier de la manière suivante :

$$\mathbf{G}^*(\omega) = \frac{K_B T}{\pi a i \omega \Im[\langle \Delta r^2(\tau) \rangle]} \quad \text{Équation 14}$$

Où  $\mathbf{G}^*(\omega)$  représente le module de cisaillement complexe du matériau, qui se décompose en une partie imaginaire ( $G''$ , le module de perte ou « module visqueux ») et une partie réelle ( $G'$ , le module de conservation ou « module élastique »).

Avec :

$\Im[\langle \Delta r^2(\tau) \rangle]$  la transformée de Fourier du déplacement quadratique moyen  $\langle \Delta r(\tau)^2 \rangle$ ,

$K_B$  : la constante de Boltzmann.

$T$  : la température en Kelvin.

$a$  : le rayon des particules.

$\omega$  : la pulsation.

En considérant la partie réelle et la partie imaginaire de  $\mathbf{G}^*$ , nous déduisons le module visqueux et le module élastique :  $G''(\omega)$  et  $G'(\omega)$  comme :

$$G''(\omega) = G(\omega) \sin\left[\frac{\pi\alpha(\omega)}{2}\right] \quad \text{Équation 15}$$

Et : 
$$\mathbf{G}'(\omega) = \mathbf{G}(\omega) \cos\left[\frac{\pi\alpha(\omega)}{2}\right]$$
 Équation 16

Avec

$$\mathbf{G}(\omega) = \frac{k_B T}{\pi a \langle \Delta r^2 \left(\frac{1}{\omega}\right) \rangle \Gamma[1 + \alpha(\omega)]}$$

La fonction gamma, notée  $\Gamma$ , est définie comme :

$$\Gamma: \alpha \rightarrow \int_0^{+\infty} t^{\alpha-1} e^{-t} dt$$

Elle peut-être approximée par :

$$\Gamma(1 + \alpha) \approx 0.457(1 + \alpha)^2 - 1.36(1 + \alpha) + 1.90$$

Où

$$\alpha(\omega) = \left| \frac{\partial \ln \langle \Delta r^2(\tau) \rangle}{\partial \ln \tau} \right|_{\tau=\frac{1}{\omega}}$$

Pour plus de détail sur le calcul voir l'annexe E.

## 2.5 Etat de l'art de la DWS

### 2.5.1 Interaction lumière - matériaux biologiques (Bordier, 2006)

« Lorsqu'une source lumineuse interagit avec un tissu biologique, deux phénomènes apparaissent : l'absorption et la diffusion. Cette interaction est fortement dépendante de la longueur d'onde, et suivant la valeur de celle-ci l'onde lumineuse se propagera plus ou moins profondément à l'intérieur du tissu.

Un milieu optique est en général caractérisé par son indice de réfraction : tant que celui-ci reste constant, un rayon lumineux traversera ce milieu suivant une trajectoire bien définie, et ne sera pas dévié.

De nombreux milieux, comme les matériaux biologiques, présentent des fluctuations d'indice sur de petites échelles dues à la présence de structures telles que les noyaux ou les mitochondries des cellules, ce qui entraîne une dispersion de la lumière dans toutes les directions. De nombreux chercheurs ont essayé de caractériser les indices de réfractifs des composantes cellulaires, mais il n'y a pas de valeur définitive pour chaque composante. Les différentes valeurs données dans le Tableau 1 sont tirées de la dissertation d'Andrew Dunn (1998) sur les propriétés de diffusion de la cellule. A l'échelle macroscopique l'indice d'un tissu biologique varie peu et est de l'ordre de 1,40.

Composantes cellulaires	Indice de réfraction
cytoplasme	1.358-1.374
noyaux	1.39-1.41
mitochondries	1.40-1.42

Tableau 1. Indice de réfraction des composantes cellulaires dans le spectre visible (Bordier, 2006).

La propagation de la lumière dans les matériaux biologiques va donc dépendre de cette fluctuation d'indice, mais aussi de l'absorption et de la diffusion. »

### 2.5.2 Effet du laser sur les cellules biologiques

La littérature montre que l'illumination d'une cellule par un faisceau laser peut provoquer des dommages ou des modifications de son comportement (De With, 1995). Ces modifications sont principalement fonction de deux paramètres. Le premier paramètre est la puissance du faisceau, qui si elle est très importante entraînera la mort de la cellule (Suissa, 2006). Le deuxième paramètre qui peut être à l'origine de dommages causés au noyau de la cellule est la longueur d'onde du faisceau.

Le laser est également utilisé dans le traitement de certaines pathologies. Selon (Pellegrini, 2002) le traitement au laser est une intervention plutôt récente qui utilise le laser pour :

- Détruire les cellules cancéreuses
- Enlever une tumeur située à la surface d'un organe ou près d'un organe
- Soulager les symptômes causés par la tumeur
  - o Saignement
  - o Douleur
  - o Essoufflement
  - o Blocages

La diffusion multiple de la lumière (Pecora, 1976) est une technique parfaitement adaptée à l'étude des propriétés dynamiques des systèmes moléculaires organisés (Maret, 1997). Elle est utilisée avec succès dans l'étude des systèmes colloïdaux (Nicolai, 2001), des surfactants, des polymères (Nicolai, 1990), des gels, des cristaux liquides et des suspensions.

Elle a été utilisée pour étudier des systèmes auto-émulsionnables entrant dans le processus de fabrication des médicaments en gélule (Niederquell, 2012) et a permis de déterminer les propriétés micro-rhéologiques des suspensions. D'autres groupes ont évalué avec cette technique les propriétés mécaniques et de diffusion de colloïdes de macromolécules (Janmey, 1994) ou encore les propriétés dynamiques des membranes (Tishler, 1993), et de macromolécules comme l'ADN en solution. (He, 2000).

La diffusion de lumière a été largement utilisée dans le domaine agro-alimentaire, en particulier dans l'étude du lait :

- Pour suivre l'évolution de la taille des micelles de caséine au cours du processus de gélification en mesurant le libre parcours moyen de transport «  $l^*$  » (Ben Holland, 2011).
- Dans le processus de fabrication des yaourts : pour étudier l'efficacité de l'acide et de la présure (Alexander, 2004) en sondant la microstructure de l'échantillon au cours de la fabrication.
- Pour déterminer la viscosité de produits laitiers gélifiés tel que le fromage ou le yaourt en la combinant à la rhéométrie (Horne, 2004).
- Pour étudier la transition sol-gel (c'est un procédé permettant le changement de la structure d'un milieu contenant des particules colloïdales dans un solvant liquide en un milieu dense avec des colloïdes tridimensionnelles : le gel) du lait écrémé gélifié par de la présure, et a permis de déterminer l'épaisseur minimale nécessaire en rétrodiffusion pour que tous les photons puissent sortir de l'échantillon (Corredig, 2013).

Dans le cas des fluides biologiques, la diffusion est due à la présence de nombreuses particules de taille et d'indice de réfraction variés : cellules, organites subcellulaires tels que noyaux et mitochondries, vaisseaux sanguins, fibres de collagène, etc. D'après (Mourant, 1998), le volume des diffuseurs est équivalent à celui d'une sphère de diamètre compris entre  $\sim 0,4$  et  $2,0 \mu\text{m}$ . Les mitochondries et les autres organelles (de la cellule) de même taille sont responsables de la diffusion dite « aux grands angles » tandis que les nucléotides sont responsables de la diffusion « aux petits angles ». De plus, le parcours réalisé par la lumière diffusée est fortement influencé par l'absorption et la diffusion des cellules (Richards-Kortum, 1996).

On a pendant longtemps cherché à déterminer ces coefficients. A l'heure actuelle, de nombreuses méthodes ont fait leurs preuves et il est encore difficile de les départager. Certains conseillent d'utiliser des fibres optiques qui incluent des détecteurs pour déterminer les différents paramètres optiques grâce à un corrélateur (Dam, 2001). D'autres proposent d'analyser les spectres d'absorption et de diffusion (Taroni, 2003).

Cette méthode a pour avantage d'être applicable *in vivo*. Il est possible d'utiliser d'autres techniques comme les transformées de Fourier (Ding, 2009) à partir d'une expérience « classique » de diffusion de lumière (laser, lentille, échantillon, microscope, ordinateur).

Cette technique est aussi utilisée dans le domaine de la santé, pour l'étude de systèmes biologiques plus compliqués tel que le sang (Meglinsky, 2000). Elle a en particulier permis d'estimer le degré d'agrégation des érythrocytes dans le sang de patients ayant subi une ischémie cardiaque.

Elle a été utilisée pour établir un diagnostic du cancer (Mourant, 1998) et a permis de mettre en évidence des différences significatives entre les propriétés de la lumière diffusée par les cellules cancéreuses et les cellules saines du fait de leur différence de taille. Une autre étude a repéré des cellules cancéreuses sur l'épithélium d'organes humains (Backman, 2000) en les éclairant avec une fibre optique délivrant la lumière d'un brûleur au xénon puis en analysant le spectre de la lumière récupérée. Les auteurs ont



ainsi établis la taille du noyau des cellules éclairées, qui est (dans le cas d'un cancer) 2 à 4 fois plus importante qu'un noyau d'une cellule normale. Ces études ont été réalisées sur des cellules isolées ou des cellules en suspension. Dans ce cas, elles sont considérées comme des sphères dures baignant dans un fluide où elles sont sous mouvement brownien.

D'autres études ont utilisées la technique de diffusion de lumière pour surveiller le flux sanguin pendant un traitement donné, l'intensité d'un photon diffusée par une cellule sanguine en mouvement subissant des variations dans le temps. Ces fluctuations sont plus importantes quand les cellules possèdent un mouvement rapide ou lorsque de nombreux déplacements de cellules sanguines se produisent.

La Figure 11 est une illustration de la diffusion de lumière par des cellules sanguines en mouvement. Leur dynamique génère des fluctuations de l'intensité diffusée grâce auxquelles la fonction d'autocorrélation du champ électrique est calculée (Sunar, 2006).

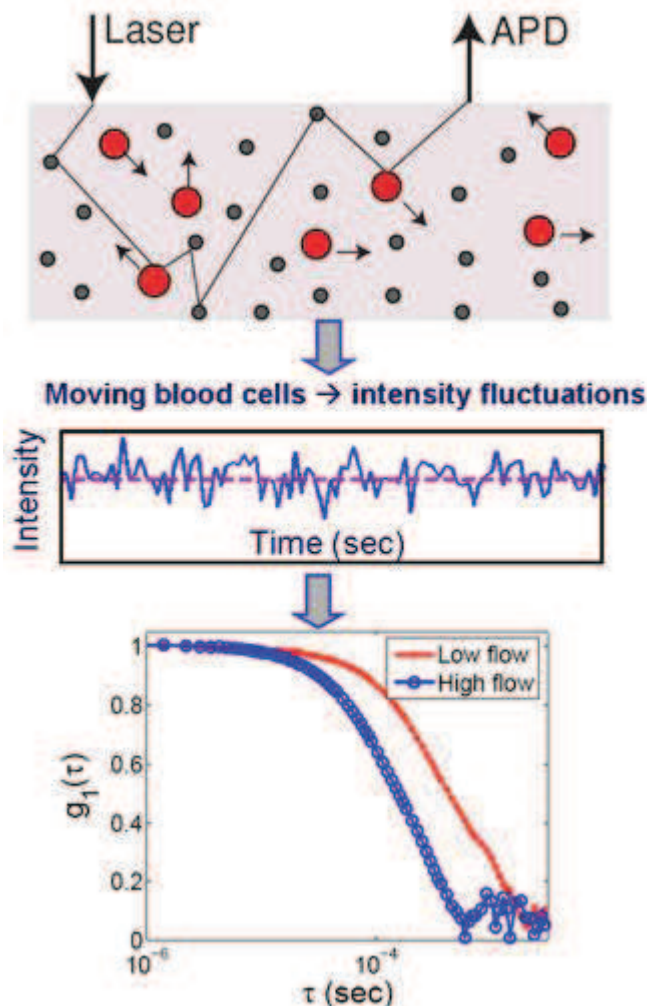


Figure 11. Du haut en bas : (1) diffusion de la lumière par des cellules sanguines en mouvements. (2) : les fluctuations de l'intensité diffusée dues à la dynamique des cellules. (3) : la fonction d'autocorrélation du champ électrique  $g_1(t)$  pour un flux faible et un flux sanguin plus grand (Sunar, 2006)



Des études plus récentes ont utilisé cette technique avec une longueur d'onde de 785nm pour extraire des informations sur le flux sanguin à partir du mouvement des cellules sanguines chez deux patients présentant des lésions buccales et qui ont suivi un traitement avec une dose de médicament fixe et différents dosage de lumière (thérapie photodynamique).

La Figure 12 montre la fonction  $g_1(t)$  enregistrée :

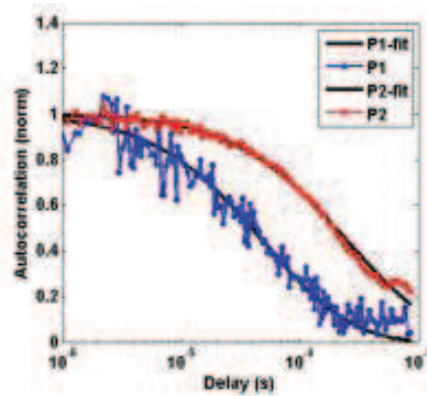


Figure 12. Fonction d'autocorrélation du champ électrique normalisé des deux patients avec le modèle (fit).  
La décroissance est proportionnelle au flux sanguin (Rohrbach, 2012)

La Figure 13 montre le flux sanguins autour et dans la lésion buccale des deux patients avant et après le traitement.

Le premier patient a eu un grand *carnicome in situ* (CIS) du palais dur, et le second a eu une dysplasie de haut grade dans un papillome de la muqueuse buccale.

Les deux patients ont eu le même traitement : HPPH administré par voie intraveineuse et un traitement par TPD.

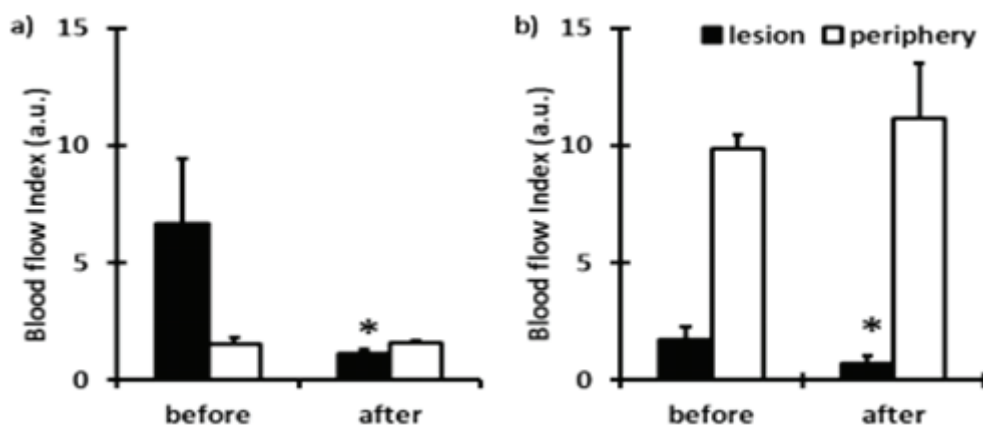


Figure 13. Contraste du flux sanguin : (a) différence du flux sanguin entre la lésion et la périphérie du premier patient. (b) différence du flux sanguin entre la lésion et la périphérie pour le second patient. Le contraste est important pour les deux patients, les différences du flux sanguin sont également importantes. Les barres d'erreur représentent l'écart-type. (Rohrbach, 2012).

La technique de diffusion de lumière a l'avantage de sonder les propriétés dynamiques des systèmes étudiés sur des échelles de temps très variables depuis la microseconde jusqu'à la minute, d'être non-destructive et rapide, d'être très sensible au moindre changement de la microstructure, et permet d'étudier des systèmes opaques et turbides

A l'instar de la rhéologie, la diffusion dynamique de la lumière permet de déterminer les propriétés mécaniques aux petites déformations lorsque le milieu étudié répond à un certain nombre de conditions comme le fait que le système doit être constitué d'une matrice contenant des sphères dures monodisperses qui n'interagissent pas les unes avec les autres et qui sont en mouvements browniens sous l'effet de l'agitation thermique. Leur coefficient de diffusion est alors directement lié au temps de relaxation caractéristique de la fonction d'autocorrélation correspondante, et le rayon moyen des particules diffuseurs est donné par la relation de Stokes-Einstein :

$$R = \frac{k_B T}{6\pi\eta D}$$

Avec  $k_B$  : la constante de Boltzmann

$\eta$  : la viscosité de la matrice

$D$  : le coefficient de diffusion

$T$  : la température

Plus qu'une méthode alternative, la diffusion de la lumière peut être combinée à la rhéologie de manière à déterminer les caractéristiques mécaniques d'un milieu en même temps que sont observés les mouvements de sa microstructure, c'est le principe de la rhéo-optique. Cette méthode représente une véritable avancée car elle permet d'observer des phénomènes microscopiques qui ont des répercussions sur le comportement du matériau à l'échelle macroscopique. Elle offre la possibilité d'observer les mouvements de composants particuliers dans les émulsions notamment lors d'un cisaillement harmonique (Hebraud, 1997).

Avant de pouvoir envisager cette technique sur les matériaux biologiques, nous avons d'abord évalué la technique de diffusion de lumière sur ces matériaux en statique.

### **3. Synthèse et objectifs de thèse**

La plupart des connaissances actuelles sur les propriétés mécaniques en cisaillement des matériaux biologiques mous ont été obtenues grâce à la rhéologie et aux lois de comportement associées.

Cette technique offre la possibilité de mesurer les modules de cisaillements visqueux et élastique ( $G''$  et  $G'$ ) pour différents types de matériaux allant des liquides aux fluides viscoélastiques.

Toutefois, cette technique ne permet pas de sonder la dynamique interne et donc de donner une explication liée à la microstructure du comportement macroscopique observé.

Nous nous sommes alors intéressés à la technique de diffusion dynamique de la lumière (DWS). De nombreuses études ont été réalisées en se basant sur le principe de la diffusion multiple de la lumière pour calculer la taille des diffuseurs ou mesurer leurs mouvement au cours du temps ou même suivre les changements de la microstructure au cours d'un processus donné, ceci en analysant les variations de l'intensité lumineuse diffusée. La technique de diffusion de lumière a aussi servi à mesurer les propriétés mécaniques de différents milieux sous certaines conditions.

L'objectif de cette thèse est d'évaluer l'application de cette méthodologie à la caractérisation de matériaux biologiques afin d'approfondir notre connaissance de leur comportement mécanique, qui présente l'avantage de sonder des échelles de fréquences très élevées, de ne pas endommager les matériaux étudiés et de proposer une mesure plus rapide que la rhéologie.

A la différence des travaux bibliographiques, dans notre étude nous allons nous intéresser à des tissus biologiques et non à des cellules en suspensions ou des fluides.

Afin d'atteindre cet objectif, la thèse est organisée de la manière suivante :

- La première étape a consisté à mettre en place le dispositif expérimental qui permet d'étudier en diffusion multiple des matériaux de structures variées, ensuite à l'étalonner avec un matériau dont le spectre est connu dans la littérature.
- L'étape suivante a visé à tester différents milieux qui ont des microstructures de complexité croissante (un liquide, une suspension et une mousse) qui s'approchent de plus en plus des matériaux biologiques mous, et d'essayer de remonter à leurs propriétés mécaniques à partir des résultats optiques enregistrés et d'évaluer les limites de la technique.
- Enfin, trois types de matériaux biologiques mous ont été étudiés en diffusion de lumière : le cortex rénal, le parenchyme hépatique et le cerveau de porc. Leur réponse a été comparée et une attention a été portée à la répétabilité, la reproductibilité et la variabilité de la réponse de ces matériaux. Ainsi que le suivi du spectre en fonction de la déshydratation et la dégénérescence.

Le chapitre suivant est consacré à la première étape réalisée au cours de ce travail de thèse qui est la mise en place du dispositif expérimental.

## Chapitre II : Montage expérimental, protocole et étalonnage

---

*Ce chapitre est consacré à la présentation du montage expérimental.*

*Après un bref aperçu des rhéomètres utilisés dans ce travail de thèse, les différentes étapes de la mise en place du dispositif expérimental de diffusion multiple de la lumière selon un cahier des charges seront exposées. Nous insisterons sur les différentes précautions à prendre en cours de manipulations et présenterons les résultats de l'étalonnage.*

## 1. Rhéométrie

Le rhéomètre utilisé dans cette étude est le Bohlin C-Vor 150 (Fabricant : Malvern instruments, n° de modèle : Bohlin 150-900), configuré en géométrie « plan-plan ». Le plateau supérieur est en rotation avec une vitesse angulaire  $\omega$  et parallèle au plateau inférieur fixe. Une déformation sinusoïdale est appliquée pour calculer le module de cisaillement complexe des échantillons. Le protocole utilisé est décrit en détails en annexe.

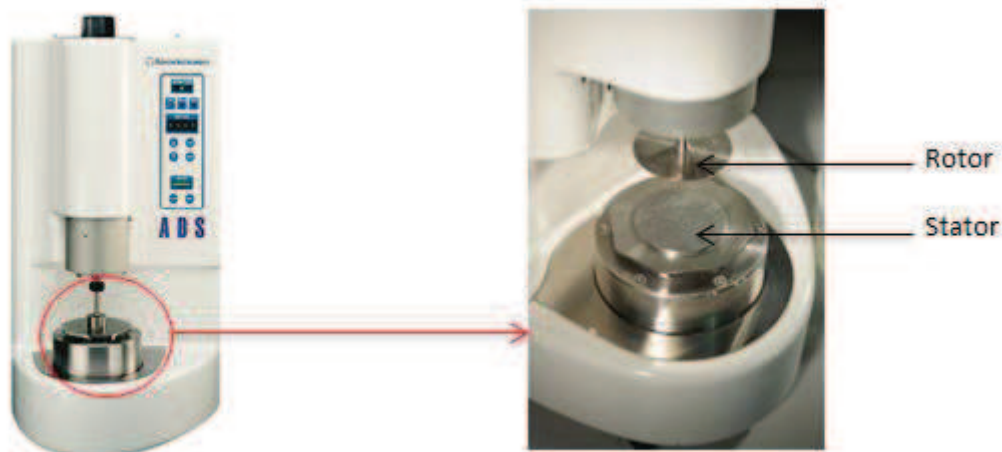


Figure 14. Un exemple de rhéomètre : le Bohlin C-VOR 150 de Malvern Instruments

Pour mesurer la viscosité d'un fluide, on place l'échantillon entre deux plaques parallèles séparées d'une distance « e » qui fera l'épaisseur de l'échantillon à étudier.

Au cours d'un essai d'oscillation le plateau supérieur du rhéomètre applique une rotation avec un angle  $\theta$  duquel dépend la déformation de cisaillement appliqué sur l'échantillon.

Dans ce cas, la contrainte de cisaillement s'écrit sous la forme :

$$\sigma(\omega) = \frac{2T}{\pi R^3} e^{i(\omega t + \delta)}$$

Et la déformation est donnée par :

$$\gamma(\omega) = \gamma_0 e^{i\omega t}$$

Où

T : est le couple mesuré

R : le rayon du plateau supérieur « rotor »

$\omega$  : la pulsation

$\delta$  : déphasage entre la contrainte de cisaillement et la déformation

$t$  : le temps

Ceci n'est valable qu'aux petites déformations.

Le module de cisaillement complexe est alors calculé :

$$G^*(\omega) = G' + iG'' = \frac{2T}{\gamma_0 \pi R^3} (\cos \delta + i \sin \delta)$$

Avec :

$G'$  : le module élastique (module de stockage)

$G''$  : le module visqueux (le module de perte)

Au cours de tests où la vitesse de cisaillement est constante, le taux de cisaillement imposé par le plateau supérieur est donné par :

$$\dot{\gamma} = \frac{R}{e} \omega_0$$

Et le couple mesuré est :

$$T(t) = \int_0^R 2\pi r^2 \sigma(r, t) dr$$

Un autre type de rhéomètre est utilisé, il s'agit d'un piézo-rhéomètre décrit par Stein (2001), qui permet de mesurer le module de cisaillement complexe en fonction de la fréquence. Son principe de mesure consiste à appliquer à l'échantillon des déformations  $\varepsilon$  de très faible amplitude ( $\leq 10^{-4}$ ) au moyen d'une céramique piézoélectrique vibrant en mode de cisaillement et à mesurer la contrainte  $\sigma$  transmise à travers l'échantillon au moyen d'une deuxième céramique.

Le module complexe de cisaillement  $G^*$  est donné par le rapport déformation-contrainte (Rogez, 2007)

$$G = \sigma/\varepsilon.$$

## 2. Mise en place du dispositif optique

### 2.1 Cahier de charge

La chaîne de mesure en diffusion multiple de la lumière doit comprendre une source laser afin d'illuminer l'échantillon mis à l'étude, un récepteur de lumière diffusée par l'échantillon, un compteur de photons pour transformer la lumière en intensité électrique et un corrélateur pour mesurer les fluctuations de cette intensité au cours du temps.

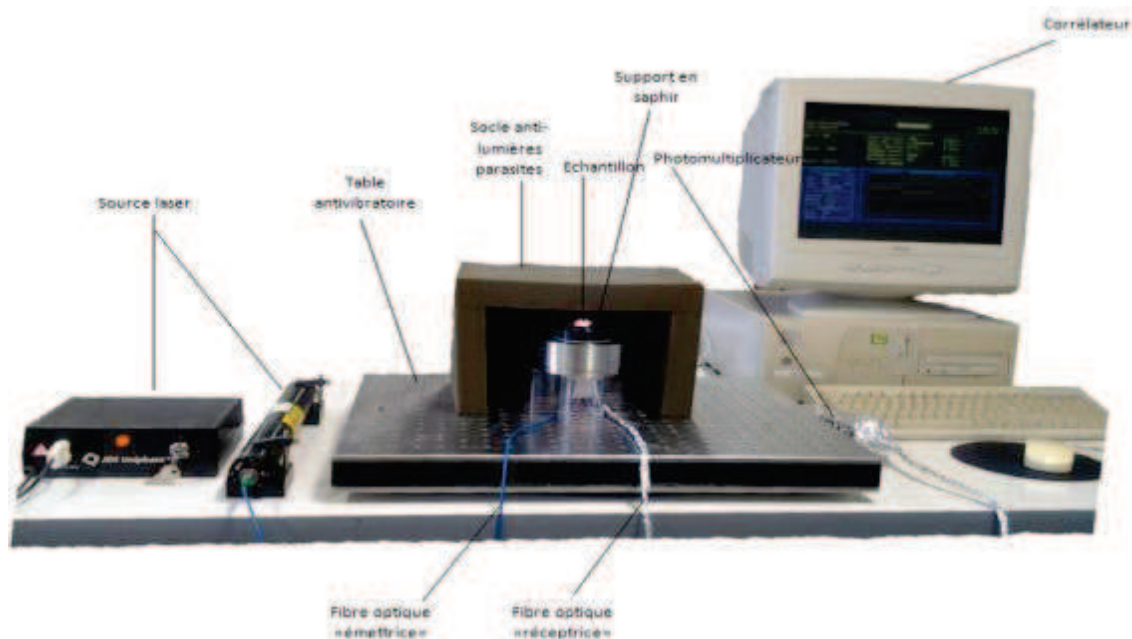


Figure 15. Montage expérimental permettant de réaliser des essais de diffusion multiple de la lumière sur différents types de matériaux, mis en place au cours de cette thèse.

Afin de répondre à ce cahier des charges, le montage expérimental est composé d'un canon laser source de couleur rouge relié à une fibre optique émettrice qui illumine l'échantillon posé sur une plaque en saphir. La lumière diffusée à l'intérieur de l'échantillon traverse à la sortie un polariseur, puis est transportée par la fibre optique réceptrice jusqu'au photomultiplicateur. En bout de chaîne, se trouve le corrélateur qui permet de calculer la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée (voir Figure 3 dans l'annexe A).

Le support de l'échantillon est recouvert avec un socle afin d'éviter la détection de photons parasites provenant des lumières de la salle, et repose sur une table antivibratoire qui absorbe les vibrations environnantes.

## 2.2 Mise en place du dispositif expérimental de diffusion statique

Le dispositif expérimental est mis en place dans le laboratoire de physique de l'Ecole Normale Supérieure de Lyon (voir Figure 15).

Les différentes étapes pour la mise en place sont décrites ci-dessous.

### 2.2.1. Choix du support et illumination des échantillons

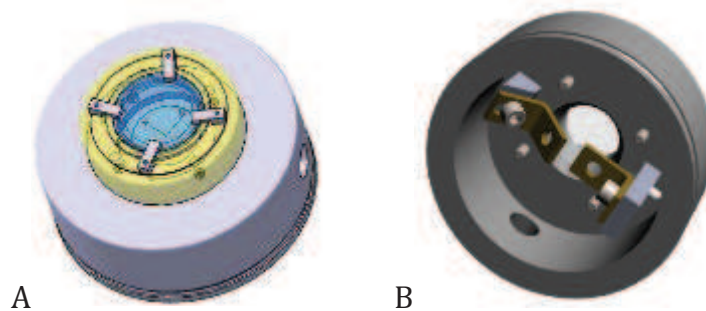
Les premières étapes de ce travail de thèse ont consisté à modifier le rhéomètre existant pour permettre l'illumination des échantillons par un faisceau laser au cours d'un test mécanique et à calibrer le dispositif de mesure optique. Le rhéomètre, utilisé en configuration plan-plan, est constitué de deux plateaux parallèles initialement en acier inoxydable. Le plateau inférieur a été modifié (en partie au cours d'un stage de fin d'étude



(Helfenstein, 2010)) en y enchâssant une plaque en saphir qui a été choisi pour ses propriétés thermiques et optiques (Figure 16-A).

En effet, le saphir est le matériau le plus dur après le diamant (9 sur l'échelle de Mohs) et possède un indice de réfraction de 1.77. Il conduit très bien la chaleur avec une conductivité thermique à 20°C de  $37\text{Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ . Il est également doté d'une très bonne résistance aux agressions chimiques (aux acides par exemple) et peut être par conséquent facilement nettoyé à la fin des tests.

D'autres changements ont été apportés à ce support au cours de ce travail de thèse, et qui ont consisté à fixer le support des fibres optiques qui vont transporter la lumière incidente et diffusée (Figure 16-B).



**Figure 16. Les changements apportés au socle inférieur du rhéomètre qui sera le support des échantillons pour les tests de diffusion de lumière. Fig (A) : l'installation de la plaque en saphir sur le socle. Fig (B) : la fixation des supports des fibres optiques.**

### 2.2.2. Choix du laser et son effet sur les matériaux biologiques

Afin de trouver la longueur d'onde la plus adaptée, notre recherche s'est basée sur les travaux menés par Ashkin (1987) et Neuman (1999) pour les longueurs d'onde se situant dans l'infrarouge, et sur ceux de Greulich (1995) pour des longueurs d'onde allant de l'ultraviolet au rouge. Les résultats montrent que les longueurs d'onde qui provoquent le moins de dommages se situent dans l'infrarouge entre 830 et 970 nm. Toutefois, il est nettement plus facile de travailler avec un faisceau laser visible. Greulich (1995) montrent que les longueurs d'onde dans le visible qui créent le plus de dommages (hyperthermie, coagulation ou volatilisation) se situent autour de 400 nm (bleu). A l'inverse, ils notent beaucoup moins de modifications structurales pour une longueur d'onde de 640 nm (rouge). Nous avons donc, naturellement, été amenés à utiliser un laser rouge pour nos expériences.

La particularité du laser rouge est qu'il permet de pénétrer très profondément dans les matériaux biologiques sans affecter la mesure.

Nous avons choisi d'utiliser un laser He-Ne (Marque : *Melles Griot*) avec une longueur d'onde de 632.8 nm, de classe IIIb, de puissance maximale 10mW et de diamètre pour le faisceau de 0,65mm.



### **2.2.3. Transport du laser jusqu'à l'échantillon**

La source laser (rouge) est gardée à distance du support de l'échantillon, et le faisceau produit doit être véhiculé jusqu'à la cible. Ce transport peut s'effectuer soit grâce à un jeu de miroirs réfléchissants, soit par l'intermédiaire d'une fibre optique. Cette dernière possibilité est celle qui offre le plus de souplesse d'utilisation en limitant les réglages du chemin optique.

Dans ce travail, une fibre optique dite « fibre émettrice » (*fiber optic patchcord PM 62*) a été choisie.

### **2.2.4. Système de récupération de la lumière diffusée**

Dans ce travail de thèse, la configuration de rétrodiffusion sera utilisée pour des raisons de mise en place du dispositif, mais aussi pour être certain que tous les photons détectés auront subi au moins un évènement de diffusion.

Adoptant cette configuration une deuxième fibre dite « fibre réceptrice » a été installée sous un angle proche de  $40^\circ$  par rapport au rayon incident. Cet angle est choisi pour des raisons pratiques car en diffusion multiple de lumière la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée ne dépend pas de l'angle de diffusion contrairement à la diffusion simple où le changement de l'angle de diffusion modifie la fonction d'autocorrélation du système.

Ensuite, un système est nécessaire pour compter les photons diffusés et transformer la lumière détectée en un signal électrique qui pourra être analysé par la suite : le photomultiplicateur.

L'efficacité quantique du photomultiplicateur (nombre de photons détectés / nombre de photons reçus) dépend principalement de la longueur d'onde. Le photomultiplicateur mis en place est une photodiode à avalanche (APD) dont l'efficacité quantique pour les longueurs d'ondes proches de 640nm est d'environ 90%, et assure donc la meilleure détection pour notre dispositif.

Les milieux qui seront étudiés dans cette thèse ont la particularité d'être turbides et fortement diffusants. En conséquence, la lumière reçue sera diffusée dans toutes les directions et aura une intensité très importante qui provoquera des perturbations dans le système de détection. La solution est d'installer un polariseur qui permettra de sélectionner les ondes lumineuses incidentes et de récupérer un seul mode de lumière. Ce dernier est installé à l'entrée de la fibre optique réceptrice.

### **2.2.5. Le corrélateur**

Comme indiqué ci-dessus, le photomultiplicateur permet de transformer les photons détectés en un signal électrique avec une intensité associée. Cette intensité sera par la suite mesurée par le corrélateur qui réalise le calcul de la fonction d'autocorrélation.

Une carte corrélateur BI9000AT (Brookhaven Instrument) est utilisée afin d'acquérir l'intensité de la lumière diffusée sous sa forme auto-corrélée. L'auto-corrélation ne pouvant se faire que sur une portion donnée du signal, nous n'obtiendrons qu'un « instantané » de la dynamique des échantillons.

La fonction d'auto-corrélation de l'intensité de la lumière diffusée  $i(t)$  s'écrit (Pecora, 2000):

$$C(\tau) = \langle i(0)i(\tau) \rangle = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T i(t)i(t + \tau) dt$$

Équation 17

Chacun des points de la fonction  $C$  correspond à la similitude entre la fonction  $i$  et une version décalée d'elle-même d'un temps  $\tau$ . Les décroissances de cette fonction donnent accès aux temps caractéristiques de  $i$ . La gamme de temps  $\tau$  doit donc être suffisamment grande pour contenir toute l'information recherchée. Concernant la variable  $T$ , elle représente la durée pendant laquelle l'autocorrélation du signal sera effectuée. Plus  $T$  est grand, plus l'auto-corrélation sera satisfaisante.

Le BI9000AT utilise trois corrélateurs, le premier dit « à vitesse rapide » utilise un temps d'échantillonnage très rapide (entre 25 et 100 ns), mais opère sur un nombre de temps de décalage très réduit.

Le deuxième à « vitesse moyenne » utilise des temps d'échantillonnage plus lents (entre 0,5 et 100  $\mu$ s) et opère sur une gamme de temps plus étendue (de 500 ns à 1.64 s).

Enfin le troisième à « vitesse lente » utilise des temps d'échantillonnage encore plus lents (entre 50  $\mu$ s et 400 ms) et opère sur une gamme de temps plus étendue que les deux autres (de 50  $\mu$ s à 1311 s).

Le raccordement entre les trois corrélateurs est rendu possible par le chevauchement partiel de leur gamme de temps.

Il faut noter que le temps d'acquisition choisi doit être égal à 100 fois le temps de la fin de décorrélation (pour plus de détails voir Annexe C).

Le principe de l'autocorrélation est décrit en détail dans le Chapitre I.

### 2.2.6. Isolation lumineuse

En diffusion de lumière la présence de lumières parasites a une très grande influence sur les résultats des expérimentations. En effet, le passage des lumières parasites à travers la fibre réceptrice et donc leur détection par le photomultiplicateur apporte un biais au calcul réalisé par le corrélateur et donnera des résultats erronés sur les propriétés du milieu étudié. L'isolation du montage de toutes lumières extérieures est donc nécessaire. Deux couvercles opaques sont ainsi mis en place afin d'enfermer le support de l'échantillon, et d'éliminer toute source de lumière externe.

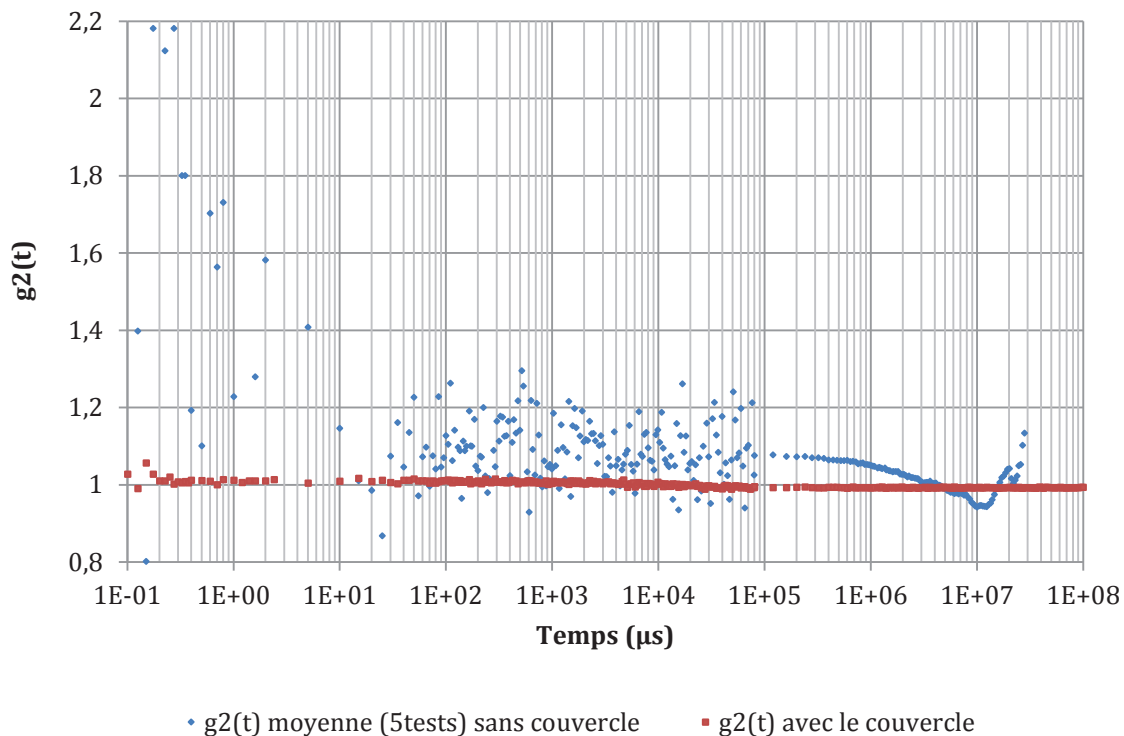
Des photons en provenance de la lumière de la salle peuvent passer par le corps de la fibre et atteindre le détecteur, pouvant polluer ainsi les mesures. Afin d'éviter ce phénomène (même s'il n'est pas avéré) la fibre optique réceptrice a été blindée en l'entourant de papier aluminium.

Le détecteur est aussi enfermé dans une boîte noire afin qu'aucun photon ne lui parvienne directement.

Afin de vérifier la fiabilité de la protection, un enregistrement de l'intensité diffusée a été déclenché sans allumer le laser. Le signal détecté provient donc uniquement de la salle d'expérimentation. Les tests sont réalisés avec et sans couvercle.

La fonction d'autocorrélation attendue est une ligne horizontale. En effet dans le cas d'un objet solide l'intensité diffusée à tout moment reste la même du fait de l'absence de dynamique dans la structure.

Les résultats des tests sont présentés dans la Figure 17.



**Figure 17. Fonctions d'autocorrélations obtenues sans allumer le laser, avec et sans couvercle anti-lumières parasites.**

Ces résultats montrent qu'en enlevant les deux couvercles, notre système détecte des lumières parasites qui s'infiltrent par la fibre réceptrice, alors qu'en le recouvrant hermétiquement, aucun signal n'est enregistré.

Nous avons également vérifié le bruit causé par les lumières parasites en réalisant une manipulation sans allumer le canon laser, tout en mettant les deux couvercles. L'idée est de comparer le nombre de coups (photons/sec) au bruit noir du détecteur, ce dernier étant la valeur maximale tolérée. Le comptage effectué par le photomultiplicateur montre un nombre de coups égal à  $3 \cdot 10^{-3}$  Kcnts/sec, et le bruit noir de notre détecteur est de 100 photons/sec. Ce résultat indique qu'aucun photon provenant des lumières parasites à l'entrée du photomultiplicateur n'est détecté.

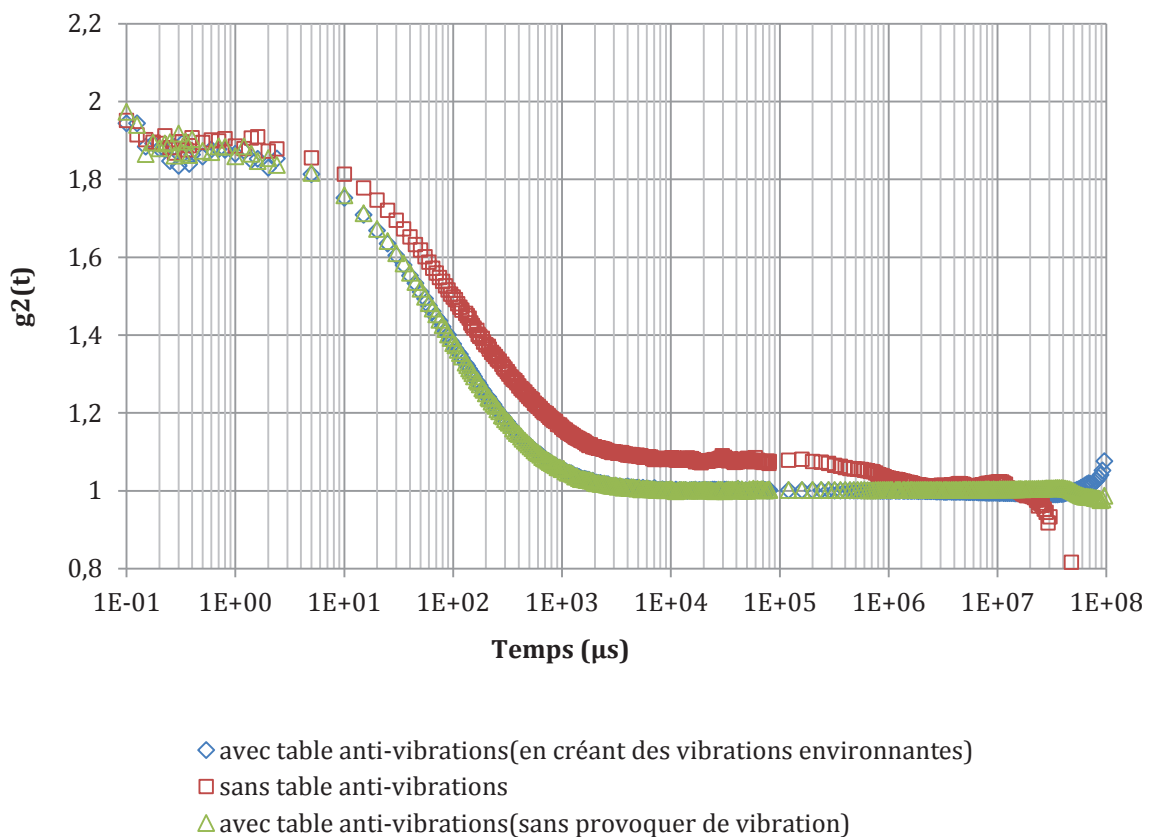
Notre système de protection est donc efficace et nécessaire.

### 2.2.7. Isolation vibratoire

Le dispositif expérimental est très sensible aux vibrations. Chaque mouvement peut engendrer des variations dans le spectre de diffusion obtenu. Ainsi, l'isolation de notre dispositif des vibrations provenant des manipulations réalisées sur la pailleasse et celles du bâtiment causées par la présence de machines, est nécessaire pour obtenir un bon spectre.

Pour cela notre montage est posé sur une table antivibratoire qui repose sur une chambre à air absorbant les vibrations environnantes. L'efficacité de ce système a été prouvée grâce à des expérimentations réalisées en créant des vibrations autour du montage, et en les comparant aux spectres obtenus sans sollicitations.

Le matériau choisi pour cette étude est le lait. La Figure 18 montre les résultats obtenus.



La fonction d'autocorrélation obtenue en utilisant la table anti-vibrations sans création de vibrations environnantes est considérée comme une fonction de référence. En la comparant à celle obtenue en provoquant des vibrations tout en gardant la table antivibratoire, nous constatons que la fonction n'est pas modifiée. La table antivibratoire joue donc bien son rôle de protection contre toutes les nuisances mécaniques extérieures.

De plus, la comparaison des résultats obtenus avec et sans table montre une différence significative entre les deux, tant au niveau de la forme du spectre que du temps caractéristique. La Figure 19 montre la variance calculée à partir des spectres obtenus avec et sans table antivibratoire

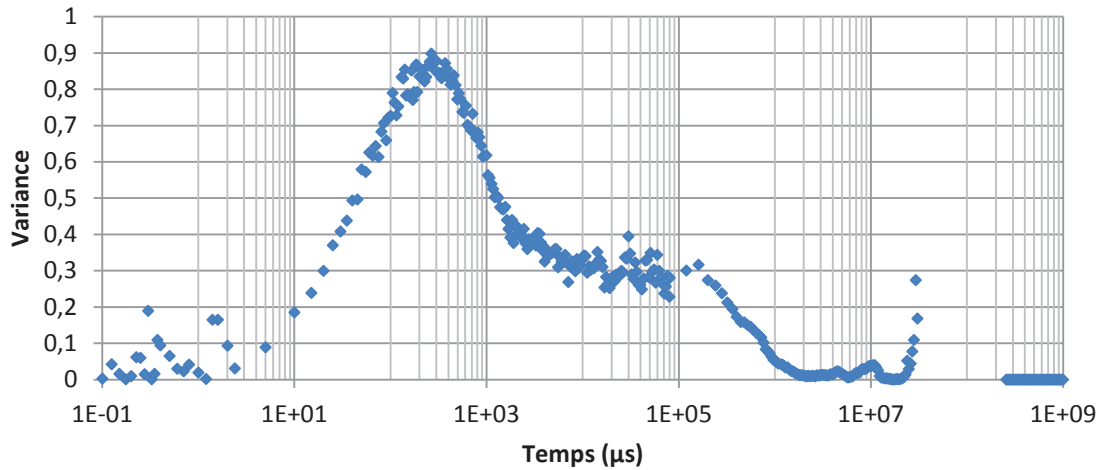


Figure 19. La variance calculée à partir des fonctions d'autocorrélation enregistrées avec et sans système d'isolation vibratoire

L'usage de ce système d'isolation vibratoire est donc nécessaire et suffisant.

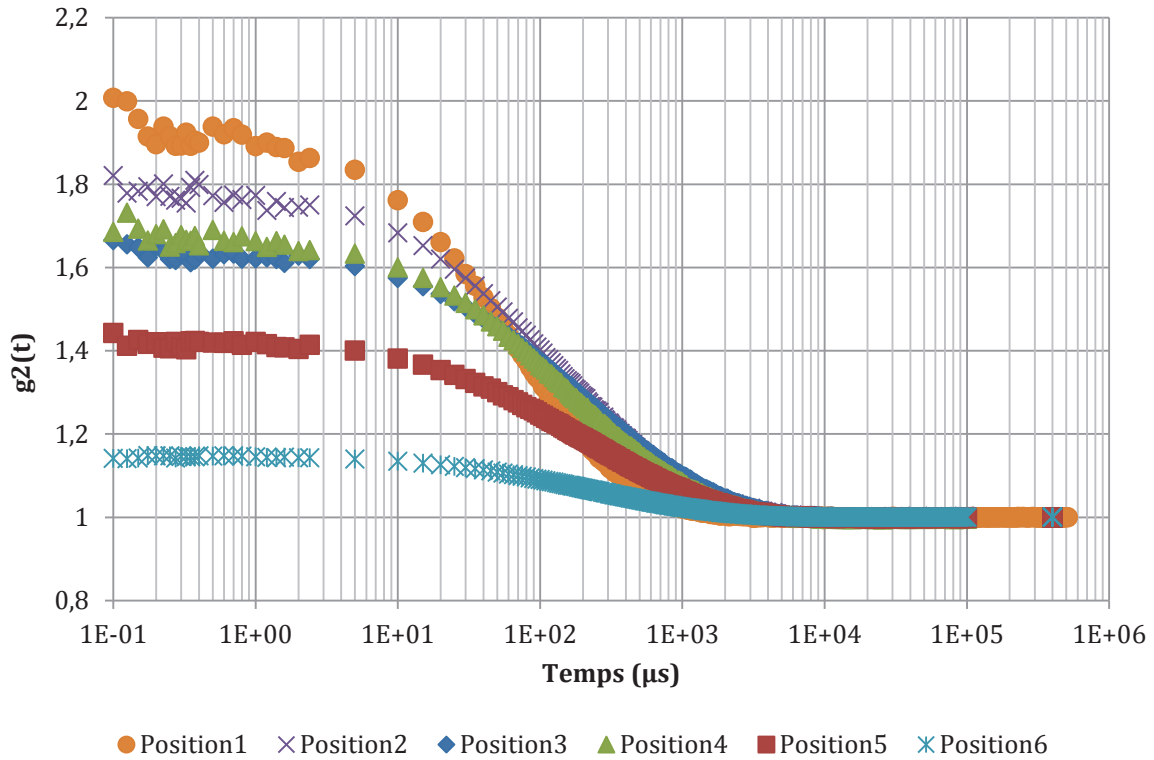
### 2.2.8. Position du polariseur

Nous avons constaté qu'une légère variation dans la position du polariseur à l'entrée de la fibre « réceptrice » avait une influence sur le spectre mesuré.

L'influence de la position du polariseur est étudiée sur le spectre de diffusion de lumière du lait demi-écrémé dont les caractéristiques nous sont données dans la littérature. La fonction d'autocorrélation débute à 2 comme pour tout liquide et son temps de relaxation est de 50µs.

Les fonctions d'autocorrélation ont été enregistrées en fonction de la position du polariseur, en faisant des rotations allant de 0° (Position 1 : position qui ne laisse passer que très peu de lumière) à 45° (Position 6 : position où la filtration de lumière est minime).

Les résultats des tests effectués sur du lait demi-écrémé avec plusieurs positions du polariseur sont illustrés sur la Figure 20.



**Figure 20. Fonctions d'autocorrélation du lait obtenues en tournant le polariseur de la position de référence (position 1 avec un angle  $0^\circ$ ) à la position 6 (avec un angle de  $45^\circ$ )**

Les caractéristiques du spectre du lait sont retrouvées en plaçant le polariseur dans sa première position qui correspond à l'angle  $0^\circ$ .

A contrario, nous remarquons que l'intensité initiale diminue en tournant le polariseur, et que la forme du spectre s'éloigne de celle trouvée dans la littérature. Bien positionner le polariseur s'avère donc d'une grande importance, car un mauvais positionnement de ce dernier provoquera d'importantes modifications de la fonction d'autocorrélation.

Le polariseur est donc fixé sur le support de la fibre optique, puis 10 essais sont réalisés pour vérifier son bon positionnement.

Le spectre moyen obtenu est présenté sur la Figure 21 :

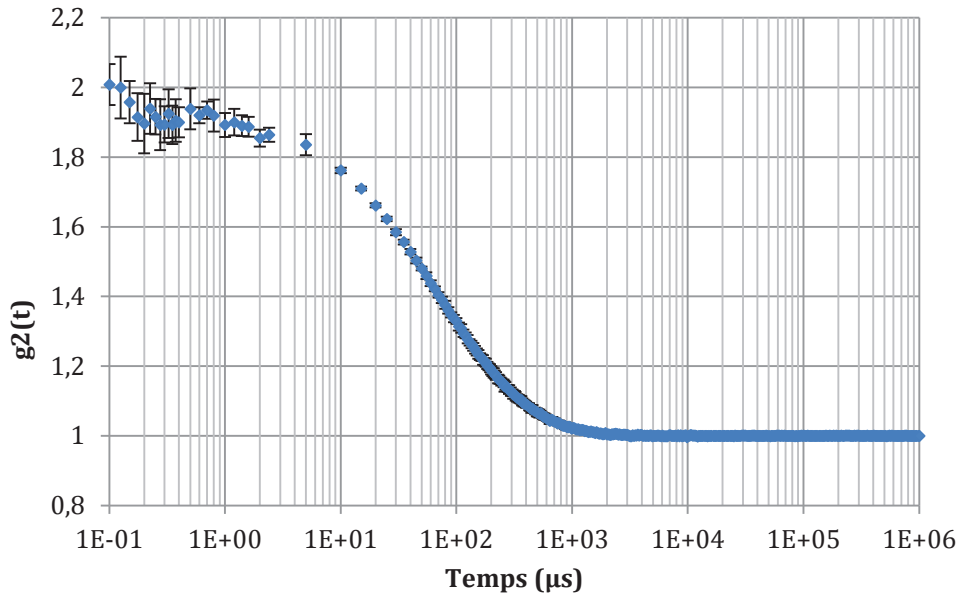


Figure 21. Fonction d'autocorrélation moyenne (sur 10 essais) du lait, obtenue après fixation du polariseur sur la bonne position, elle est caractérisée par un  $g_2(t)$  initiale qui s'approche de 2, ainsi qu'un temps de relaxation de 50 $\mu\text{s}$ .

### 3. Etalonnage avec du lait écrémé

Une fois le dispositif expérimental mis en place, nous avons cherché à tester sa fiabilité.

Cette fiabilité est testée sur le lait dont nous connaissons exactement les caractéristiques de diffusion. Il s'agit ici d'évaluer l'épaisseur minimale à utiliser, de vérifier la répétabilité ainsi que la reproductibilité de la mesure.

En plus de servir d'étalonnage du dispositif, le lait permettra également de démontrer la potentialité de la méthode à déterminer les caractéristiques mécaniques d'un milieu.

Le lait de vache utilisée est une suspension diluée, constituée d'une phase continue (l'eau) qui représente 87% du volume total, et de matière sèche représentant les 13% restant. Cette matière sèche est constituée de

- Protéines : les micelles de caséines (80%) + albumine
- Matière grasse
- Lactose + matières minérales

La transformation du lait entier permet de réduire le taux des globules gras et de fabriquer ainsi du lait écrémé.

Le lait est un milieu polydisperse. Il est instable puisque la séparation des deux phases, aqueuse et grasse, peut se produire facilement.

Il a été étudié par plusieurs techniques afin d'assurer sa stabilité, car cette coagulation est considérée comme « indésirable » du point de vue du consommateur. Les procédés d'homogénéisation utilisés produisent des globules gras d'un diamètre allant de 400 à 600 nm, et des micelles de caséines de diamètre allant de 50 à 600nm avec un diamètre moyen de 120nm (Dalglish, 2004). Le lait homogénéisé obtenu est une suspension très stable grâce à ce processus d'homogénéisation qui permet d'éviter à la matière grasse de remonter à la surface, ce qui empêche la séparation de la crème même après un entreposage de plusieurs jours.

Parmi les techniques utilisées pour étudier les propriétés du lait figure la diffusion multiple de la lumière (DWS : Diffusing wave Spectroscopy). Elle permet de suivre les changements dans la structure des diffuseurs en mesurant le libre parcours moyen de transport ( $l^*$ ), d'étudier la gélification du lait, ou même de suivre la dynamique des particules diffusantes sur des échelles de longueur très courtes en calculant leur déplacement quadratique moyen (Alexander, 2002).

Le lait choisi est un lait écrémé, qui a l'avantage de contenir très peu de globules gras, et proportionnellement plus de micelles de caséines. Il est conservé à 4°C et testé à température ambiante.

Avant de comparer nos résultats à ceux de la littérature, nous avons étudié l'épaisseur optimale à utiliser, la répétabilité et la reproductibilité des mesures qui sont importantes pour s'assurer que les résultats trouvés ne dépendent pas des conditions expérimentales.

### 3.1 Choix de l'épaisseur à utiliser

Le lait écrémé est versé dans un bécher en verre. Différentes hauteurs du lait allant de 0,3cm à 5cm sont étudiées.

La Figure 22 montre les fonctions d'autocorrélation moyennes enregistrées pour chaque épaisseur.

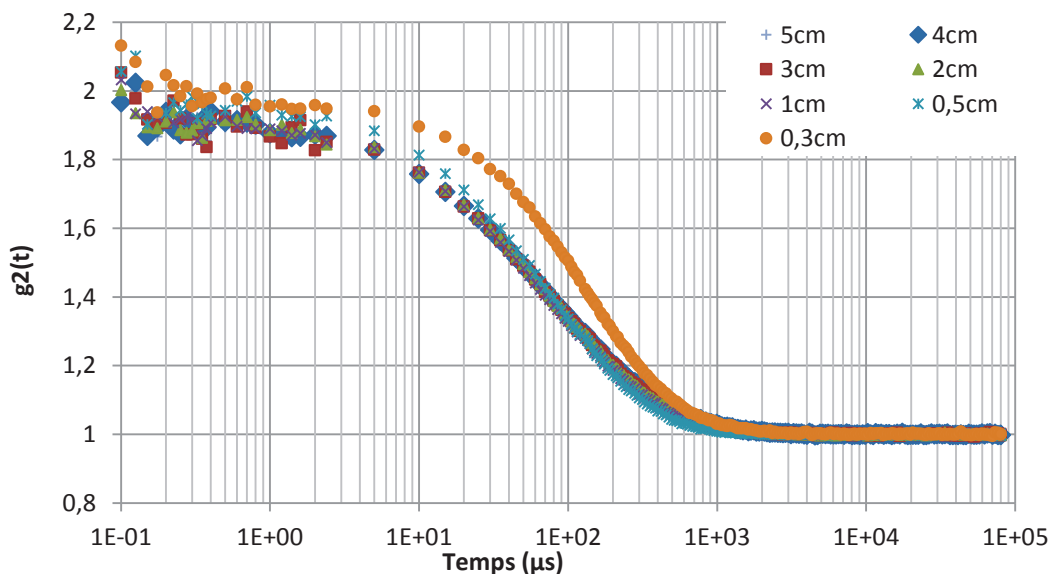


Figure 22. Fonctions d'autocorrélation moyennes du lait écrémé enregistrées à différentes épaisseurs.



Nous constatons que pour l'épaisseur la plus faible, le temps de relaxation caractéristique est de  $80\mu\text{s}$  ce qui n'est pas cohérent avec les données bibliographiques. En effet selon la littérature la fonction d'autocorrélation du lait est caractérisée par un début de décorrélation à  $1\mu\text{s}$  et une fin à  $1\text{ms}$  avec un temps de relaxation de  $40\mu\text{s}$ .

Pour des épaisseurs plus grandes, nous remarquons que les fonctions d'autocorrélations ont les bonnes caractéristiques et ne dépendent plus de l'épaisseur. Nous pouvons donc conclure que l'épaisseur minimale à utiliser est de  $1\text{ cm}$ .

Ceci est cohérent avec des données bibliographiques, car en effet, une étude (Corredig, 2013) a montré qu'une épaisseur minimale de 5 fois le libre parcours moyen de transport  $l^*$  est nécessaire pour que tous les photons puissent sortir de l'échantillon, mais il est recommandé d'utiliser une épaisseur de :  $e_{min} = 10.l^*$ . Sachant que le libre parcours moyen de transport dans le lait écrémé est de  $1\text{mm}$  nous pouvons conclure que l'épaisseur minimale qu'il faut utiliser pour ce type de lait est de  $1\text{ cm}$ , ce qui corrobore les résultats expérimentaux trouvés.

Dans la suite de nos tests, le béccher sera rempli au maximum (soit  $2.5\text{ cm}$ ).

### 3.2 Comparaison à la littérature

La technique de diffusion de lumière a été déjà utilisée pour l'étude le lait écrémé, sa fonction d'autocorrélation est donc connue dans la littérature. La DWS a servie, par exemple, dans l'étude de la gélification du lait écrémé (Dalglish, 2004) son acidification (Dalglish, 2007) ou sa dilution (Schurtenberger, 1999), ainsi que pour étudier les suspensions de lait concentré (Alexander, 2002).

Nous pouvons donc comparer le spectre du lait obtenu avec notre dispositif à celui reporté dans la littérature.

La Figure 23 montre la comparaison des deux.

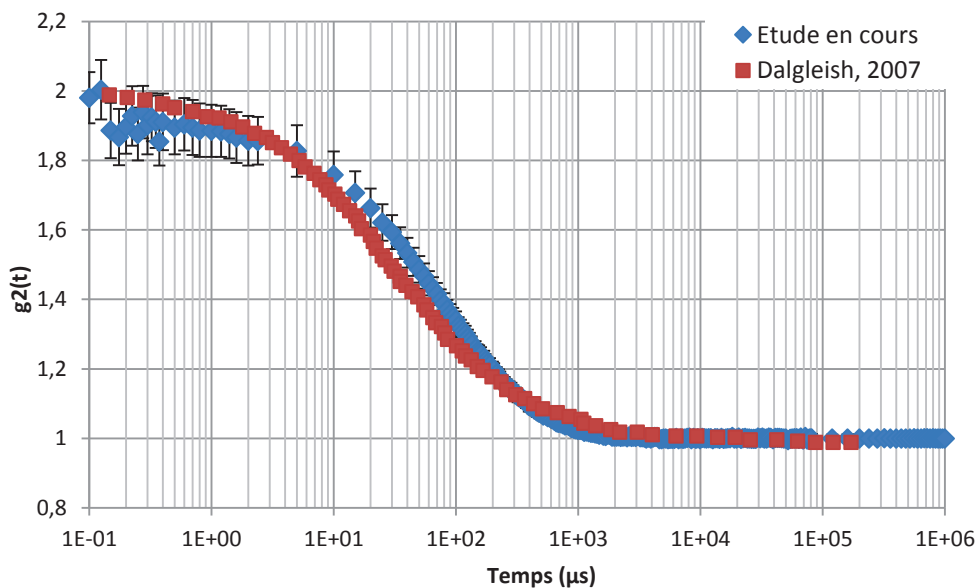


Figure 23. Comparaison entre la fonction d'autocorrélation moyenne du lait obtenue avec le nouveau montage (sur 40 tests) et celle trouvée dans la littérature (Dalglish, 2007)

Nous constatons que la fonction d'autocorrélation obtenue avec le nouveau dispositif s'approche de celle donnée par la littérature. La différence entre les deux est quantifiée par l'écart relatif représenté dans la Figure 24.

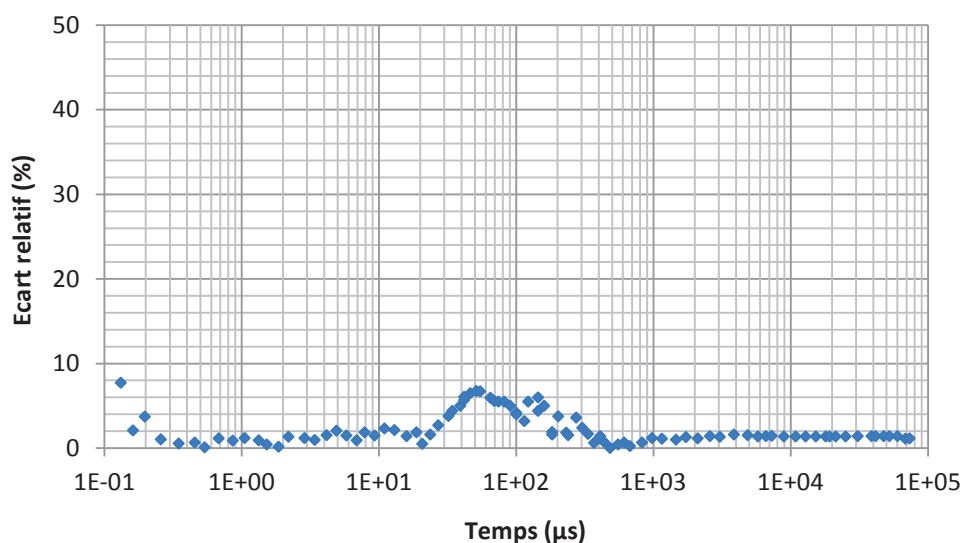


Figure 24. Coefficient de variation de la fonction d'autocorrélation moyenne enregistrée avec le dispositif mis en place et celle de référence.

Nous remarquons qu'il y a une assez bonne cohérence entre les deux courbes avec un écart inférieur à 2%, sauf sur l'intervalle de temps [30μs – 200μs] où il atteint son maximum de 6,4%. Cette dernière valeur reste néanmoins acceptable.

### 3.3 Conclusion

Cette étude nous a permis de vérifier l'efficacité et la bonne mise en place du dispositif. La comparaison avec les résultats de la littérature démontre une bonne cohérence entre les deux, ce qui prouve que notre montage est correctement calibré.

## 4. Approfondissement de l'étude du lait avec le nouveau dispositif mis en place

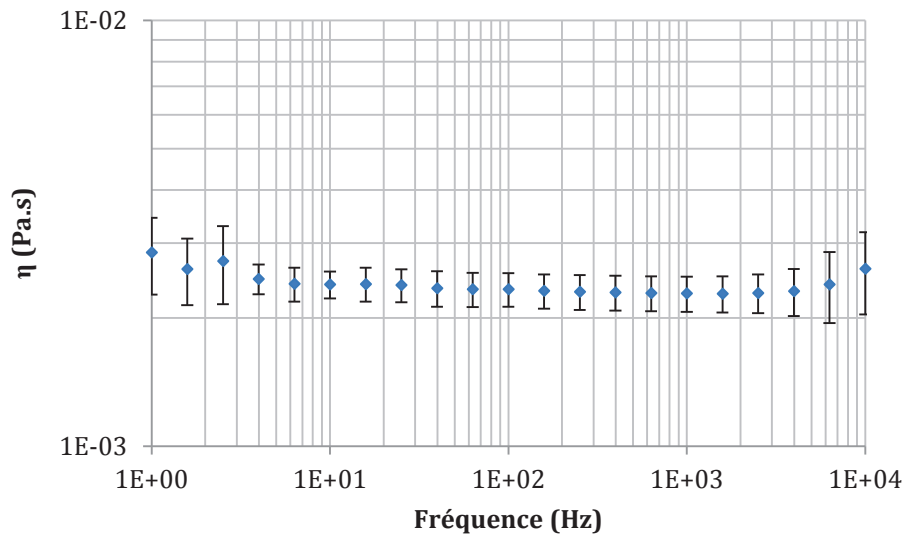
Le dispositif expérimental de diffusion de lumière a été mis en place et étalonné avec du lait écrémé. Nous avons ensuite vérifié la répétabilité et la reproductibilité des mesures avec ce dispositif, et démontré la pertinence des résultats en déduisant de ces mesures la taille des micelles de caséines en se basant parallèlement sur les résultats rhéométriques.

### 4.1 Etude du lait par rhéométrie

Nous avons réalisé une série de tests en utilisant un piézo-rhéomètre (Laboratoire de Physique, Ecole Normale Supérieure), capable de mesurer des viscosités sur de larges bandes de fréquences allant jusqu'à 10<sup>4</sup> Hz.

Le lait utilisé est conservé au frais (4°C) et testé à température ambiante.

Les résultats illustrés dans la Figure 25, montrent la valeur moyenne sur 10 échantillons de la viscosité du lait.



**Figure 25. La viscosité moyenne (sur 10 essais) du lait obtenue avec le piézo-rhéomètre dans l'intervalle de fréquence [1 - 10<sup>4</sup>] Hz.**

Nous allons dans ce qui suit étudier le lait par le dispositif de DWS, une étude de la répétabilité et la reproductibilité sera faite, suivie d'une mesure de la taille moyenne des diffuseurs à partir des résultats rhéologiques et optiques.

En effet dans une étude micro-rhéologique, trois paramètres sont en jeu :

- les propriétés mécaniques (la viscosité),
- les propriétés optiques (intensité diffusée)
- et les propriétés structurelles (taille des diffuseurs).

Les trois sont liés par l'équation 13.

En connaissant deux de ces paramètres le troisième est déduit.

#### 4.2 Etude du lait par DWS

Pour l'étude du lait, nous allons suivre la démarche consistant à utiliser la viscosité donnée par le rhéomètre et la fonction d'autocorrélation donnée par le dispositif de DWS pour déduire la taille des micelles de caséine diffusant la lumière, ce qui permettra de valider les résultats optiques obtenus par le dispositif mis en place ainsi que le calcul et le modèle utilisé.

Mais avant cela, nous allons vérifier la répétabilité et la reproductibilité des mesures.

### 4.2.1. La répétabilité des essais sur le lait

La répétabilité des mesures permet d'évaluer la fidélité de notre montage dans les conditions de répétabilité, c'est-à-dire le même opérateur, même jour, même lieu, même dispositif, mais avec un court intervalle de temps entre les mesures.

Dix tests de répétabilité sur le lait ont été effectués dans la journée en gardant les mêmes conditions expérimentales. Les résultats sont illustrés sur la Figure 26, et montrent une très bonne répétabilité des mesures.

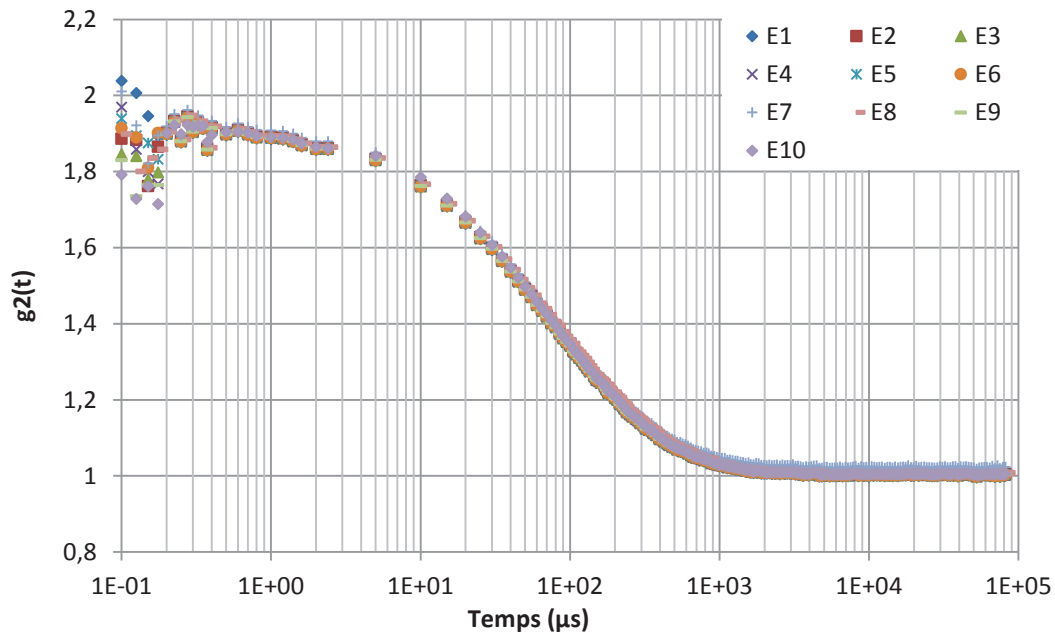
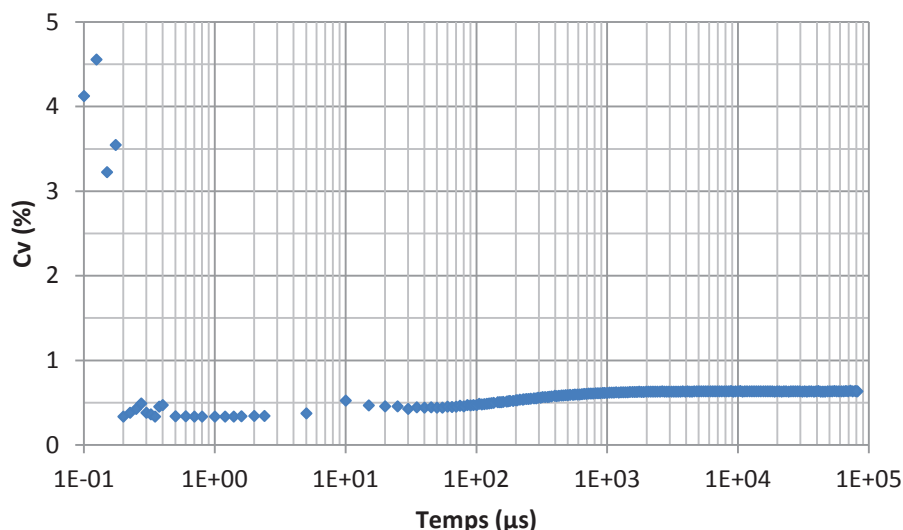


Figure 26. Fonctions d'autocorrélation de 10 échantillons du lait écrémé obtenues dans les mêmes conditions expérimentales.

Le calcul du coefficient de variation permet de quantifier la dispersion autour de la moyenne. Dans le cas des essais sur le lait, il est inférieur à 1% comme le montre la Figure 27.



**Figure 27. Le coefficient de variation des tests de répétabilité réalisés sur du lait dans les mêmes conditions expérimentales.**

Nous constatons qu’aux temps très courts, la fonction d’autocorrélation est bruitée, et que le coefficient de variation est proche de 5% (qui reste une valeur tolérable). En effet dans les temps très courts notre carte d’acquisition utilise le premier corrélateur à vitesse rapide, qui opère dans un temps d’échantillonnage très rapide (entre 25 et 100 ns) et sur un nombre de temps de décalage très réduit, ce qui peut générer des perturbations de la fonction d’autocorrélation de l’intensité (pour plus de détails voir partie Corrélateur en Annexe C).

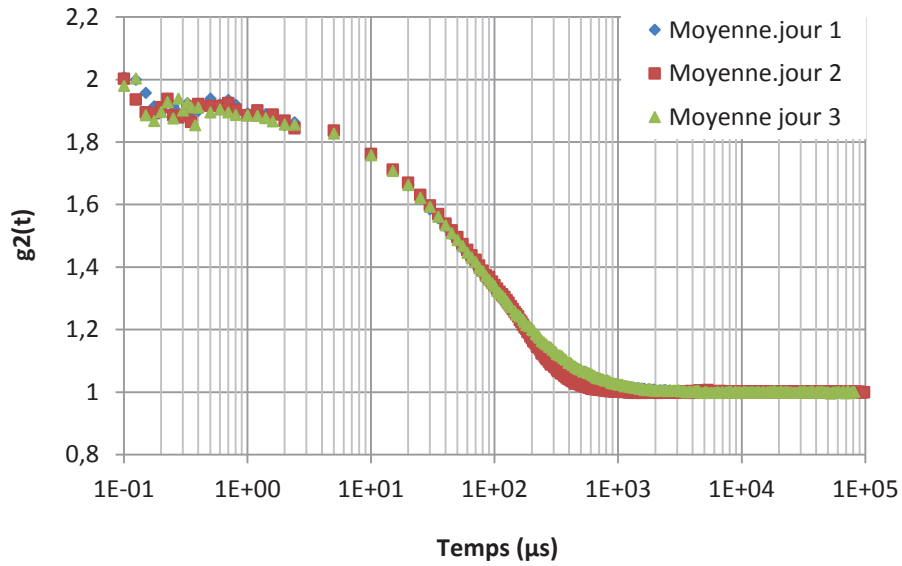
Nous pouvons donc conclure que les essais sur le lait écrémé sont bien répétables ( $CV < 1\%$ ).

#### **4.2.2. La reproductibilité des mesures sur le lait**

La reproductibilité des mesures permet d’évaluer la fidélité de notre montage dans les mêmes conditions expérimentales, en changeant un paramètre tel que l’opérateur ou le jour.

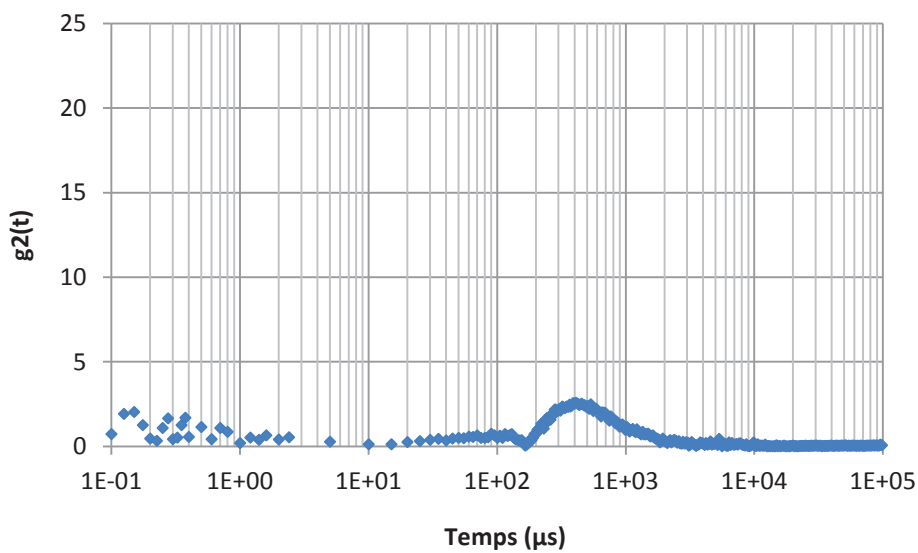
Nous avons réalisé vingt essais à deux jours différents, en utilisant une nouvelle bouteille de lait de même marque pour chaque jour de test, tout en respectant les mêmes conditions expérimentales et le même mode opératoire.

Les fonctions d’autocorrélations du lait enregistrées à différents jours sont illustrées sur la Figure 28, et montrent une bonne reproductibilité du dispositif.



**Figure 28. Fonctions d'autocorrélation moyennes du lait obtenues sur trois jours de tests différents, chaque fonction représente la moyenne de 15 tests sur le même type et même marque de lait, en conservant le même état de fraîcheur et de conservation des échantillons.**

A partir de ces trois moyennes obtenues à trois jours de tests différents, nous avons calculé le coefficient de variation qui est illustré sur la Figure 29.



**Figure 29. Coefficient de variation des essais de reproductibilité sur le lait réalisés à trois jours de tests différents**

Nous constatons que le coefficient de variation est très faible (de l'ordre de 1%) avec une très légère différence entre  $10^2$  et  $10^3 \mu s$ , qui atteint un maximum de 2,4% valeur non

significative. Nous pouvons donc conclure que les résultats du nouveau montage sur du lait sont reproductibles.

#### 4.2.3. Mesure de la taille moyenne des diffuseurs à partir de résultats de la DWS et de rhéologie

Nous utiliserons la viscosité donnée par le piézo-rhéomètre et la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée donnée par la DWS pour calculer la taille moyenne des diffuseurs (voir Annexe E pour le détail du calcul).

Nous pourrions donc la comparer à celle rapportée dans la bibliographie.

La Figure 30 montre la fonction  $g_2(t)$  ainsi que la viscosité utilisée pour le calcul de la taille des diffuseurs.

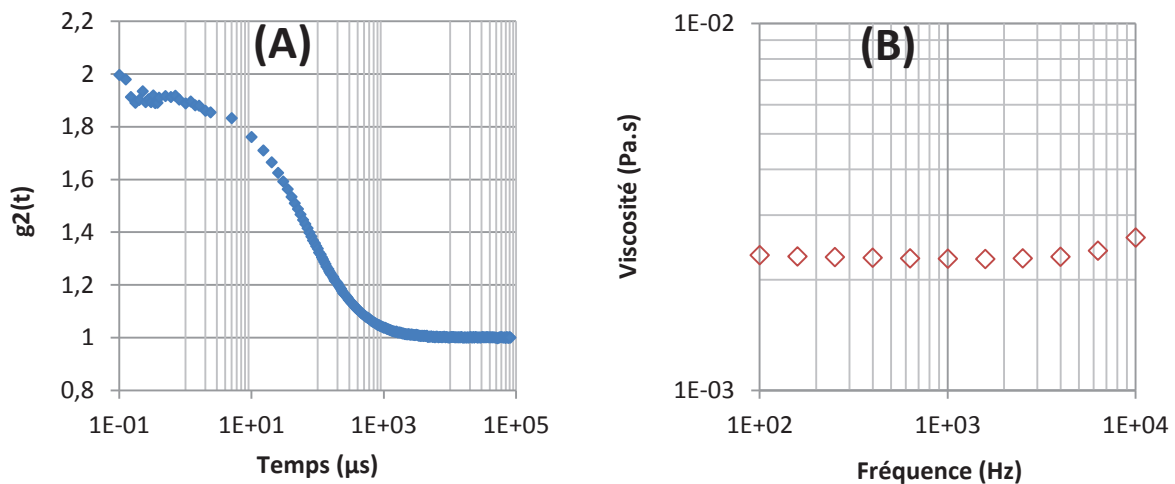


Figure 30. Fonction d'autocorrélation moyenne du lait enregistrée avec le dispositif mis en place. (B) : La viscosité mesurée par rhéométrie du même lait

La taille des micelles de caséine calculée à partir des deux techniques est aux alentours de 100nm ( $\sim 98,75$  nm), elle est dans l'intervalle [50nm – 600nm] donné par la littérature (Kruif, 1998), et proche de la moyenne (120nm).

## 5. Conclusion

L'étalonnage du dispositif a été effectué en s'assurant de la pertinence, de la répétabilité et de la reproductibilité des mesures sur du lait. Le spectre mesuré avec notre dispositif correspond à celui rapporté dans la littérature avec un écart inférieur à 6,4%.

Les vérifications du dispositif effectuées ont permis de vérifier que :

- L'usage d'une table antivibratoire est nécessaire pour éliminer toutes les vibrations environnantes auxquels le dispositif est très sensible.

## CHAPITRE II : MISE EN PLACE DU DISPOSITIF

- Les deux socles anti-lumières parasites permettent de protéger le montage des lumières de la salle qui influencent le spectre d'autocorrélation enregistré.
- Il est nécessaire de positionner le polariseur sous l'angle qui filtre le plus de lumière (0°).
- Utiliser le corrélateur en mode ratio avec un temps d'acquisition égal à 100 fois le temps de la fin de décorrélation.
- Enfin, pour l'étude du lait écrémé une épaisseur minimale de 1cm est nécessaire pour avoir le bon spectre d'autocorrélation.

Le temps caractéristique de la décorrélation du lait est de  $40\mu\text{s}$ , ce qui indique que la décorrélation est très rapide. Ceci s'explique par le fait que les éléments diffuseurs dans un liquide sont continuellement en mouvement à un point tel que l'histoire du chemin parcouru par un rayon diffusé est perdue très rapidement.

Enfin, la viscosité mesurée à l'aide du rhéomètre et la fonction d'autocorrélation enregistrée avec le dispositif optique ont permis de remonter à une taille de micelles de caséines incluse dans l'intervalle et proche de la taille moyenne donnée dans la littérature.

Le Tableau 2 résume les résultats sur le lait écrémé :

Élément étudié	Éléments diffuseurs	Taille diffuseurs	Viscosité calculée par rhéométrie	taille calculée à partir de DWS	Intervalle de fréquence	Intervalle de temps	Remarques
Lait écrémé	Micelles de caséines	[50-600 nm] taille moyenne : 120 nm	$2,3 \cdot 10^{-3}$ Pa.s	$\sim 100\text{nm}$	$[10^2 - 5 \cdot 10^4$ HZ]	$[20 \mu\text{s} - 10^4 \mu\text{s}]$	Intervalle correspondant à la décroissance

**Tableau 2. Conclusion de l'étude sur le lait montrant la taille des diffuseurs calculée à partir des tests de diffusion de lumière, avec l'intervalle de temps et de fréquence correspondant.**



## Chapitre III : Etude de matériaux de complexité intermédiaire

---

*La mise en place du dispositif expérimental de diffusion multiple de la lumière a été réalisée et validée par l'étude d'un matériau simple (le lait).*

*Ce dispositif peut donc servir à étudier les tissus biologiques, mais étant donné la complexité de leur structure, bien comprendre la manière dont ils diffusent nécessite d'abord d'étudier d'autres matériaux de structure à complexité croissante.*

*C'est le but de ce chapitre qui sera consacré à l'étude de matériaux à structure plus simple que les tissus biologiques : une suspension de polystyrène, et une mousse.*

## **1. Suspension de polystyrène**

Le premier objet d'étude est une solution concentrée de nanosphères de polystyrène, de taille homogène dont la moyenne est de  $200\text{nm} \pm 6\text{nm}$ .

Un tel milieu a été étudié par diffusion de lumière, pour sonder le mouvement brownien des billes de latex soumises à l'agitation thermique dans des gels polymères (Nisato, 2000).

D'autres études ont été réalisées sur des milieux plus concentrés (Nisato, 1999) où les diffuseurs interagissent les uns sur les autres, La technique a ainsi permis de sonder les déplacements des diffuseurs dans ces milieux fortement diffusants.

Dans notre étude, une solution concentrée composée d'eau ultra-pure contenant des billes de latex en suspension sera utilisée.

### **1.1. Etude de la suspension par rhéométrie**

Une série de tests a été réalisée en utilisant un piézo-rhéomètre capable de mesurer des viscosités dans des intervalles de fréquences élevées allant jusqu'à  $10^4$  Hz. La viscosité trouvée correspond à celle de la matrice, qui est l'eau ultra-pure ( $\eta=10^{-3}$  Pa.s)

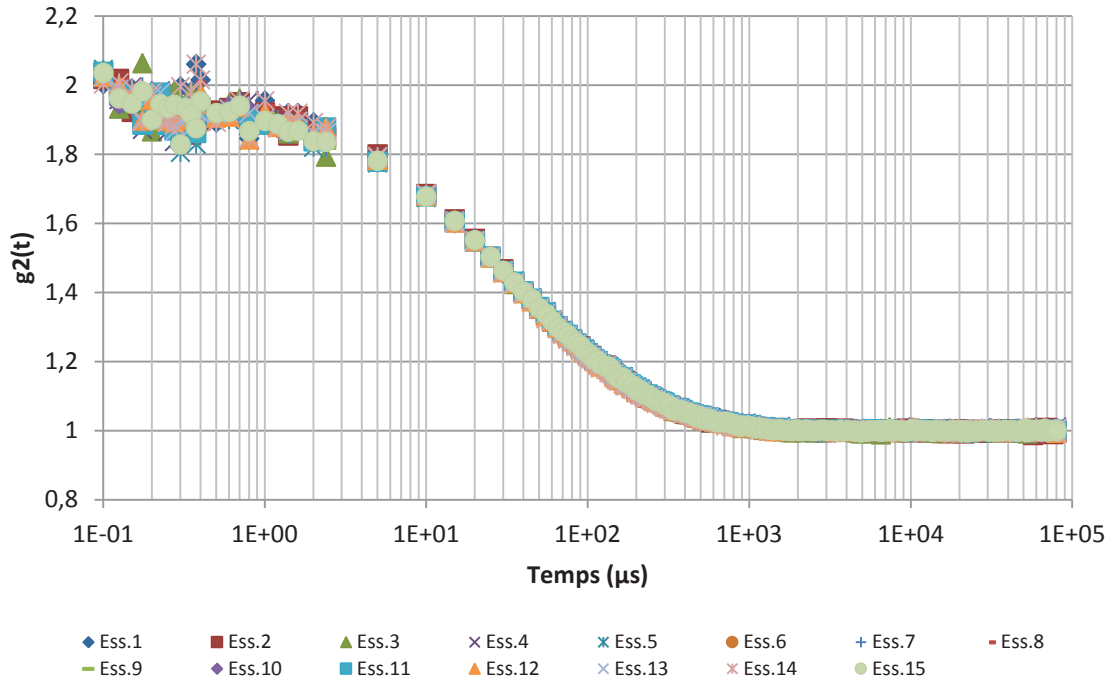
### **1.2. Etude de la suspension par DWS**

Cette suspension est composée de billes de latex rigides baignant dans un fluide purement visqueux (l'eau pure). Il est donc possible de suivre le déplacement de ces billes par la technique de diffusion de lumière et de remonter à la viscosité du fluide en utilisant les équations reliant leur déplacement à la viscosité du fluide (voir Annexe E).

Avant d'entreprendre cette démarche, il est nécessaire de s'assurer de la répétabilité ainsi que la reproductibilité des mesures.

#### **1.2.1. Vérification de la répétabilité des mesures**

Quinze tests de répétabilité ont été effectués le même jour, sous les mêmes conditions expérimentales. Les résultats sont illustrés sur la Figure 31.



**Figure 31. Fonctions d'autocorrélation de la suspension des nanosphères de polystyrène (15 tests) enregistrées le même jour dans les mêmes conditions expérimentales avec un court intervalle de temps**

Les fonctions d'autocorrélation enregistrées montrent une décorrélation de l'intensité diffusée qui commence très tôt (à 1  $\mu$ s) et se termine à 1 ms avec un temps de relaxation de 30 $\mu$ s.

Afin de quantifier la répétabilité, le coefficient de variation est calculé et illustré sur la Figure 32

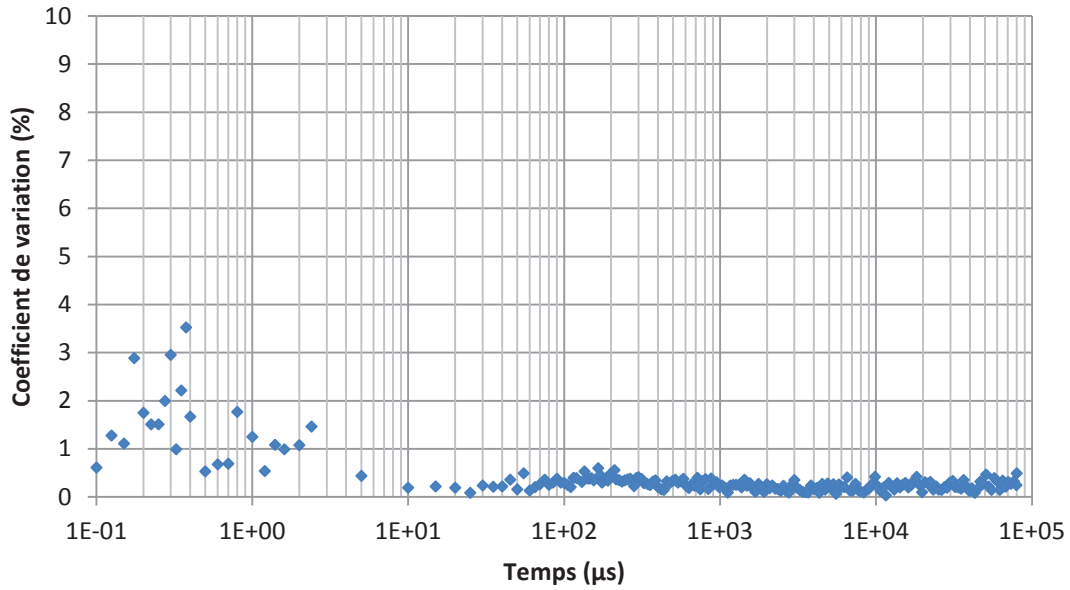


Figure 32. Le coefficient de variation des tests de répétabilité réalisés sur la suspension de polystyrène sous les mêmes conditions expérimentales.

Le coefficient de variation est très faible ( $Cv < 1\%$ ) avec une valeur qui s'approche de 4% aux temps très courts. Ceci prouve que les mesures sur la suspension de polystyrène avec ce nouveau dispositif sont très répétables.

### 1.2.2. Vérification de la reproductibilité des mesures

Nous avons réalisé cinq essais par jour pendant 4 jours, tout en respectant les mêmes conditions expérimentales, et le même mode opératoire.

Les fonctions d'autocorrélation enregistrées à différents jours sont illustrées sur la Figure 33.

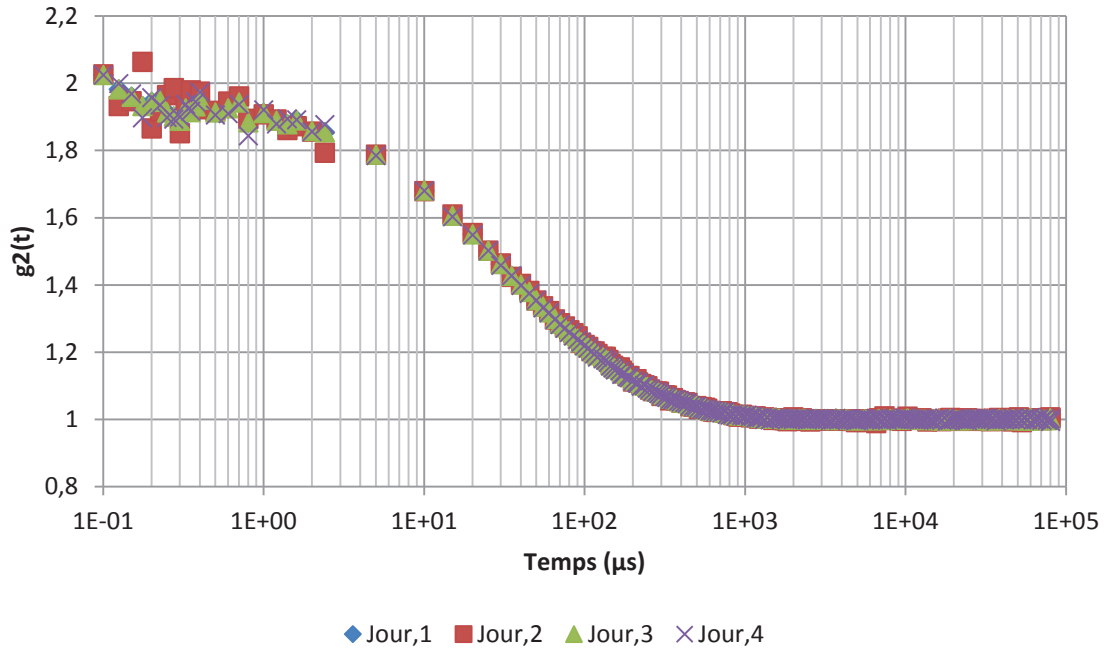


Figure 33. Fonctions d'autocorrélation moyennes (5 essais/jour) des nanosphères de polystyrène obtenues à 4 jours différents.

Comme pour la répétabilité, le coefficient de variation est calculé afin de quantifier la reproductibilité des mesures (voir la Figure 34).

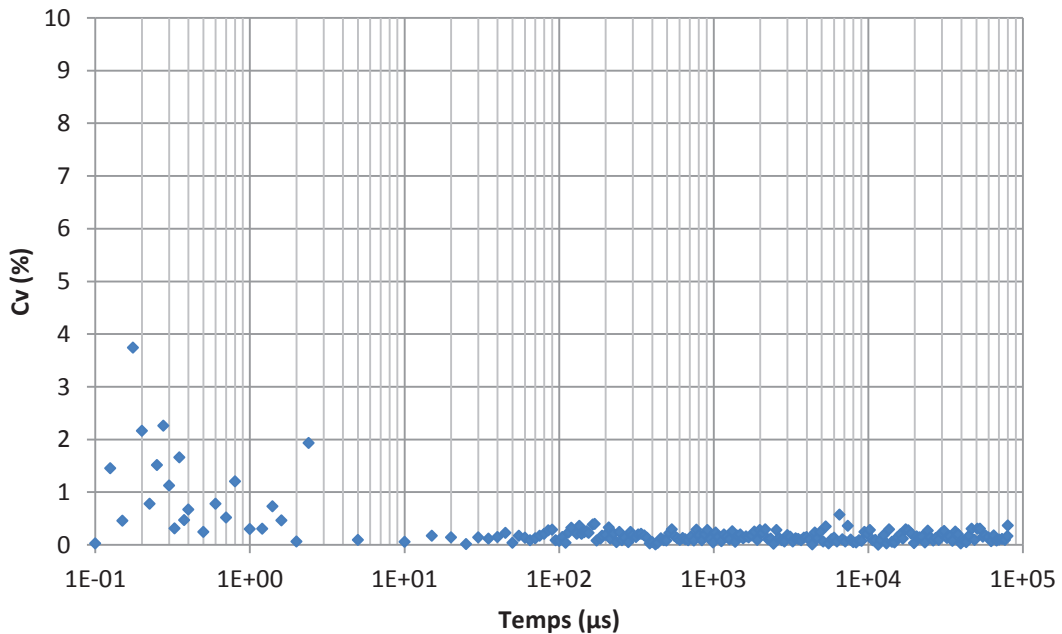


Figure 34. Le coefficient de variation des mesures réalisées sur la suspension de polystyrène à des jours différents avec le nouveau dispositif, sous les mêmes conditions expérimentales.

Les fonctions obtenues à différents jours montrent une très bonne reproductibilité. Le coefficient de variation illustré sur la Figure 34 est inférieur à 1% et s'approche de 4% au temps très court.

Les deux résultats de répétabilité et de reproductibilité sont semblables. Le Cv dans les deux cas est très faible ce qui s'explique par la structure très stable du milieu étudié au cours du temps.

### 1.2.3. Calcul de la viscosité à partir des résultats de DWS

Pour la suspension, la taille des diffuseurs est connue ainsi que la fonction d'autocorrélation  $g_2(t)$ , nous pouvons donc calculer la viscosité de cette dernière.

La viscosité de la suspension est calculée à partir de la moyenne des fonctions d'autocorrélation calculée, et la valeur trouvée est aux alentours de  $5,1 \cdot 10^{-5}$  Pa.s

La valeur recherchée correspond à celle de l'eau ultra-pure (la matrice dans laquelle baignent les nanosphères) mesurée par rhéométrie qui est de  $10^{-3}$  Pa.s

Cet écart s'explique par le fait que les nanosphères de polystyrène baignant dans l'eau sont chargées, et s'agrègent les unes aux autres. Il est recommandé d'empêcher l'agrégation via l'ajout de sel ou la modification du pH. Cette méthode neutralise les charges portées par les particules.

Le résultat obtenu après l'ajout de sel sera utilisé pour déduire la viscosité de la suspension.

Pour cela, une série de tests sur la solution concentrée de nanosphères de polystyrène de 200nm (25 essais) a été réalisée afin de tracer la fonction d'autocorrélation moyenne de l'intensité diffusée (voir la Figure 35).

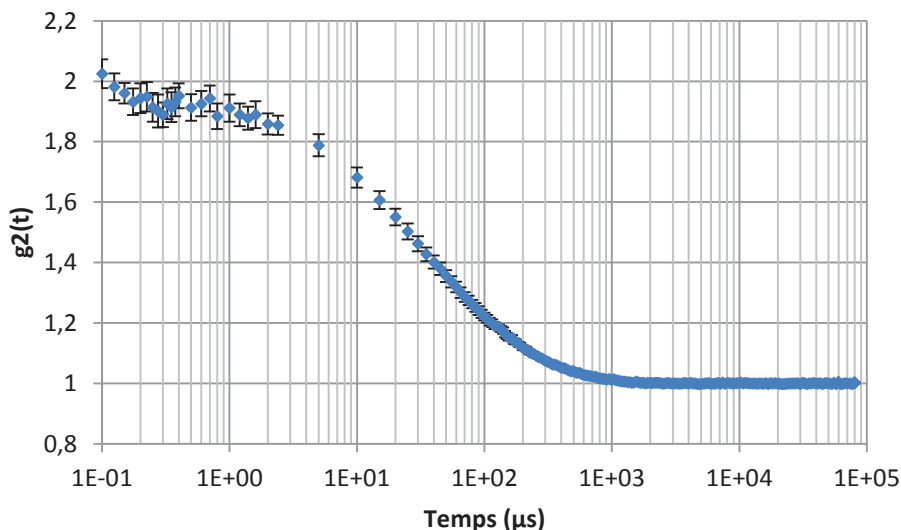
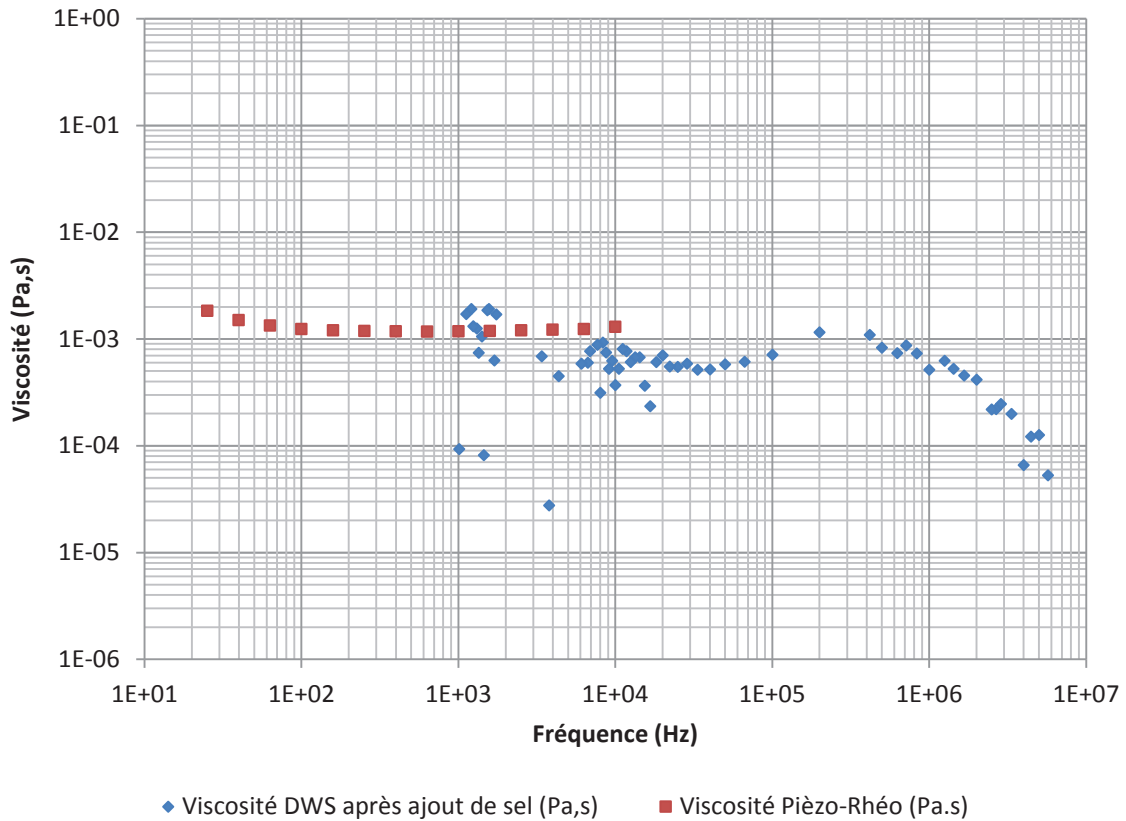


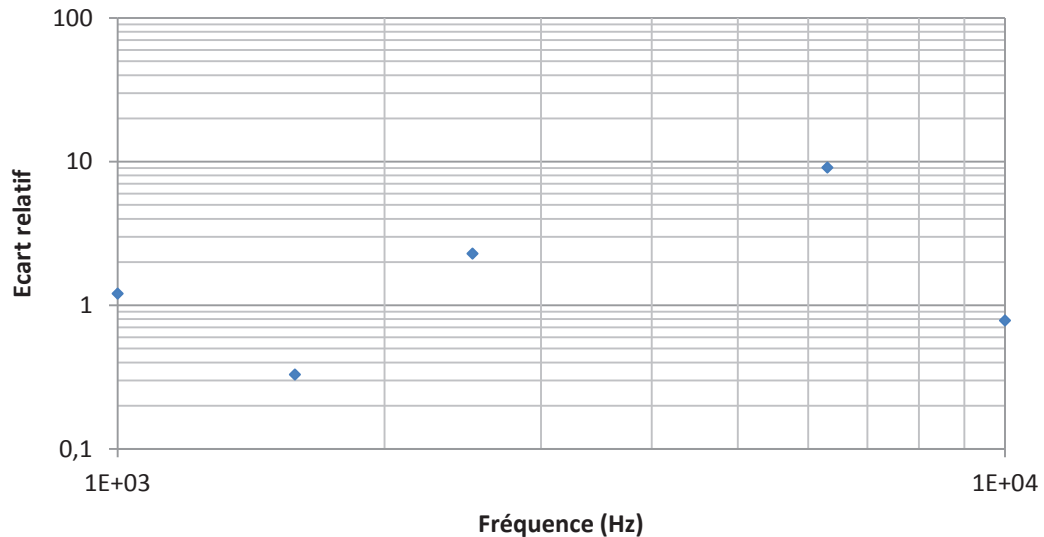
Figure 35. Fonction d'autocorrélation moyenne de la suspension concentrée de polystyrène après l'ajout de sel (moyenne sur 25 essais)

La viscosité en est déduite et est comparée sur la Figure 36 à celle mesurée par le piézo-rhéomètre.



**Figure 36. Comparaison entre la viscosité mesurée à l'aide d'un piézo-rhéomètre et celle calculée à partir de la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée moyenne sur 25 tests**

Nous constatons que les deux valeurs de viscosité sont très proches pour les fréquences élevées. Nous ne pouvons pas comparer au-delà de  $10^4$  Hz qui correspond à la fréquence maximale pour le piézo-rhéomètre, mais nous constatons que la viscosité calculée à partir du spectre de diffusion est proche de celle mesurée par rhéométrie. La différence entre les deux courbes est quantifiée en calculant l'écart entre elles. La Figure 37 illustre cette différence.



**Figure 37. L'écart relatif entre les valeurs de la viscosité calculée à partir des spectres de DWS et celle mesurée par rhéométrie sur l'intervalle de fréquence [10<sup>3</sup> - 10<sup>4</sup>] Hz**

L'écart entre les résultats rhéométriques et ceux issus de la DWS ne dépasse pas les 10%.

Dans ce cas, l'avantage de la diffusion de lumière est de pouvoir calculer la viscosité dans des intervalles de fréquences beaucoup plus élevés puisqu'elle sonde la dynamique dans des temps très court. Avec un inconvénient qui est la dispersion des données, en effet, comme nous pouvons le remarquer sur la Figure 36, il y a moins de dispersions sur la courbe de la viscosité mesurée par rhéologie comparée à celle calculée à partir des résultats de DWS.

### 1.3. Conclusion

Cette étude nous a montré au premier lieu une très bonne répétabilité et reproductibilité des mesures ( $C_v < 1\%$ ).

Elle a aussi montré la limite de la technique pour remonter à la viscosité d'un milieu où les particules sont en interactions les unes avec les autres, comme le cas de la suspension qui contenait des billes de latex agrégées baignant dans l'eau, et pour laquelle la viscosité calculée à partir de la fonction d'autocorrélation moyenne ne correspondait pas à celle issue des tests rhéométriques. En ajoutant du sel à la suspension pour décharger les particules, nous avons empêché la formation d'agrégats. La fonction d'autocorrélation alors mesurée est bien celle d'une suspension de billes rigides dans une eau pure et la confirmation nous en est donnée après déduction du spectre d'une viscosité proche de celle de l'eau.

Le Tableau 3 résume les différents résultats obtenus.



Elément étudié	Eléments diffuseurs	Taille diffuseurs	Viscosité calculée par rhéométrie	Viscosité calculée par DWS	Intervalle de fréquence	Intervalle de temps (sec)	Remarques
Suspension de nanoparticules de polystyrène	nanosphères de polystyrène	200nm ± 6nm	10 <sup>-3</sup> Pa.s	[2.10 <sup>-3</sup> – 5.10 <sup>-4</sup> ] Pa.s	[10 <sup>3</sup> – 10 <sup>6</sup> HZ]	[1 μs – 10 <sup>3</sup> μs]	Intervalle correspondant à la décroissance

Tableau 3. Récapitulatif des différentes informations tirées du spectre de DWS de la suspension de polystyrène

Afin d'augmenter le niveau de complexité de la structure étudiée, le milieu choisi pour l'étude suivante est une mousse.

## 2. Mousse

Les mousses sont utilisées dans des applications industrielles très variées et à des échelles diverses (Bikerman, 1973). Elles permettent de séparer les minéraux (cuivre, plomb, zinc...) des impuretés non métalliques du minerai (procédés de flottation) ou comme fluide de forage dans l'industrie pétrolière, ou même pour l'extinction d'incendies hydrocarbures.

Des travaux ont permis de mieux comprendre la structure des mousses, en utilisant différentes techniques, telles que la diffusion de lumière pour mesurer le taux de réarrangement des bulles (Labiausse, 2004) ou la rhéologie pour connaître leur module de cisaillement complexe et leur viscosité (Cohen-Addad, 2001).

La mousse choisie dans ce travail de thèse est la mousse à raser Gillette qui est un fluide complexe constitué de dispersions concentrées de bulles de gaz dans un liquide savonneux. Il s'agit d'une structure organisée sur plusieurs échelles de longueur. Macroscopiquement, elle paraît uniforme et homogène, mais microscopiquement elle est constituée de bulles de gaz séparée par des films de liquide savonneux dont l'épaisseur est comprise entre quelques nanomètres et quelques micromètres (Labiausse, 2004).

Ce milieu est très stable, car sa formulation est optimisée pour ralentir considérablement le disproportionnement. En effet, lorsque deux bulles de différents volumes sont voisines, la pression de gaz monte dans la plus petite des deux, ce qui induit la diffusion du gaz à travers le film liquide et la disparition de la petite bulle.

Le procédé de fabrication génère des très petites bulles : 20 à 50μm de diamètre (voir Figure 38), en utilisant un gaz extrêmement peu soluble dans le liquide moussant (mélange d'hydrocarbures).

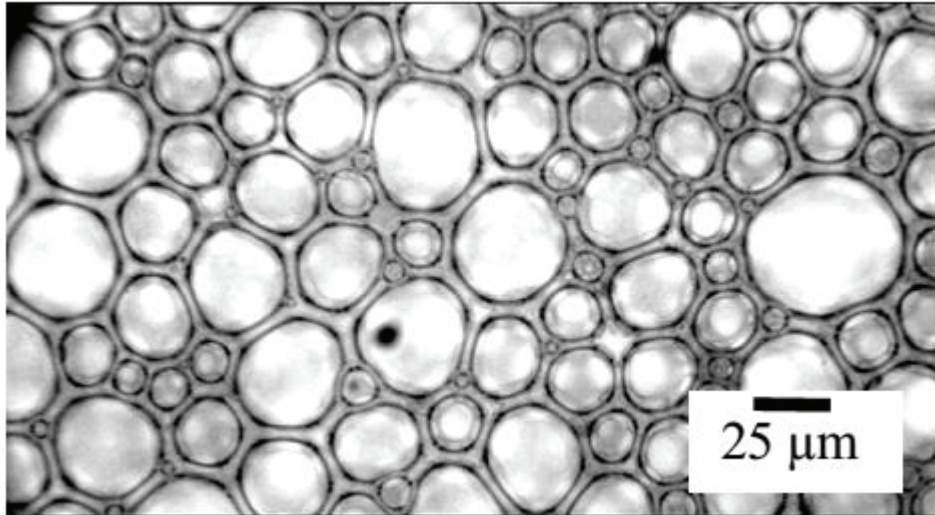


Figure 38. Photographie prise à la surface d'une mousse Gillette 20 min après sa fabrication (Labiauxse, 2004)

Le liquide moussant de la mousse Gillette est une solution aqueuse contenant de nombreux additifs et ayant un rôle soit dans la constitution de la mousse soit dans son utilisation en tant que produit de rasage. Le gaz est un mélange de propane et d'isobutane, avec une fraction volumique de 92.5%

### **2.1. Etude rhéométrique de la mousse**

Les mousses présentent des propriétés mécaniques remarquables qui dépendent de leurs constituants physico-chimiques et des contraintes qu'on leur applique.

Bien qu'elle soit constituée uniquement de fluides, une mousse peut se comporter soit comme un solide viscoélastique, soit comme un liquide visqueux non newtonien, selon la contrainte appliquée (Labiauxse, 2004). Lorsque cette dernière est suffisamment élevée, la viscosité décroît au cours du temps (Da Cruz, 2002).

La viscosité de cette mousse a été étudiée dans la littérature (Labiauxse, 2004), (Gopal, 1999), (Cohen-Addad, 1998) et a été mesurée grâce à des tests rhéologiques utilisant un rhéomètre de type Couette aux surfaces cylindriques rugueuses.

Pour étudier la mousse à raser, il est nécessaire de la fixer sur les deux plateaux du rhéomètre pour éviter son glissement. Le meilleur moyen de fixation dans le cas d'une mousse est le papier de verre.

#### **2.1.1. Etude de la mousse par le Bohlin**

Le rhéomètre choisi pour cette étude est le Bohlin configuré en Plan-Plan sur lequel le papier de verre sera collé (sur le plateau supérieur mobile et sur le plateau inférieur fixe).

Des tests harmoniques ont été réalisés à température ambiante, avec une amplitude de déformation de  $10^{-3}$  au bord de l'échantillon et sur un intervalle de fréquence de 0.1 à 10Hz.

La Figure 39 montre la viscosité moyenne (sur 15 tests) mesurée à l'aide du rhéomètre (le Bohlin).

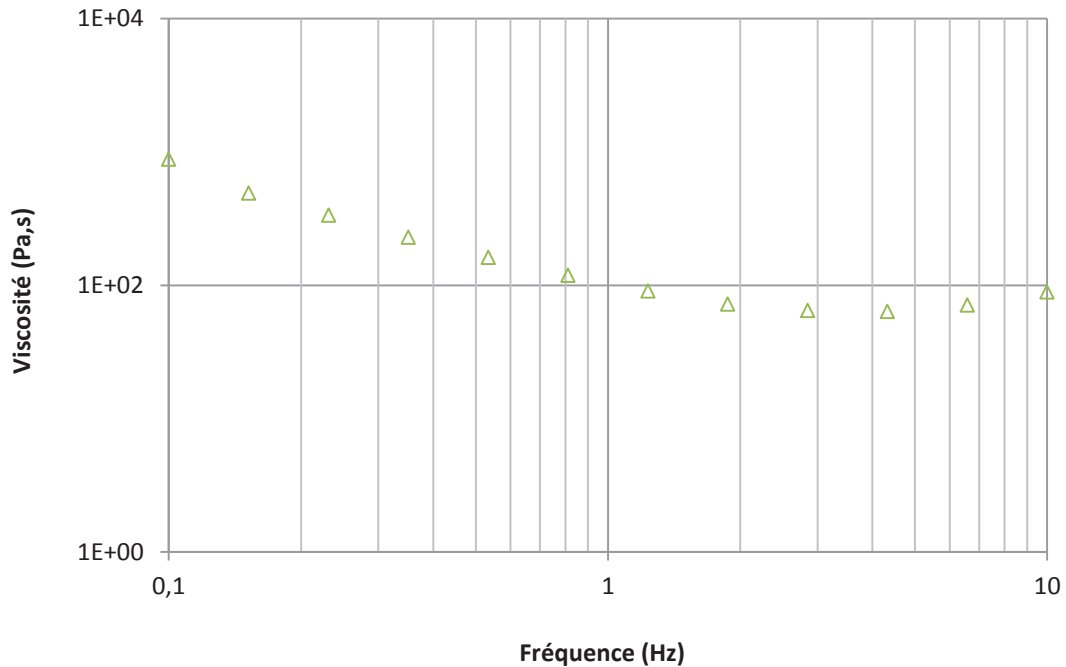


Figure 39. La viscosité moyenne mesurée à l'aide du rhéomètre (sur 15 essais).

Pour vérifier les résultats trouvés avec notre mousse, d'autres tests ont été effectués, cette fois avec un piézo-rhéomètre, qui permet d'avoir la viscosité dans des intervalles de fréquences plus étendus, ce qui sera d'une grande utilité pour la comparaison aux résultats de DWS qui permet de calculer la viscosité sur des intervalles de fréquences élevés.

### 2.1.2. Etude par le piézo-rhéomètre

Afin de s'assurer de ces résultats, le même flacon de mousse qui a servi à faire les tests rhéométriques (avec le Bohlin) sera utilisé pour faire des tests avec le piézo-rhéomètre.

Dans les tests rhéologiques la mousse a été fixée avec du papier de verre, dans le cas du piézo-rhéomètre l'utilisation du papier de verre étant assez délicate nous l'avons remplacé par du scotch double face.

La comparaison de la viscosité trouvée avec et sans fixation montre un grand écart entre les deux courbes (voir Figure 40).

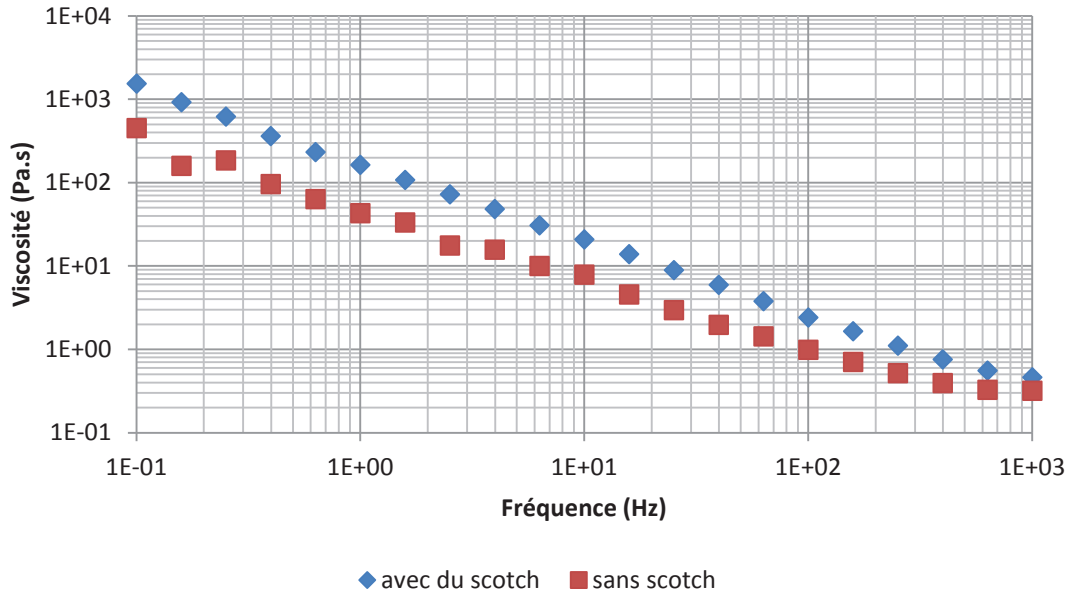


Figure 40. Effet de la fixation de la mousse (avec du scotch double face) sur la valeur de la viscosité mesurée pour deux échantillons de même épaisseur :  $e = 500\mu\text{m}$ .

Pour vérifier sa fiabilité nous avons fait des tests avec deux épaisseurs différentes.

La Figure 41 montre les résultats obtenus.

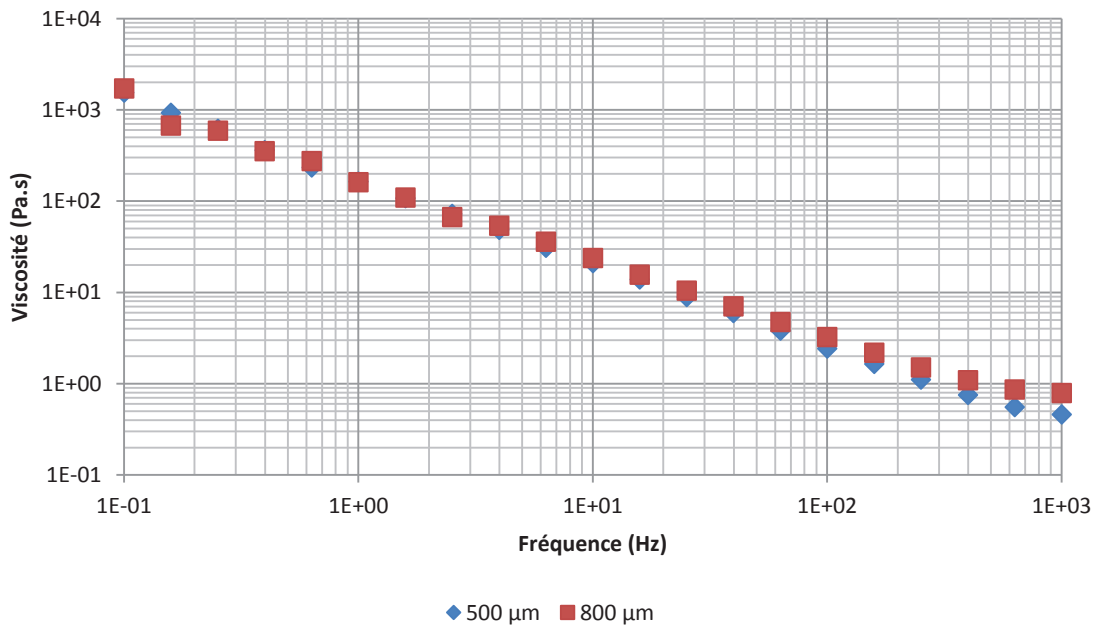


Figure 41. Viscosité de la mousse à raser à deux épaisseurs différentes avec l'usage du scotch double face pour fixer la mousse sur le plateau du piézo-rhéomètre

Nous constatons qu'en fixant la mousse avec le scotch, nous avons des mesures indépendantes de l'épaisseur, ce qui prouve l'efficacité de cette méthode de fixation.

Des tests de vérification de la répétabilité ont été effectués sur deux valeurs d'épaisseurs différentes : 500 $\mu\text{m}$  et 800 $\mu\text{m}$  (on note qu'on travaille dans les mêmes conditions expérimentales avec des prises différentes du même flacon de mousse).

Ces essais ont montré que les valeurs de la viscosité sont parfaitement répétables, avec un coefficient de variation inférieur à 0.2%, ceci quel que soit l'épaisseur utilisée (voir Figure 42).

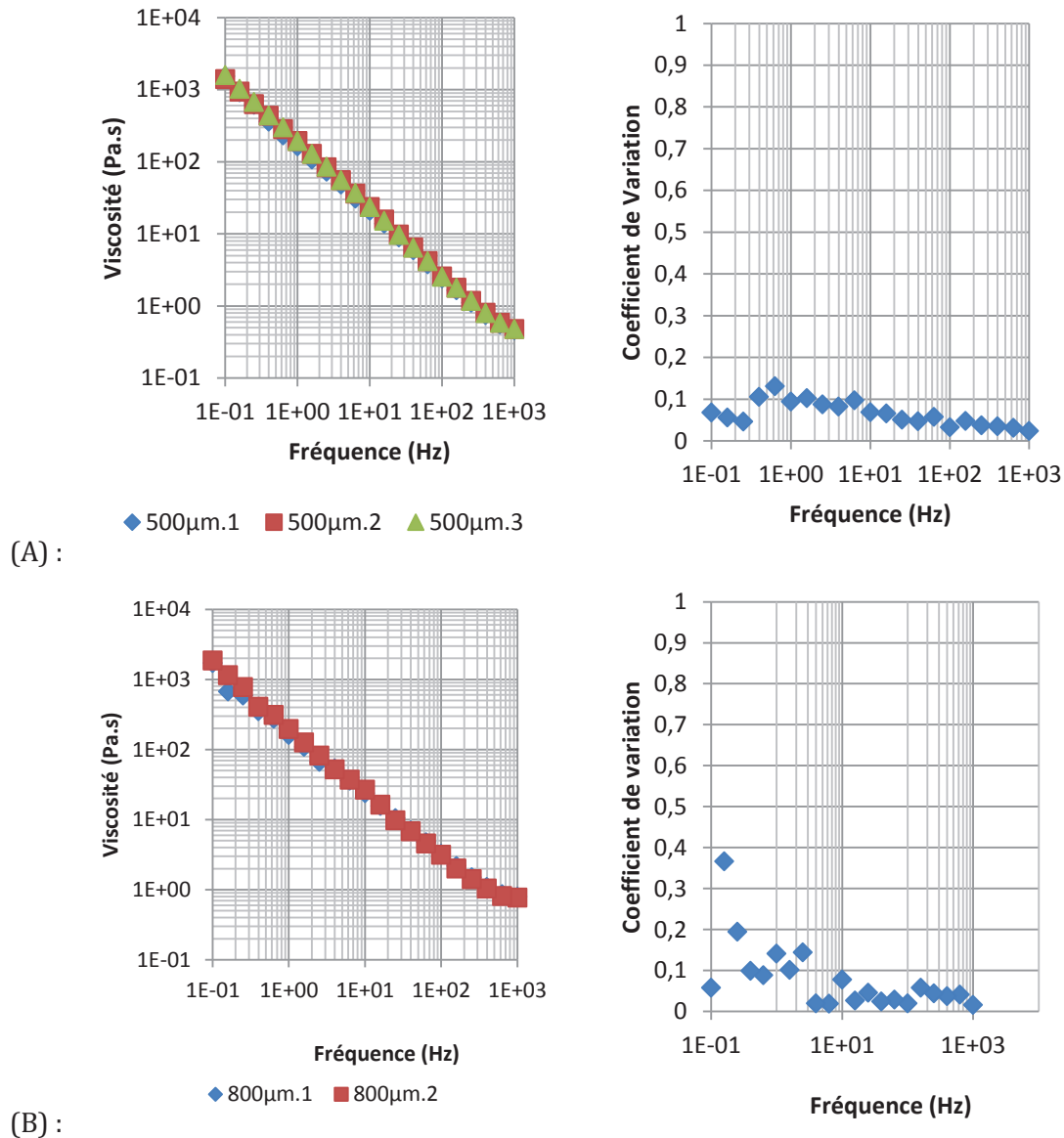


Figure 42. (A) de gauche à droite : viscosité de la mousse mesurée avec le piézo-rhéomètre en utilisant une épaisseur de 500 $\mu\text{m}$  avec fixation - le coefficient de variation calculé à partir de ces trois tests. (B) Viscosité mesurée avec une mousse de 800 $\mu\text{m}$  d'épaisseur avec fixation - le coefficient de variation de ces deux mesures

Nous pouvons constater que la méthode utilisée pour la fixation de la mousse à raser est fiable, et que les résultats sont répétables.

## **2.2. Etude de la mousse à raser par DWS**

La DWS a été utilisée par Labiausse (2004) pour suivre le disproportionnement de la mousse au cours du temps.

Dans ce travail, l'intérêt de cette étude est d'avoir une idée sur le comportement optique d'un matériau solide viscoélastique, qui représente des éléments diffuseurs de taille polydisperse, et qui sont en interactions continues les uns avec les autres. Son comportement doit être plus proche des matériaux biologiques que le lait ou la suspension de polystyrène considérés comme des fluides.

L'étude de la mousse à raser offre la possibilité de faire une comparaison avec les données bibliographiques, ce qui permet d'étalonner le dispositif avec un matériau viscoélastique, mais également de vérifier si le calcul utilisé pour remonter à la viscosité est valable pour ce type de matériaux complexes où les diffuseurs ne sont pas des sphères dures et sont en interactions continues.

### **2.2.1. Choix de l'épaisseur à utiliser**

A l'instar des études précédentes, nous commencerons par étudier l'épaisseur optimale pour les essais en diffusion de lumière.

Pour cela, des tests avec cinq épaisseurs différentes de la mousse de 0.5cm à 5cm ont été réalisés. Pour chaque valeur de l'épaisseur, 10 tests ont été conduits et les résultats moyennés.

Les échantillons proviennent tous du même flacon de mousse, et les essais se déroulent à température ambiante (25°C).

Les résultats de l'étude sont illustrés sur la Figure 43.

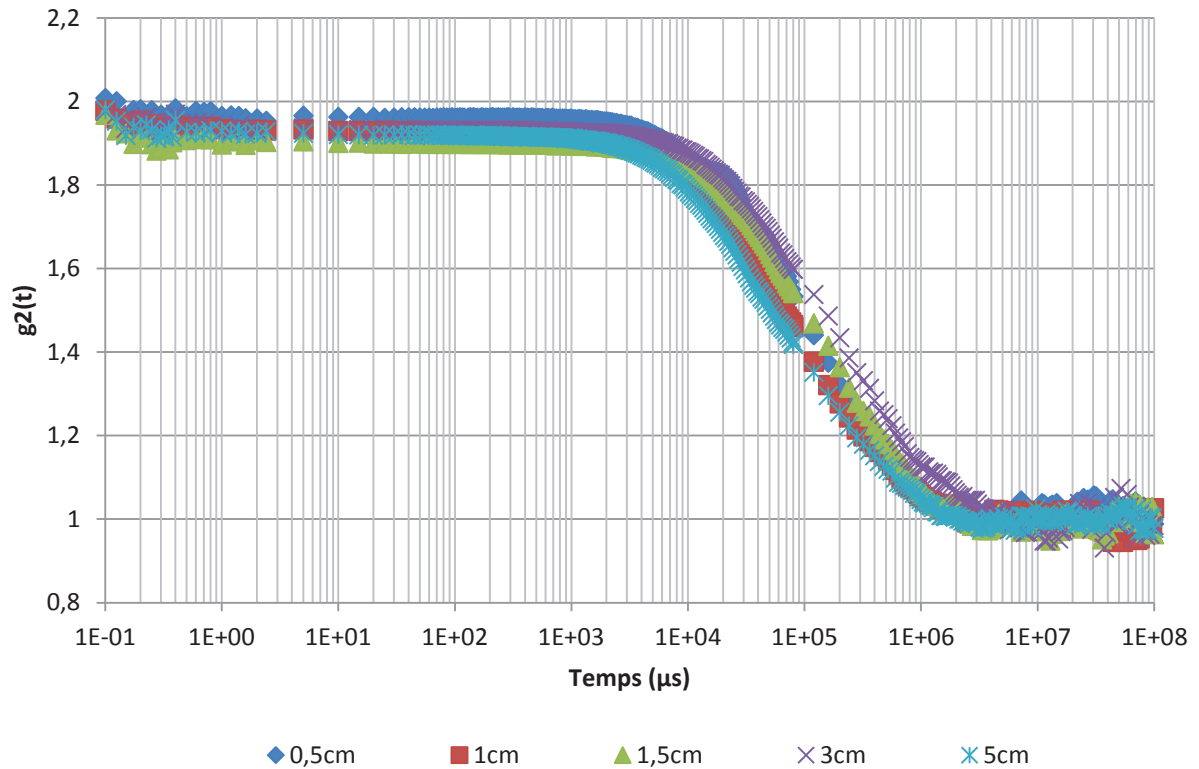


Figure 43. Fonctions d'autocorrélation moyennes (10 tests/épaisseur) de la mousse à raser Gillette à différentes épaisseurs allant de 0.5cm à 5cm.

Nous constatons que l'épaisseur de la mousse a un très faible effet sur les fonctions d'autocorrélations. Nous obtenons le même temps de relaxation (0.1 s), ainsi que les mêmes temps de début et de fin de la décorrélation.

Le coefficient de variation calculé est faible :  $C_v < 6\%$  (voir Figure 44), ce qui indique que les résultats obtenus pour différentes épaisseurs sont semblables.

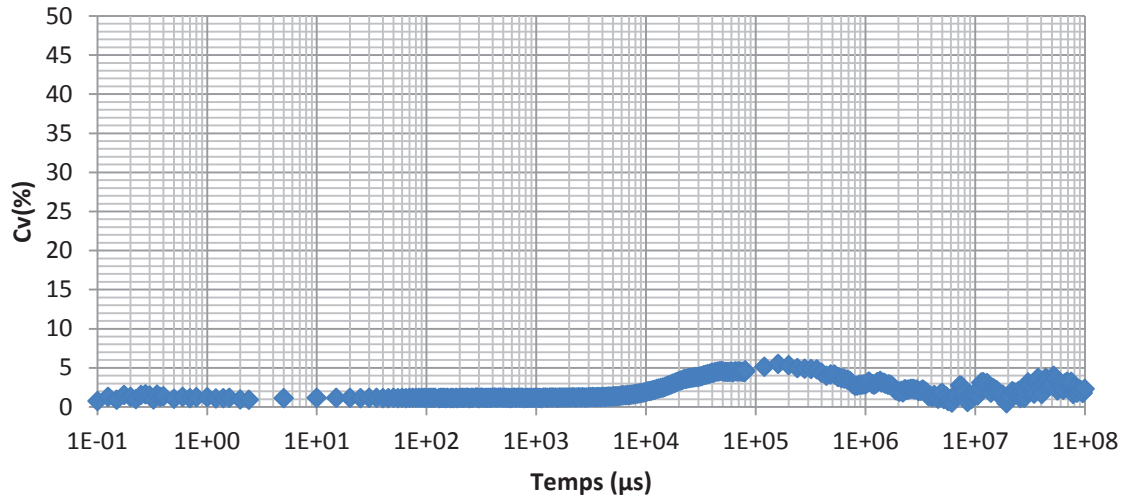


Figure 44. Coefficient de variation sur les mesures de la fonction d'autocorrélation à des épaisseurs différentes

Ceci peut être expliqué par la nature du milieu qui est fortement diffusant. En effet, nous remarquons que la lumière diffuse dans toutes les directions et nous observons toujours de la lumière transmise quelle que soit l'épaisseur étudiée (comme le montre la Figure 45). Nous pouvons donc conclure que la lumière diffusée ne dépend pas de l'épaisseur de l'échantillon contrairement à d'autres milieux moins diffusants, où l'épaisseur joue un rôle important dans la quantité de la lumière rétrodiffusée.



Figure 45. Image de la mousse à raser Gillette au cours d'un test de diffusion de lumière montrant une forte diffusion dans toutes les directions et une importante intensité transmise malgré l'épaisseur importante de la mousse.

### 2.2.2. Comparaison des résultats à la littérature

Les propriétés structurales et rhéologiques de cette mousse ont déjà fait l'objet de plusieurs études dans la littérature (Durian, 1991), (Cohen-Addad, 2001), (Gopal, 2003). Labiausse (2004) a mesuré sa fonction d'autocorrélation qui sert ici d'élément de comparaison pour les résultats trouvés par notre dispositif.



La Figure 46 montre la comparaison entre ces deux résultats.

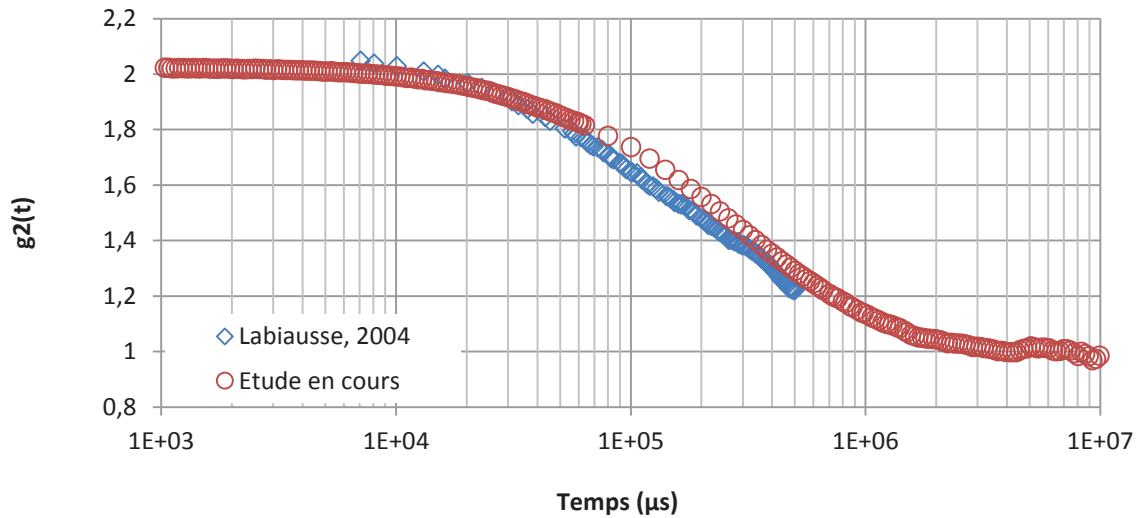


Figure 46. Comparaison de la fonction d'autocorrélation (moyenne sur 20 essais) enregistrée par le dispositif mis en place au cours de la thèse et le spectre trouvée dans la littérature (Labiausse, 2004)

Une bonne cohérence entre les deux spectres est constatée en calculant l'écart relatif entre les deux courbes, et qui est de l'ordre de 5% comme le montre la Figure 47

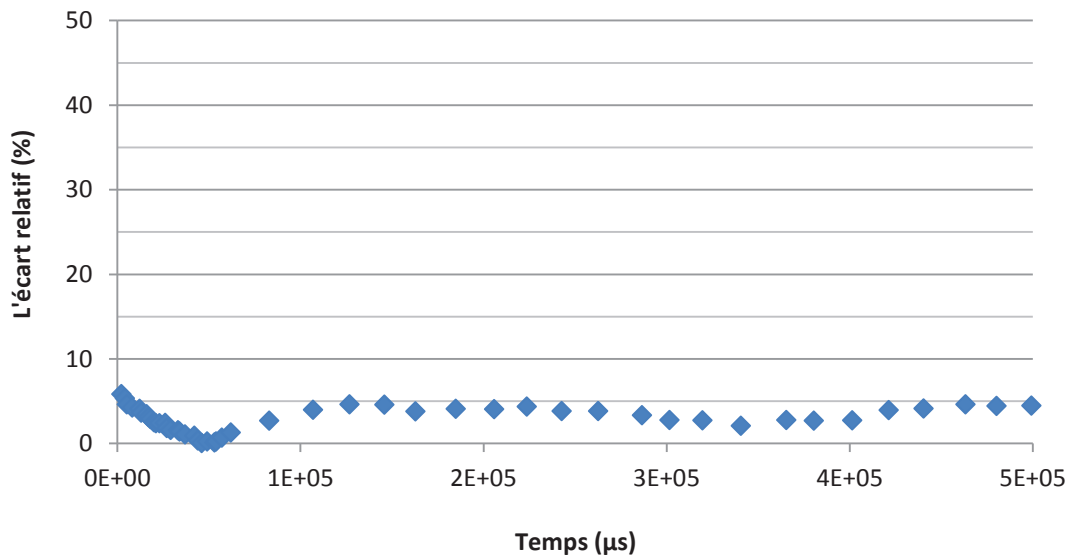


Figure 47. L'écart relatif entre la fonction d'autocorrélation de la mousse à raser obtenue avec le dispositif mis en place et celle donnée dans la littérature

Etudions à présent la répétabilité et la reproductibilité des mesures sur cette mousse.

### 2.2.3. L'étude de la répétabilité des mesures

Des tests de répétabilité ont été effectués sur une série de mesures (10 essais) dans la journée en gardant les mêmes conditions expérimentales. La fonction d'autocorrélation moyenne est illustrée sur la Figure 48

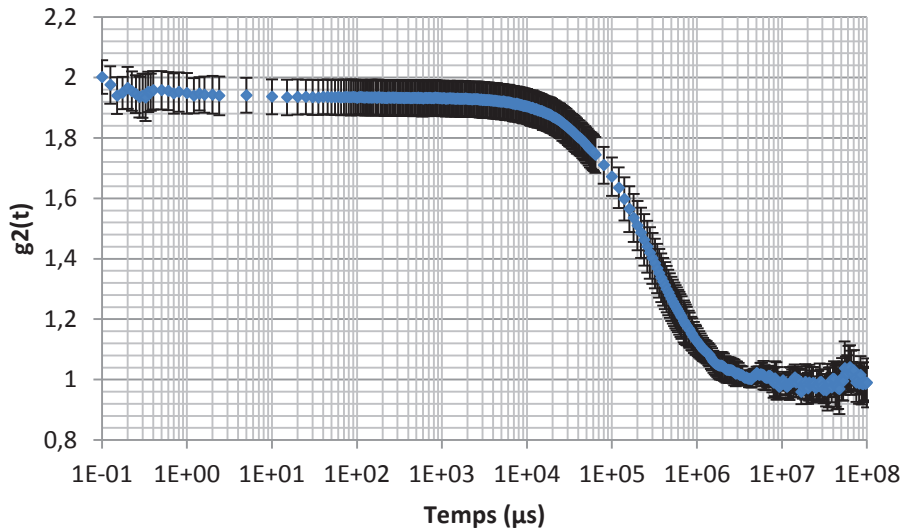


Figure 48. Fonction d'autocorrélation moyenne de la mousse à raser, obtenue en faisant la moyenne sur 10 échantillons de mousse testés dans les mêmes conditions expérimentales dans le même jour avec un court intervalle de temps.

Le coefficient de variation calculé (sur la Figure 49) étant inférieur à 6%, nous pouvons conclure que les résultats sur la mousse à raser sont répétables.

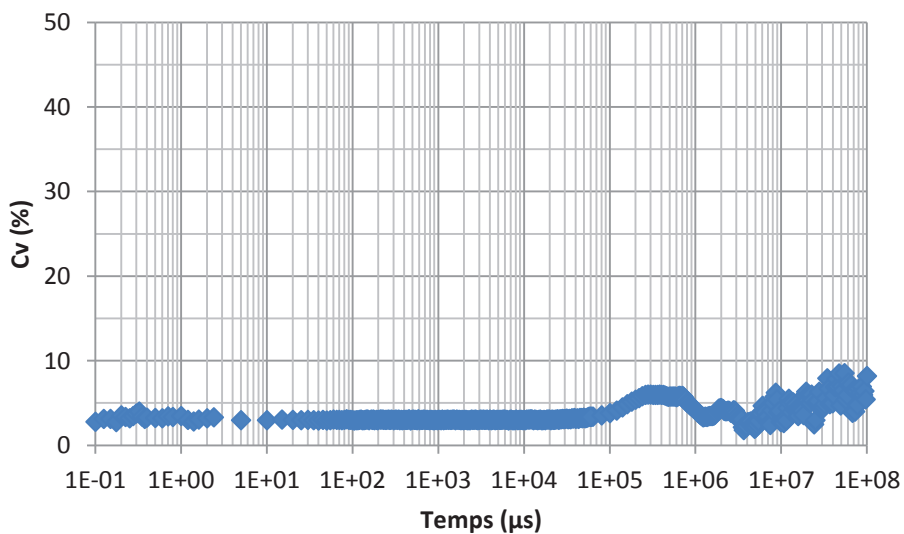
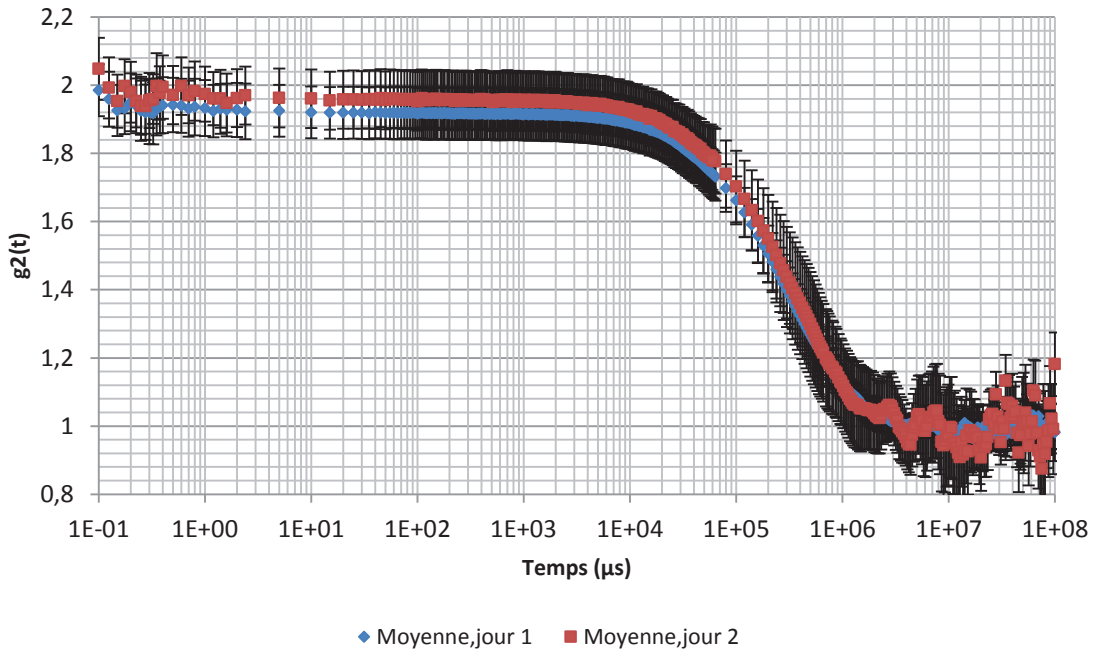


Figure 49. Etude de la répétabilité des essais sur la mousse à raser Gillette : Coefficient de variation (%)

### 2.2.4. Etude de la reproductibilité des mesures sur la mousse

Les fonctions d'autocorrélations moyennes (10 tests/jour) de la mousse à raser enregistrées à deux jours différents sont illustrées sur la Figure 50, et montrent une bonne reproductibilité du dispositif.

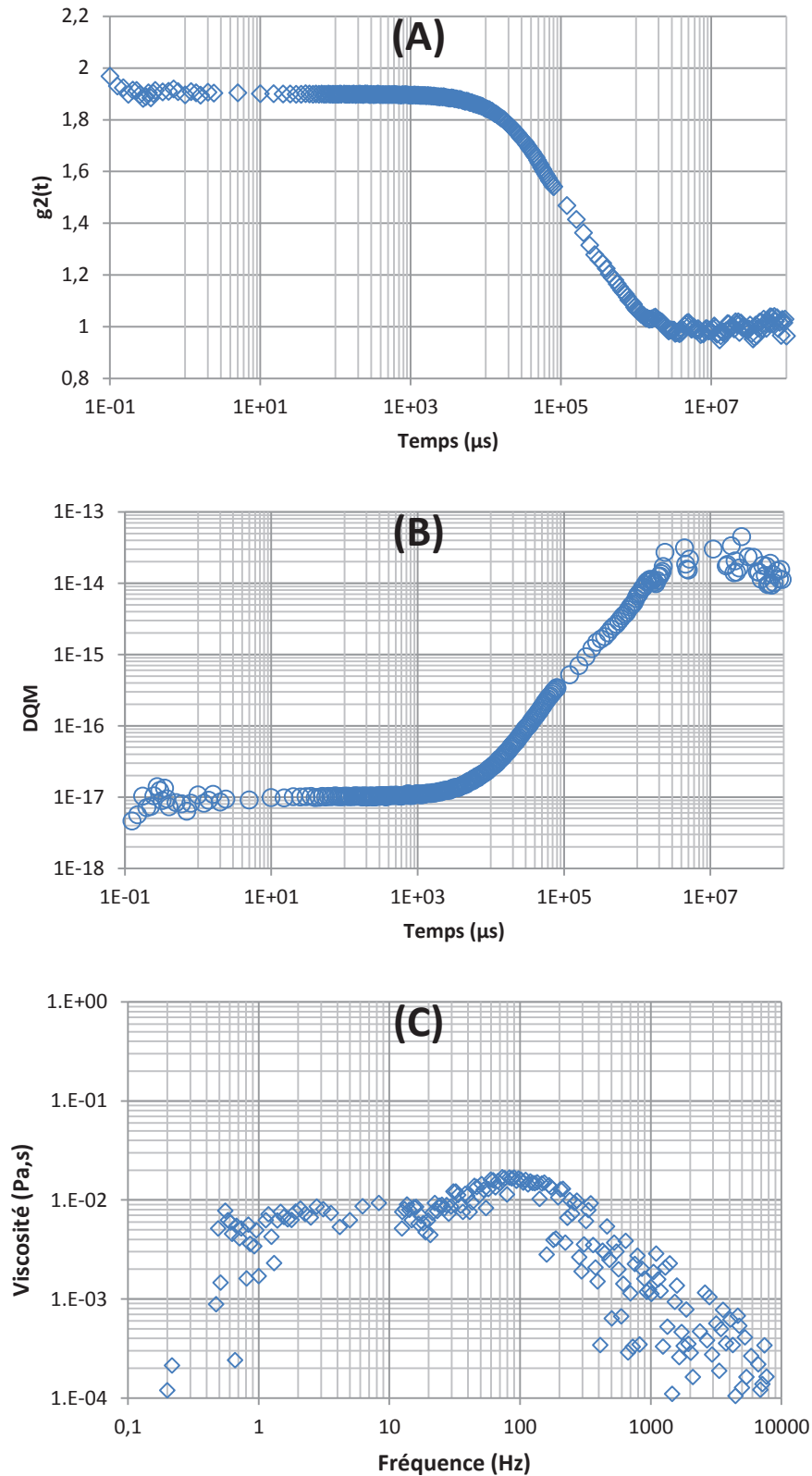


**Figure 50. Fonctions d'autocorrélation moyennes de l'intensité diffusée de la mousse à raser à deux jours de test différents (10 essais/jour)**

L'écart entre les deux spectres est faible (< 5%), ce qui signifie que les résultats sont reproductibles pour la mousse à raser.

### 2.2.5. Calcul de la viscosité à partir des résultats de DWS

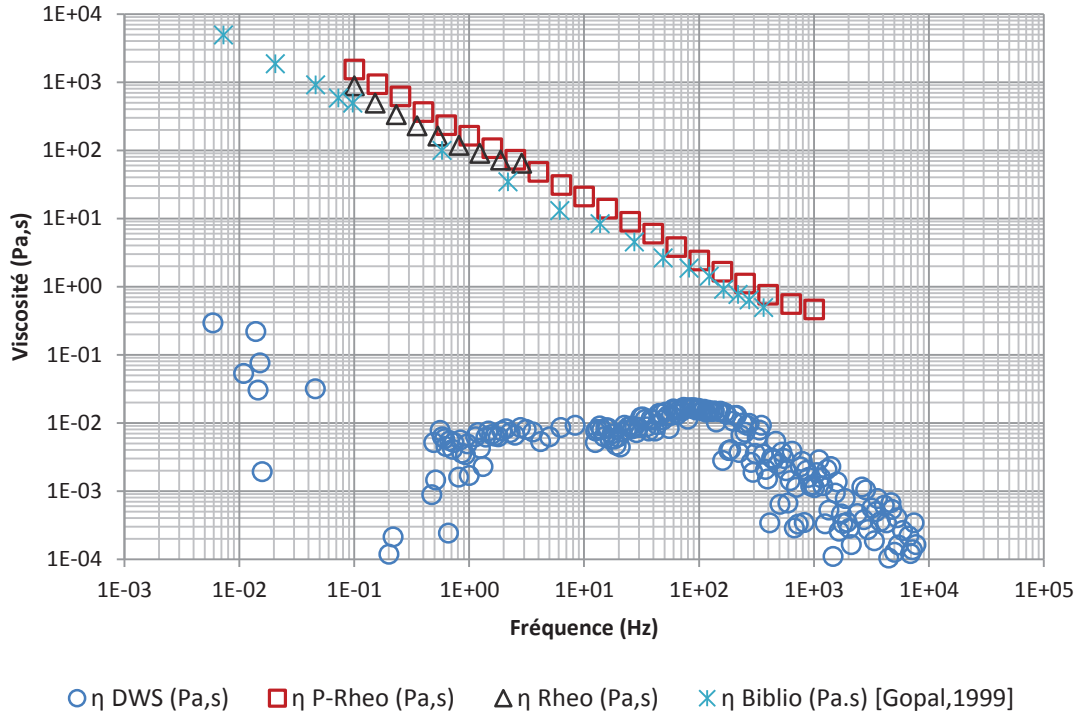
Comme précédemment, nous avons utilisé la fonction d'autocorrélation moyenne obtenue en diffusion de lumière pour déduire le déplacement quadratique moyen grâce auquel nous avons calculé la viscosité de la mousse.



**Figure 51. (A) : la fonction d'autocorrélation moyenne de la mousse à raser : moyenne sur 30 essais - (B) : le déplacement quadratique moyen obtenu à partir du spectre de DWS - (C) : la viscosité calculée à partir de la courbe B du déplacement des éléments diffuseurs.**

La viscosité calculée à partir de la fonction d'autocorrélation obtenue est environ de  $10^{-2}$  Pa.s sur l'intervalle de fréquence [0.4 , 400 Hz] qui correspond à l'intervalle de temps [2,5 ms – 2,5 s] sur lequel la fonction  $g_2(t)$  décroît.

Nous pouvons à présent comparer aux résultats rhéométriques déjà annoncés.



**Figure 52. Comparaison de la viscosité mesurée par le rhéomètre en configuration plan-plan, ainsi que celle mesurée par piézo-rhéomètre, celle calculée à partir de la fonction d'autocorrélation moyenne de l'intensité diffusée et celle rapportée dans la littérature.**

Nous remarquons que les viscosités mesurées avec les deux rhéomètres ainsi que celle de référence ont des valeurs très proches.

L'épaisseur utilisée dans les deux cas est de 500 $\mu$ m. En diffusion de lumière, nous avons prouvé que l'épaisseur n'a aucun effet sur le spectre obtenu.

Nous constatons que la valeur de la viscosité calculée à partir de la diffusion de lumière est différente de celle mesurée par les deux techniques rhéométriques.

En effet, la théorie de diffusion de lumière repose sur la mesure du mouvement brownien des éléments diffuseurs considérés comme des sphères dures qui sont soumis à l'agitation thermique et qui ont une taille monodisperse.

Dans le cas de la mousse à raser, les éléments diffuseurs sont les bulles d'air emprisonnées dans le liquide savonneux, elle sont très molles, ne se déplacent pas et leur structure se modifie très peu au cours du temps, donc ils ne répondent pas aux hypothèses sur lesquelles le calcul (permettant de remonter à la viscosité) est fondé, ce qui explique la

différence entre la viscosité calculée à partir des résultats de diffusion de lumière et celle mesurée par les techniques rhéométriques qui sont plus adaptés pour l'étude de ce type de matériaux complexes.

Dans ce cas, la DWS est complémentaire à la rhéologie puisqu'elle permet par exemple de sonder les réarrangements de la structure sous l'effet du vieillissement ou l'éclatement des petites bulles.

### 2.3. Conclusion

La comparaison du spectre de la mousse enregistré par le nouveau dispositif avec celui donné par la littérature a montré un faible écart entre les deux.

Concernant les résultats obtenus sur la mousse à raser, nous pouvons constater que la décorrélation de l'intensité diffusée par la mousse se produit dans des temps très lents, de l'ordre de 10 ms et se termine aux alentours de 1,5s avec un temps de relaxation se situant à 0,2s.

Par ailleurs, la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée de la mousse à raser n'a pas permis de remonter à la viscosité de la mousse, ce qui limite l'usage de la technique pour remonter aux propriétés mécaniques à des milieux où les diffuseurs peuvent être considérés comme des sphères dures, de taille monodisperse et qui sont sous mouvement brownien

Le Tableau 4 résume les résultats sur la mousse à raser

Élément étudié	Éléments diffuseurs	Taille diffuseurs	Viscosité donnée par rhéométrie	Viscosité calculée par DWS	Intervalle de fréquence	Intervalle de temps (sec)	Remarques
Mousse à raser Gillette	Bulles gazeuses sphériques	[20-50 $\mu\text{m}$ ] taille	[ $10^2 - 1$ ] Pa.s	$10^{-2}$	[1 - $10^2$ ] HZ]	[ $10^{-2} - 1$ ]	DWS ne permet pas de remonter à la viscosité d'un tel milieu

Tableau 4. Récapitulatif des différentes informations tirées de l'étude de la mousse à raser

### 3. Conclusion sur l'étude des différents milieux étudiés

Plusieurs tests ont été réalisés sur deux types de matériaux : un liquide purement visqueux et une mousse viscoélastique. L'objectif ici est d'augmenter la complexité de la structure et d'évaluer le potentiel de la technique de DWS sur ces différents matériaux.

La Figure 53 montre la comparaison des fonctions d'autocorrélation moyennes de chaque milieu étudié.

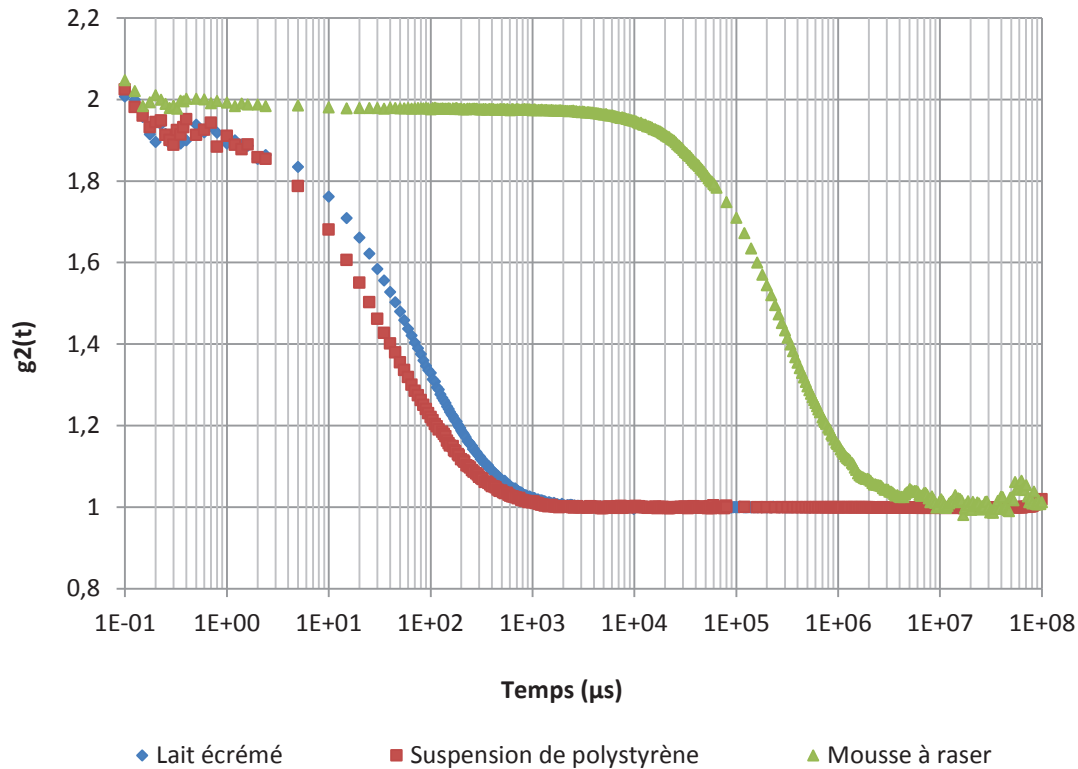


Figure 53. Les fonctions d'autocorrélation moyennes  $g_2(t)$  des différents milieux étudiés (lait, suspension, mousse)

Nous constatons que le lait et la suspension de polystyrène ont des spectres et des temps caractéristiques très semblables. Ceci s'explique par les tailles des particules et les viscosités quasi similaires dans les deux milieux. Nous constatons aussi que le début de la décorrélation se produit à des temps très faibles de l'ordre de la microseconde ce qui est dû à la taille nanométrique des diffuseurs (de 100 à 200 nm).

Pour la mousse à raser, la décorrélation commence à des temps beaucoup plus grands (10 ms) ce qui s'explique par la taille des éléments diffuseurs qui est plus importante que celle des micelles de caséines ou des nanosphères de polystyrène, ce qui est cohérent avec les données bibliographiques (taille des bulles entre 20 et 50  $\mu m$ ).

La technique de diffusion de lumière comme outil de caractérisation matérielle est de portée limitée dans le domaine des mousses car elle n'a pas permis de calculer la viscosité de la mousse étudiée, Khallil (2011) a démontré qu'elle ne permet des mesures que pour des gouttes de diamètre inférieur au micromètre dans le cas des émulsions.

Le Tableau 5 résume les différentes informations tirées de ces spectres :

milieu étudié	éléments diffuseurs	taille particules diffuseurs	tps début décorrélation	temps de relaxation	temps de fin de décorrélation	DWS permet de calculer $\eta$
<b>Lait écrémé</b>	Micelles de caséine	0,12 $\mu\text{m}$	1 $\mu\text{s}$	40 $\mu\text{s}$	1 ms	Oui
<b>Suspension</b>	nanosphères de polystyrène	0,20 $\mu\text{m}$	1 $\mu\text{s}$	30 $\mu\text{s}$	1 ms	Oui
<b>Mousse</b>	bulles d'air	20-50 $\mu\text{m}$	10 $\mu\text{s}$	0,2 s	3 s	Non

**Tableau 5. Récapitulatif des différents paramètres tirés des fonctions d'autocorrélation des matériaux étudiés (lait, suspension et mousse)**

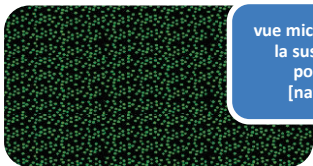
Les schémas suivants résument les différentes caractéristiques structurales des milieux étudiés ainsi que les résultats des expérimentations réalisées.



### Suspension de polystyrène



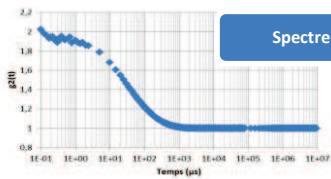
- Fluide visqueux  
- Constitué de nanosphères de polystyrène dans l'eau



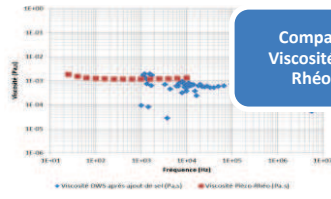
vue microscopique de la suspension de polystyrène [nature.com]



vue au microscope électronique des nanosphères de polystyrène dans l'eau [nature.com]



Spectre DWS

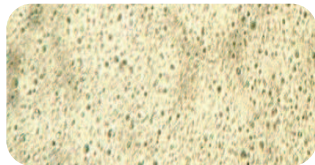


Comparaison Viscosité DWS / Rhéologie

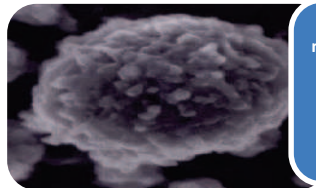
### Lait écrémé



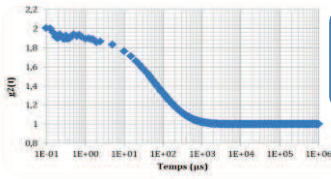
- Fluide purement visqueux  
- Constitué principalement de micelles de caséine



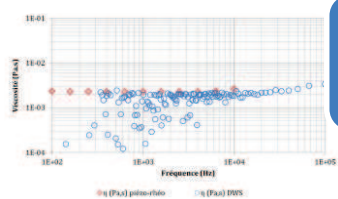
Goutte de lait vue au microscope, 1000x [Cheftel, 1977]



Structure d'une micelle de caséine de 120 nm vue par microscopie électronique à balayage [Dagleish, 2004]



Spectre DWS correspond à celui de référence



Comparaison Viscosité DWS / Rhéologie avec un écart < 20%

### Mousse à raser



- Fluide visco-élastique  
- Constitué de bulles d'air dans un liquide savonneux



vue microscopique d'une mousse

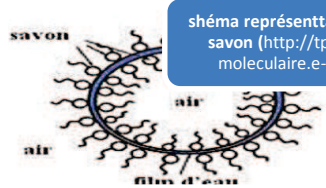
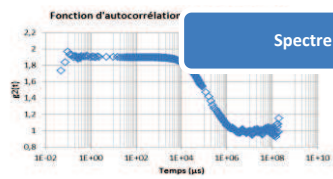
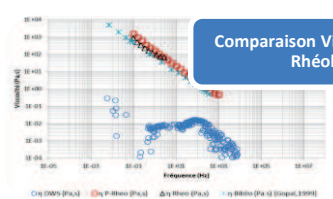


schéma représentatif d'une bulle de savon (<http://tpegastrologie-moleculaire.e-monsite.com>)



Spectre DWS



Comparaison Viscosité DWS / Rhéologie

Figure 54. Les différents milieux étudiés par DWS avec leur structure donnée dans la bibliographie [ (www.nature.com, /) (<http://tpegastrologie-moleculaire.e-monsite.com>, /) (Dagleish, 2004), (Cheftel, 1977)

## Chapitre IV : Etude des matériaux biologiques mous

---

*Ce chapitre est consacré à l'étude des tissus biologiques mous par diffusion de lumière. Seront à l'étude plus particulièrement le cortex rénal, le parenchyme hépatique et le cerveau de porc.*

*Une étude de la répétabilité, la reproductibilité ainsi que la variabilité de ces milieux biologiques sera menée.*

*Nous allons par la suite faire le calcul pour remonter à la viscosité, et nous allons suivre l'évolution du spectre de DWS au cours de la déshydratation du cortex rénal et du parenchyme hépatique, ainsi qu'au cours de la dégénérescence du cortex rénal.*

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la compréhension du comportement mécanique viscoélastique des tissus biologiques mous. L'objectif étant d'utiliser une nouvelle approche consistant à faire le lien entre les changements de la microstructure et le comportement macroscopique observé en utilisant une technique récente qui est la diffusion multiple de la lumière (DWS).

Vu que ce travail de thèse présente la première phase de l'étude des tissus biologiques mous par DWS, l'usage des tissus humains n'était pas envisagé. Nous avons donc choisi un modèle animal qui a l'avantage d'être disponible, c'est le porc.

Nous avons choisi d'étudier des organes qui ont différentes propriétés mécaniques et différents aspects physiques. Dans ce chapitre, le cortex rénal, le parenchyme hépatique ainsi que le cerveau de porc seront étudiés avec le dispositif de diffusion de lumière mis en place.

La première partie de ce chapitre sera consacrée à l'histologie de ces matériaux biologiques, tandis que la seconde partie donnera un bref aperçu du protocole expérimental détaillé en annexe.

La troisième partie sera consacrée à l'étude rhéologique de ces trois matériaux.

Enfin la quatrième et dernière partie concernera l'étude des matériaux biologiques par DWS. Les essais réalisés ont eu pour but :

- l'étude de la réponse des matériaux biologiques en fonction de l'épaisseur des échantillons testés.
- l'étude de la répétabilité, la reproductibilité ainsi que de la variabilité des mesures sur le rein, le foie et le cerveau de porc.
- la comparaison des différents spectres obtenus (du rein, foie et cerveau) ainsi que le calcul de la viscosité de ces matériaux à partir des spectres de DWS.
- l'application de la diffusion multiple de la lumière pour suivre l'évolution de la microstructure du cortex rénal de porc au cours de la :
  - o déshydratation
  - o dégénérescence

## **1. Histologie des matériaux biologiques étudiés**

### **1.1. Rein : cortex rénal**

Les reins font partis du système urinaire, ce sont des organes sécréteurs. Ils remplissent différentes fonctions (Welsch, 2004) comme le contrôle de la pression artérielle et le contenu en eau et en électrolytes de manière à maintenir constant, en volume et en osmolarité, l'espace extracellulaire, ils assurent la surveillance et le maintien de l'équilibre acide-base ainsi que l'élimination des produits terminaux du métabolisme des protéines, de la purine et de l'azote, ou des substances étrangères.

Les reins de porc sont des organes pairs, qui mesurent environ 12 cm de longueur, 6 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur, pèsent environ 150 g, et occupent une situation rétropéritonéale.

Déjà à l'œil nu, la structure du rein montre une division en bandes sombres de 6 à 10 mm de largeur correspondantes au cortex, et d'autres plus claires situées à l'intérieur et formant la médullaire (voir Figure 55 (A)).

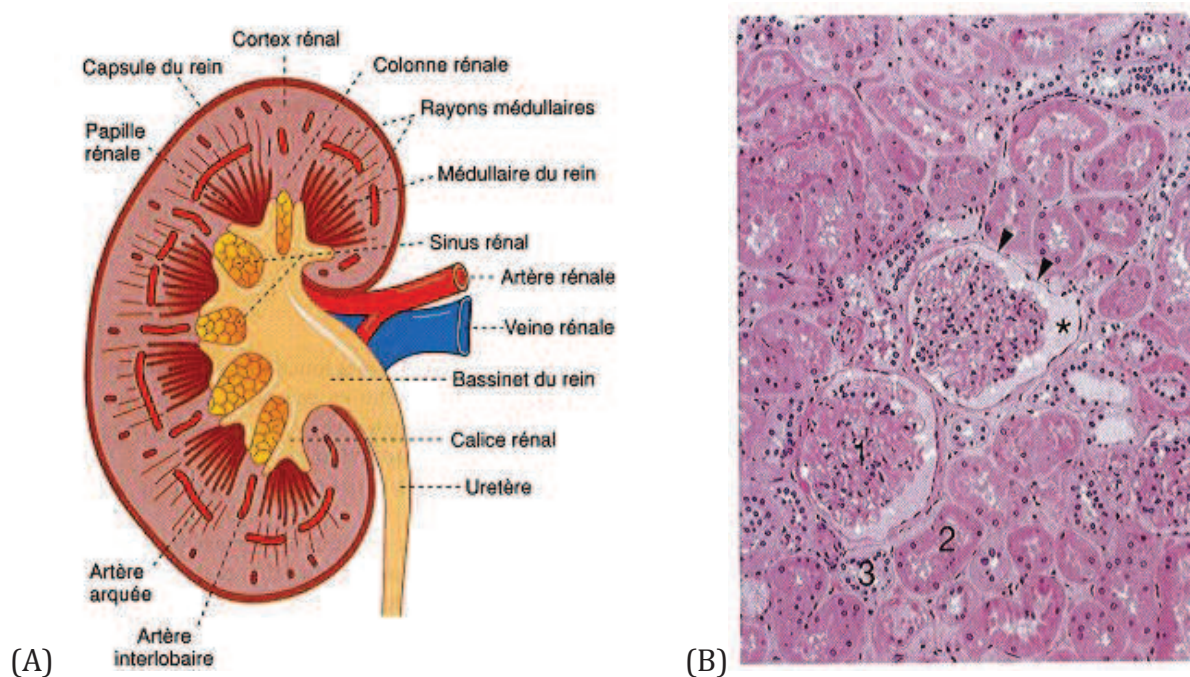


Figure 55. (A) : Rein de l'homme, en coupe longitudinale, représentation schématique – (B) : Coupe dans le cortex rénal (homme) avec glomérule (1) et les tubules proximal (2) et distal (3). ► Feuillet externe (pariétal) de la capsule de Brown ; \* espace capsulaire. Coupe au plastique, coloration : H.E. ; gross. : X100. (Welsch, 2004)

Dans notre étude, on s'intéresse au cortex rénal qui constitue -immédiatement sous la capsule- une zone externe. Elle est divisée en petits territoires par les rayons médullaires.

Les différents constituants du cortex rénal porcine sont représentés dans la Figure 55 (B), et sont résumés dans le Tableau 6.

Constituant	Taille
Glomérule rénal	200 $\mu$ m
Tubule proximal	Entre 50 et 60 $\mu$ m
Tubule distal	Entre 10 à 13 $\mu$ m

Tableau 6. Les différents constituants du cortex rénal porcine



## 1.2. Foie : parenchyme hépatique

Le foie constitue la plus grosse glande de l'organisme pesant chez l'Homme 1.5 Kg en moyenne, elle est située immédiatement sous le diaphragme dans la partie supérieure de l'abdomen.

La totalité du sang veineux provenant de l'intestin et le sang artériel de l'artère hépatique sont transportés par la veine porte jusqu'au foie.

Dans notre étude on s'intéressera au foie de porc, qui offre un modèle de description fidèle au foie humain (Hakim, 2009). Sur le plan histologique, il s'agit d'un organe plein parenchymateux qui est constitué de :

- Capsule conjonctive (capsule de Glisson).
- Des lobules.

Dans cette étude, on s'intéressera plus spécialement au parenchyme hépatique, car les échantillons testés seront découpés pour n'avoir que le parenchyme en évitant tout morceau contenant une veine visible à l'œil nu.

Le parenchyme hépatique est formé de travée de Remack qui sont des lames cellulaires anastomosées, épaisses d'une à deux cellules. Ces dernières sont des hépatocytes entre lesquels il y a des canalicules biliaires. Les travées de Remack sont séparées les unes des autres par des capillaires radiés. L'ensemble est supporté par des fibres de réticuline : les fibres grillagées du parenchyme hépatique (voir Figure 56).

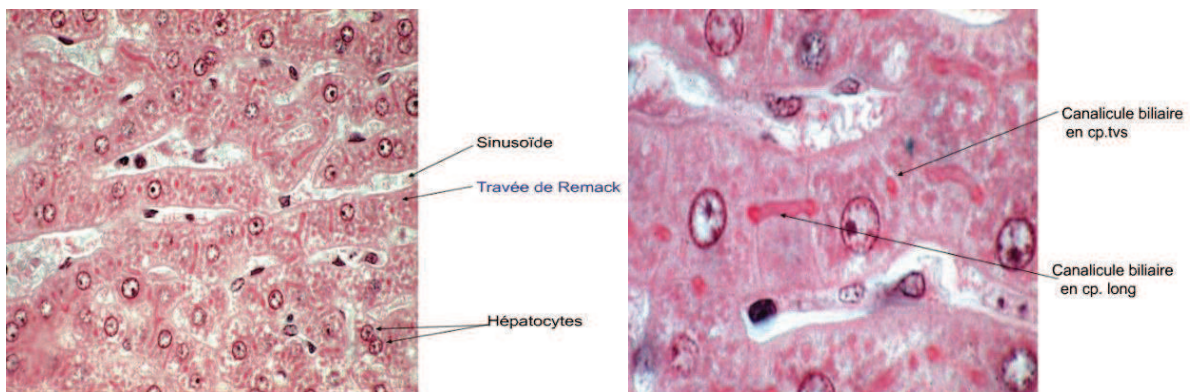


Figure 56. Image microscopique des constituants du parenchyme de foie de porc, avec à droite les deux types de canalicules biliaires et à gauche les hépatocytes, les sinusoides ainsi que les travées de Remack .

[\[http://www.edu.upmc.fr\]](http://www.edu.upmc.fr)

Le parenchyme hépatique est constitué principalement de (Denef, 1996) :

- **L'hépatocyte** qui présente 70% des cellules du foie. leur taille allant de 20 à 30 micron.
- **Les canalicules biliaires** qui ne sont pas visibles par les techniques ordinaires, et sont mis en évidence par des techniques d'imprégnation argentique, ils n'ont pas de paroi propre et sont situés entre les faces contiguës des hépatocytes.

- **Les capillaires radiés** ou **sinusoïde** qui possèdent un diamètre large et une paroi discontinue.
- **Les fibres grillagées** qui entrent dans la formation extracellulaire du lobule.

L'ensemble des éléments constituant le parenchyme est supporté par ces fibres de réticuline.

### 1.3. Cerveau

Le cerveau est constitué de trois sections bien distinctes, la première est le tronc cérébral, la seconde est le cervelet et enfin le prosencéphale comme le montre la Figure 57.

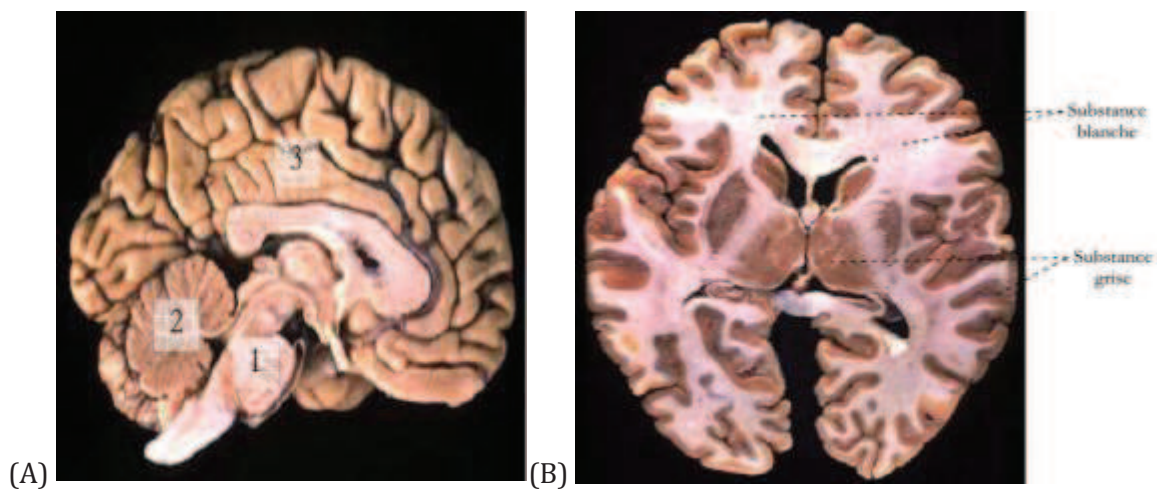


Figure 57. (A) Section sagittale du cerveau. (1):Tronc cérébral, (2):Cervelet et (3):Prosencéphale - (B) : coupe transversale d'un cerveau humain où l'on distingue la substance grise et blanche (Nicolle, 2003)

Dans cette étude, on s'intéressera à la troisième partie : l'encéphale, qui contient des cavités de forme et taille différentes. Dans ces cavités, circule le liquide céphalorachidien.

On distingue deux types de substances : la substance grise qui doit sa couleur à l'accumulation de cellules nerveuses et la substance blanche formée de fibres de conduction qui sont des prolongements de cellules nerveuses.

Le tissu nerveux est composé de cellules nerveuses qui sont les neurones et de cellules gliales.

Le Tableau 7 résume les différents constituants avec leur diamètre et proportion.

Types de cellules	Diamètre	Proportion
Neurone	5 à 50 $\mu\text{m}$	10 à 20%
Axones myélinisés	< 20 $\mu\text{m}$	
Axones amyélinisés	< 1 ou 1.5 $\mu\text{m}$	

<b>Astrocytes</b>	> 20µm	40%
<b>Oligodendrocytes</b>	< 20µm	20%
<b>Microglie</b>	Quelques µm	20 à 30 %

Tableau 7. Diamètre et proportion des principales cellules du tissu cérébrale dans un cerveau humain  
(Nicolle, 2003)

## 2. Protocole expérimental

Les pièces anatomiques utilisées pour toutes les manipulations proviennent de la boucherie. Leur transport est effectué dans des glacières qui permettent de garder les organes en hypothermie. Les coupes sont réalisées en utilisant deux lames soudées séparées de 4 mm, puis un emporte-pièce de 16 mm de diamètre. (Pour plus de détails, voir les deux protocoles « 2013\_HST\_OPT » et « 2012\_HST\_SHE » en Annexes A et B).

Ils sont conservés dans le liquide physiologique à 4°C et testés à température ambiante.

La Figure 58 illustre les différentes étapes de découpe du cortex rénal, du foie et du cerveau de porc

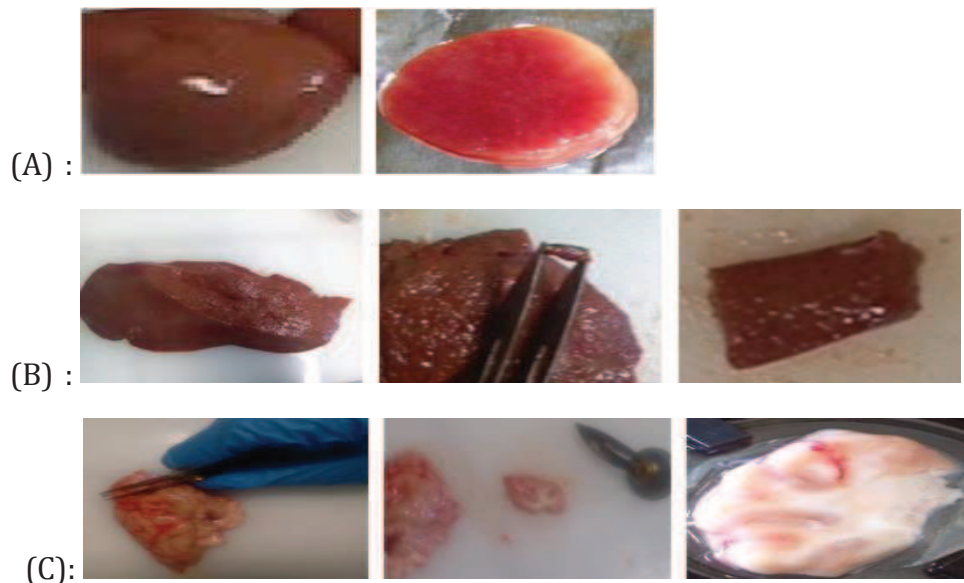


Figure 58. (A) : Découpe d'un échantillon de cortex rénal porcin avec un diamètre de 16mm et une épaisseur de 4mm - (B) : découpe du foie porcin avec une épaisseur de 4mm - (C) : les étapes de la découpe du cerveau de porc permettant d'avoir des échantillons avec les deux matières : blanche et grise

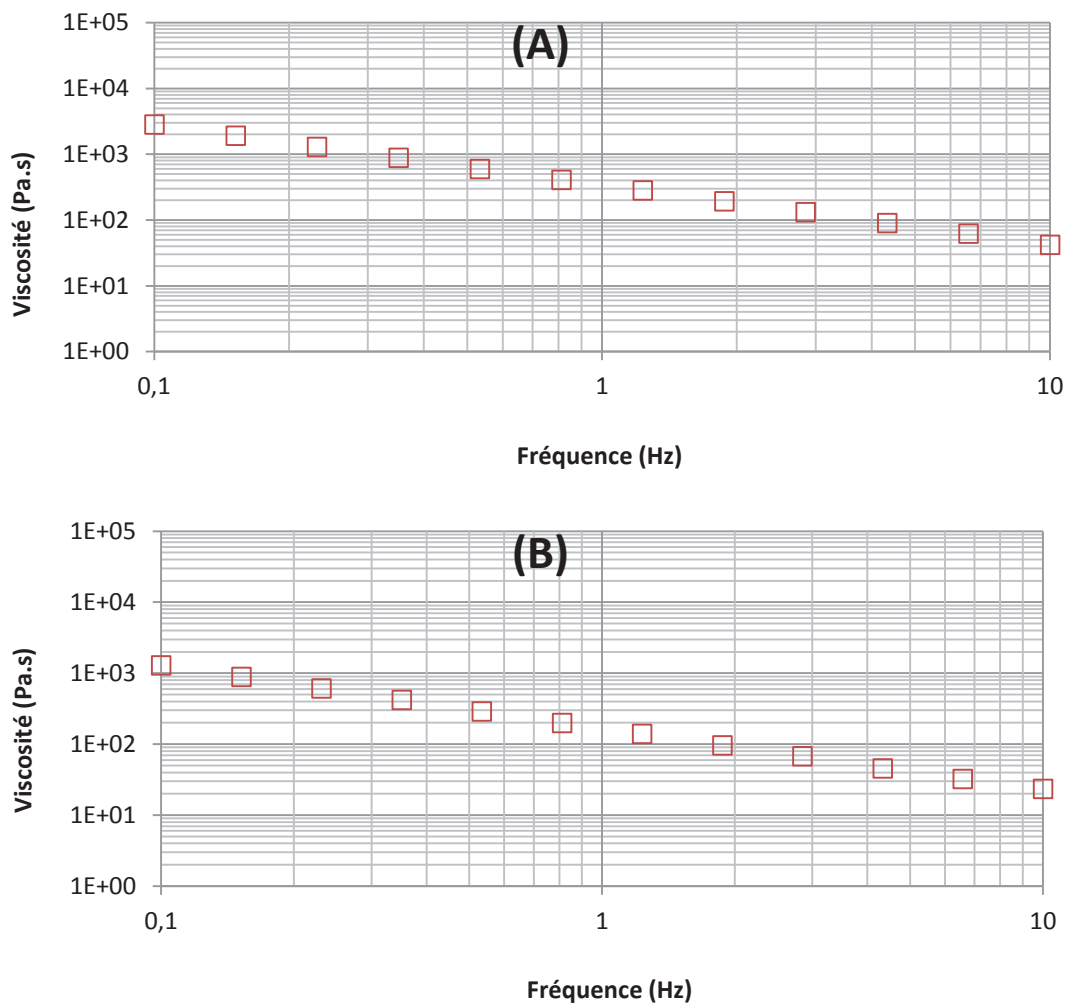
Après la découpe, les échantillons sont conservés dans le liquide physiologique à 4°C.

### 3. Etude par rhéologie

Des tests harmoniques ont été réalisés à l'aide du rhéomètre Bohlin en géométrie plan-plan. L'échantillon est soumis à un cisaillement en torsion qui produit une déformation d'amplitude  $10^{-3}$  au bord de l'échantillon. La fréquence des oscillations est variée sur un intervalle de 0.1 à 10Hz.

La Figure 59 montre la viscosité moyenne déduite des tests rhéologiques sur du :

- Cortex rénal porcin : moyenne sur 42 tests.
- Parenchyme hépatique : moyenne sur 18 tests.
- Cerveau : moyenne sur 55 tests.





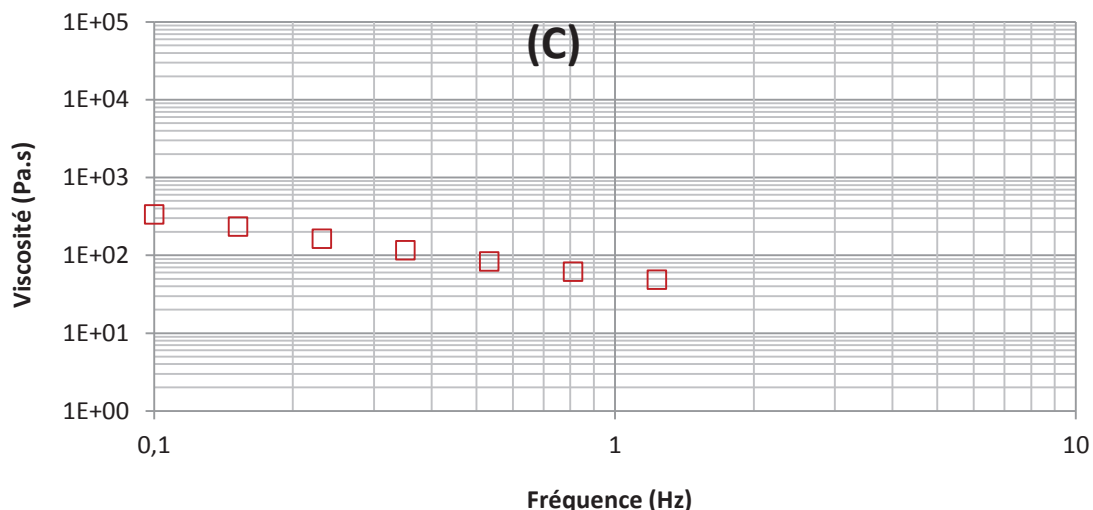


Figure 59. La viscosité du cortex rénal (A) – du parenchyme hépatique (B) - du cerveau (C) de porc mesurée par rhéologie

Nous allons par la suite étudier ces mêmes tissus avec le dispositif de DWS.

#### 4. Etude par DWS

Au cours de cette étude, plusieurs tests préliminaires sont réalisés de manière à déterminer l'influence sur la réponse optique de l'épaisseur de l'échantillon. Des tests de répétabilité, de reproductibilité et de variabilité ont par la suite été réalisés. Et enfin le suivi du spectre d'autocorrélation en fonction de la déshydratation et de la dégénérescence a été effectué.

##### 4.1. Découpe des échantillons

Afin de satisfaire une des perspectives de ce travail de thèse qui est de combiner la diffusion de lumière et la rhéométrie, les échantillons de matériaux biologiques testés par le dispositif optique seul, sont découpés avec un diamètre de 16mm qui correspond au diamètre standard des échantillons testés en rhéométrie.

##### 4.2. Effet de l'épaisseur des échantillons

L'épaisseur des échantillons peut avoir une influence sur leur spectre de diffusion. En effet, pour certains matériaux il faut dépasser une certaine valeur limite pour avoir suffisamment d'événements de diffusion comme pour le lait.

Il est donc nécessaire d'étudier l'effet de l'épaisseur sur la réponse des matériaux biologiques, et de voir s'il faut respecter une valeur limite.

### 4.2.1. Le cortex rénal

Plusieurs épaisseurs d'échantillons ont été étudiées : 0.5mm, 1mm, 2mm, 4mm, 6mm et 10mm. Dix échantillons ont été testés pour chaque valeur. Les reins utilisés sont tous frais et testés le jour de l'achat.

Les fonctions d'autocorrélation obtenues ne sont pas dépendantes de l'épaisseur, et la différence entre elles est due à la nature complexe du tissu, à l'endroit de la découpe ou à l'état du rein découpé.

Douze autres échantillons ont été testés pour compléter l'étude et les résultats confirment la conclusion tirée des premiers tests (voir la Figure 60).

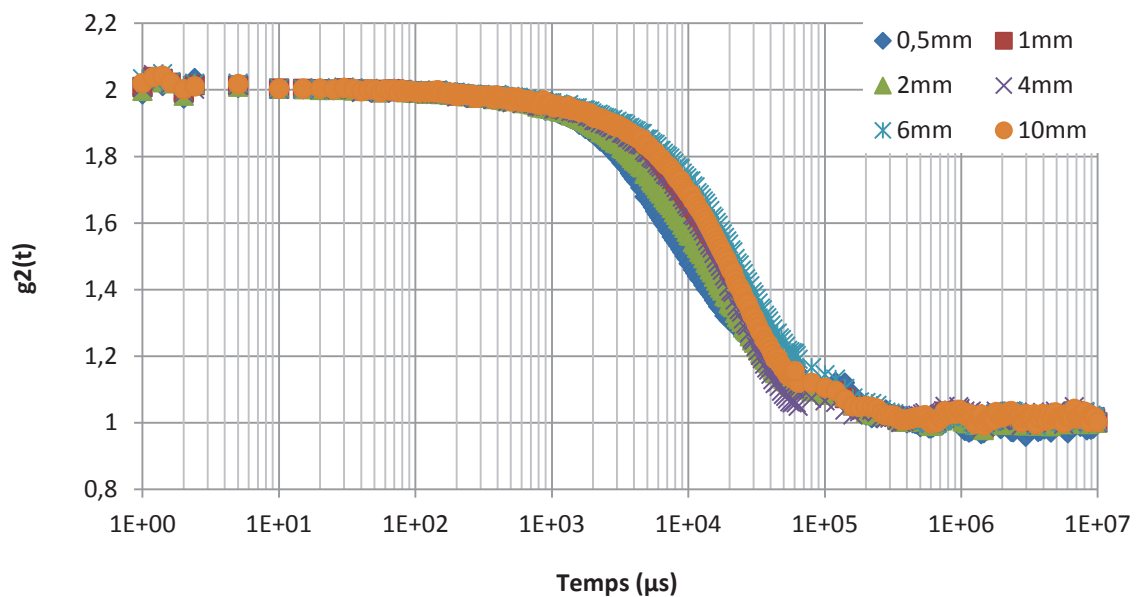


Figure 60. Fonctions d'autocorrélation du cortex rénal porcine obtenues à différentes épaisseurs allant de 0.5 mm à 1 cm

Par ailleurs, la répétabilité des mesures pour chaque valeur (4 essais pour chacune) est meilleure pour les échantillons épais de 4 et 6 mm (comme le montre la Figure 61).

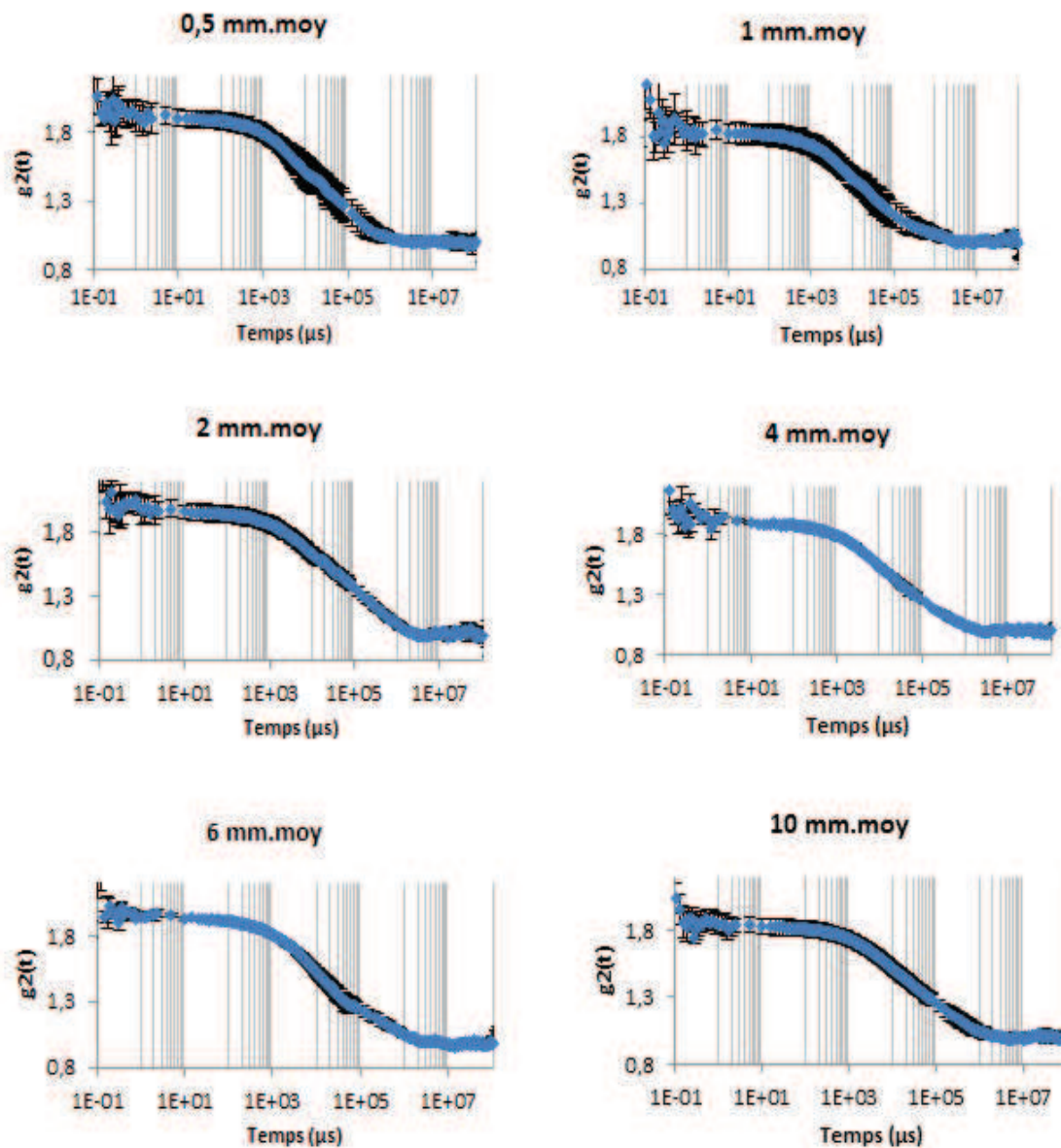


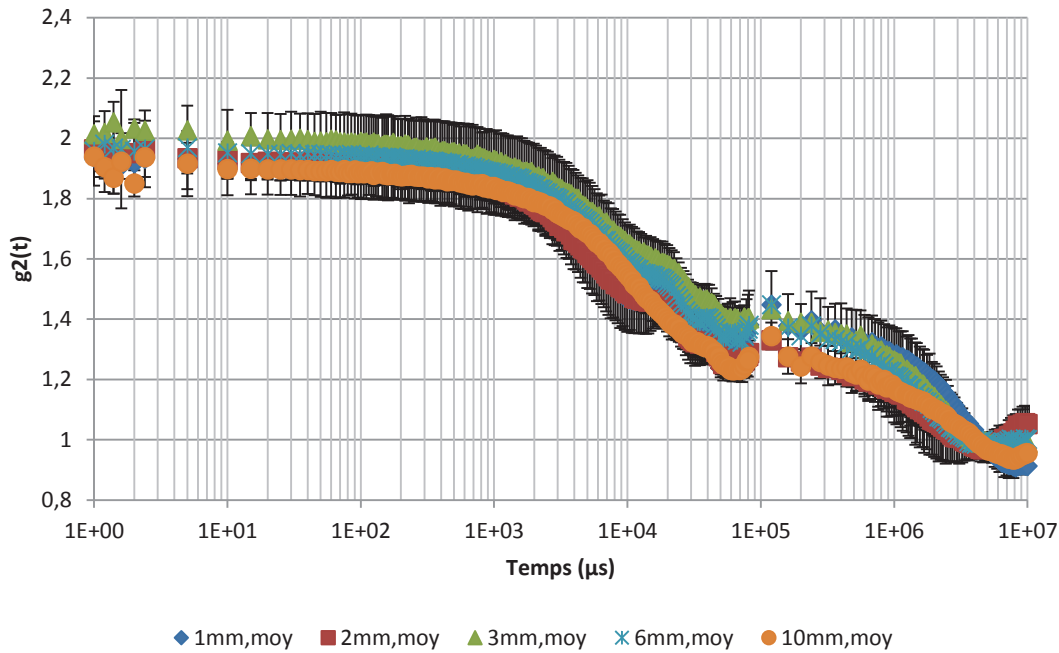
Figure 61. Fonctions d'autocorrélation moyennes à différentes épaisseurs, montrant une bonne répétabilité pour l'épaisseur de 4 mm

Pour des raisons de facilité de la découpe, l'épaisseur choisie pour étudier le cortex rénal porcine est de 4mm.

#### 4.2.2. Le parenchyme hépatique

Les échantillons testés provenant de deux foies de porc frais (4 et 3 jours avant la péremption) sont découpés à différentes épaisseurs allant de 1mm à 1cm.

Pour chaque épaisseur 3 échantillons sont testés, et la Figure 62 montre les fonctions d'autocorrélation moyennes enregistrées dans chaque cas.



**Figure 62. Fonctions d'autocorrélation moyennes (3 Echantillons / épaisseur) du foie de porc frais à différentes épaisseurs : 1mm-2mm-3mm-6mm et 10mm**

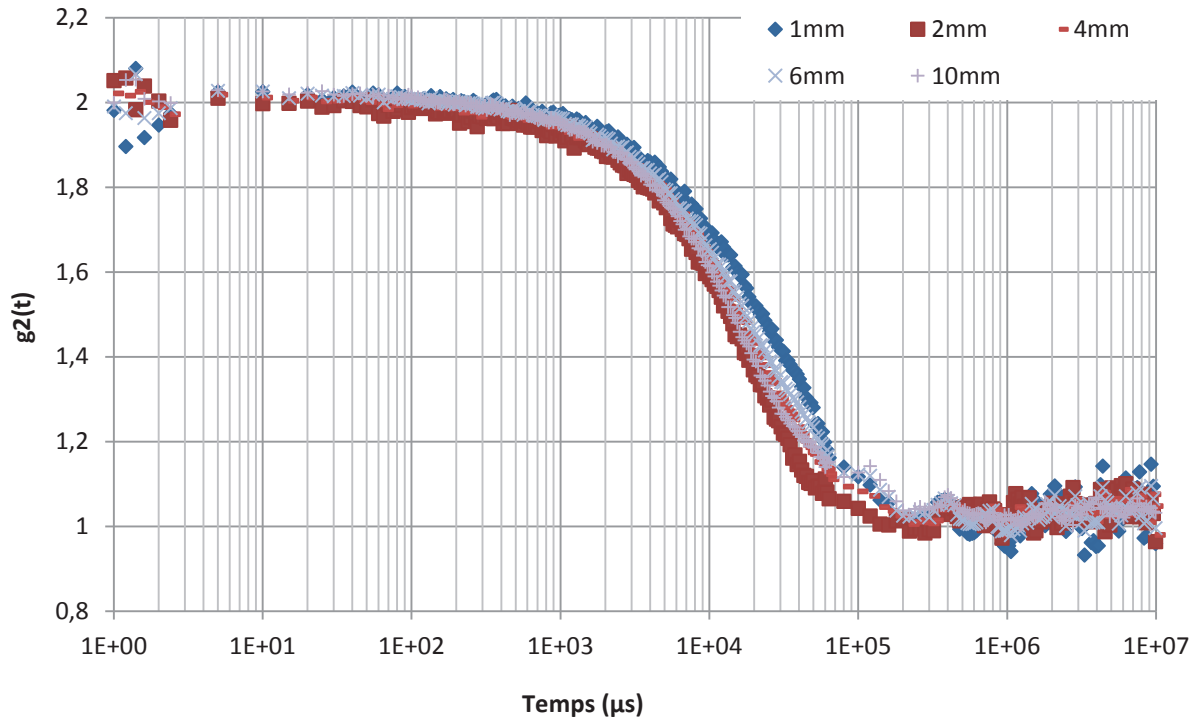
Les fonctions d'autocorrélation obtenues sont semblables, et l'épaisseur n'a pas un effet considérable sur la réponse du foie de porc même pour la valeur la plus faible (1mm).

Nous pouvons donc choisir l'épaisseur qui nous convient. Comme pour le cortex rénal, dans les tests suivants l'épaisseur des échantillons sera de 4mm.

### 4.2.3. Le cerveau de porc

Une vérification de l'épaisseur optimale à utiliser pour étudier le cerveau de porc a été effectuée en testant un cerveau de porc frais (4 jours avant sa date de péremption). Les échantillons à tester sont découpés à différentes épaisseurs allant de 1mm à 1cm.

Pour chaque épaisseur, trois tests sont réalisés. La Figure 63 montre la comparaison des fonctions d'autocorrélation moyennes dans chaque cas.



**Figure 63. Fonctions d'autocorrélation moyennes (3 tests/épaisseur) du cerveau de porc à différentes épaisseurs**

Nous constatons que les fonctions d'autocorrélation de toutes les épaisseurs étudiées ont les mêmes temps de début et de fin de la décorrélation avec le même temps de relaxation et la même forme.

Pour les mêmes raisons que dans l'étude du foie et du cortex rénal, l'épaisseur choisie pour étudier le cerveau de porc est de 4mm (maitrise et facilité de la découpe).

#### 4.2.4. Conclusion de l'étude de l'épaisseur

Nous avons constaté que l'épaisseur des tissus biologiques ne modifie pas leurs spectres, ce qui peut être expliqué par la nature très diffusante de ces milieux complexes. Néanmoins, il est recommandé d'utiliser une épaisseur supérieure ou égale à 4 mm puisqu'à cette épaisseur les résultats sont moins dispersés.

### 4.3. Etude de la répétabilité et la reproductibilité des matériaux biologiques

#### mous

#### 4.3.1. La répétabilité du cortex rénal porcine

Nous avons voulu voir si pour ce type d'échantillons on peut avoir des résultats répétables, pour cela nous avons réalisé plusieurs essais le même jour sur différents échantillons de cortex rénal porcine, achetés le même jour dans le même état de fraîcheur.

Selon Glûer (1995) pour avoir une bonne estimation de la répétabilité, il faut réaliser au moins 3 tests par échantillon pour 14 échantillons différents.

3 essais de répétabilité ont été réalisés sur 18 échantillons différents, la Figure 64 montre un exemple des fonctions obtenues sur le même échantillon dans les mêmes conditions expérimentales.

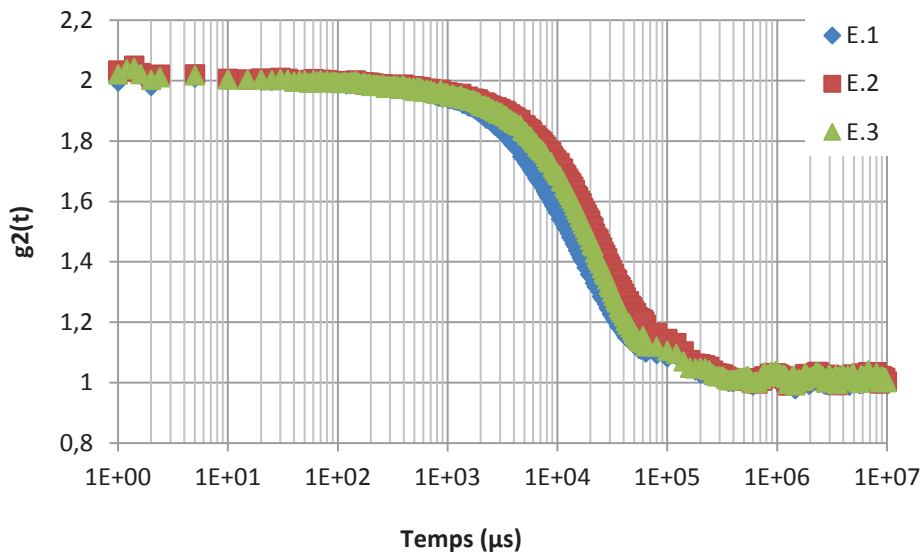


Figure 64. Etude de la répétabilité : Exemple de fonctions d'autocorrélation obtenues dans les mêmes conditions expérimentales le même jour avec un très court intervalle de temps (3essais/échantillon) sur un échantillon de cortex rénal porcin de 4 mm d'épaisseur.

Pour quantifier la répétabilité, le coefficient de variation a été calculé et illustré sur la Figure 65.

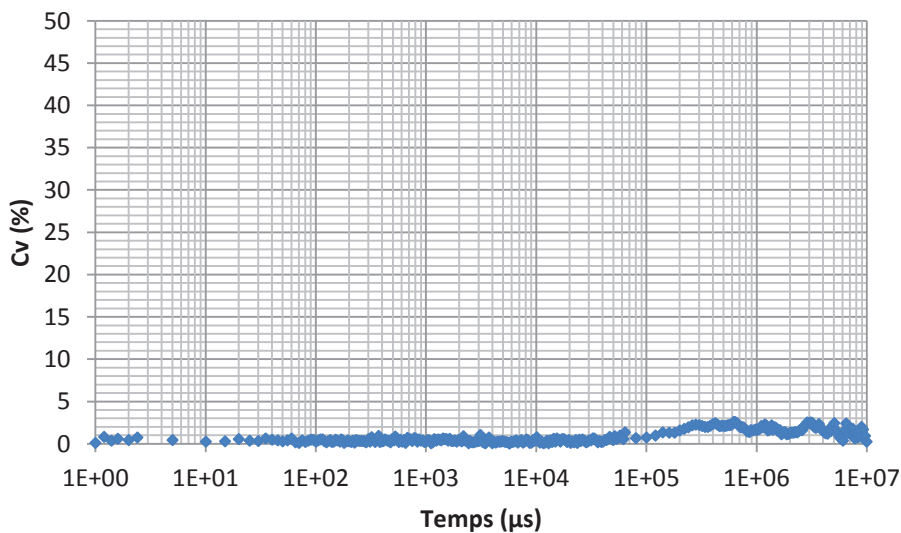


Figure 65. Répétabilité des mesures sur le cortex rénal porcin : Le coefficient de variation (%) des 54 tests réalisés sur le cortex rénal porcin avec  $e = 4mm$

Les résultats des tests de répétabilité montrent une répétabilité raisonnable sur les matériaux biologiques, avec un coefficient de variation inférieur à 2,4%.

### 4.3.2. La reproductibilité du cortex rénal porcin

Dix essais par jour ont été effectués pendant 2 jours différents sur le cortex rénal porcin, les échantillons proviennent de 2 reins de porc et ont le même état de fraîcheur, ils sont testés dans les mêmes conditions expérimentales.

La Figure 66 montre les fonctions d'autocorrélation moyennes (sur 10 essais) obtenues à deux jours de tests.

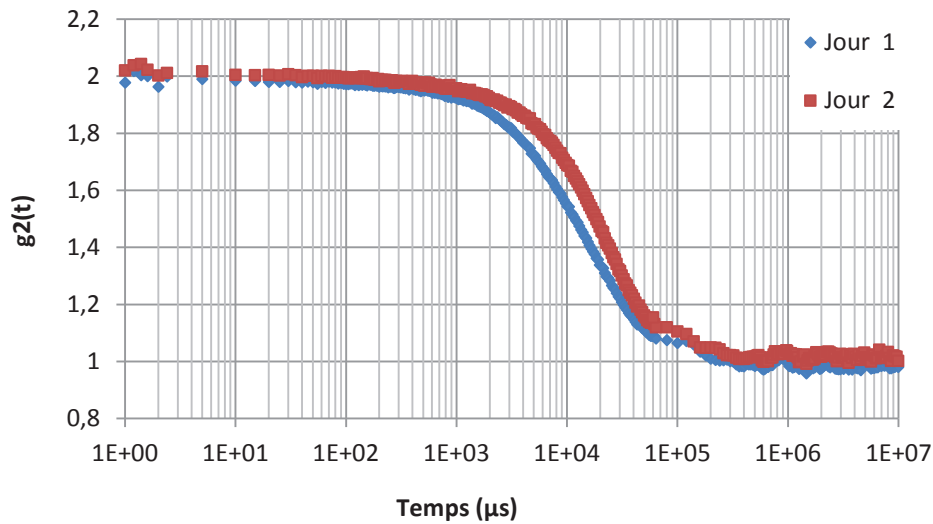


Figure 66. Fonctions d'autocorrélation moyennes (10 essais / jour) du cortex rénal porcin enregistrées dans les mêmes conditions expérimentales à 2 jours différents

Le coefficient de variation des résultats obtenus à différents jours a été calculé, il est illustré sur la Figure 67.

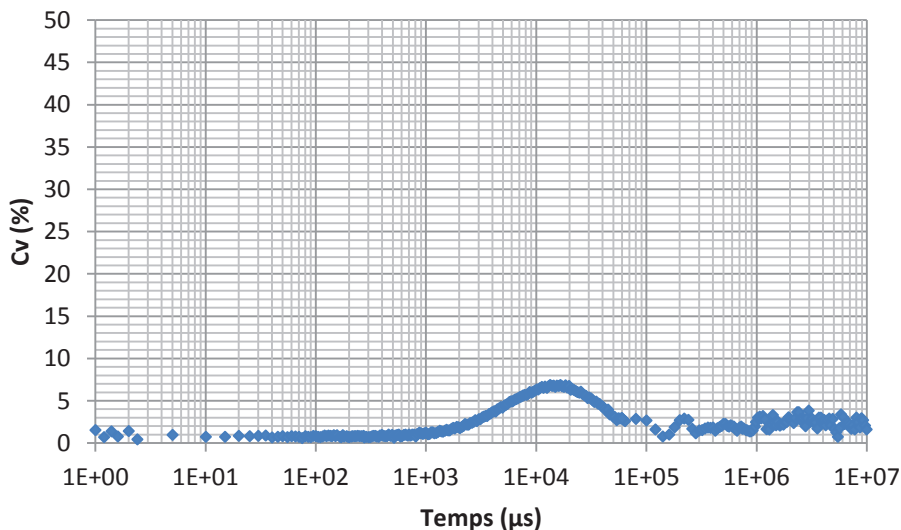


Figure 67. Etude de la reproductibilité des tests sur cortex rénal porcin : Coefficient de variation (%) de 60 tests réalisés à 6 jours différents sur 5 reins de porc frais, et effectués dans les mêmes conditions expérimentales.

Ces résultats montrent une bonne reproductibilité de la mesure, avec un coefficient de variation inférieur à 6,7%.

### 4.3.3. La répétabilité du parenchyme hépatique

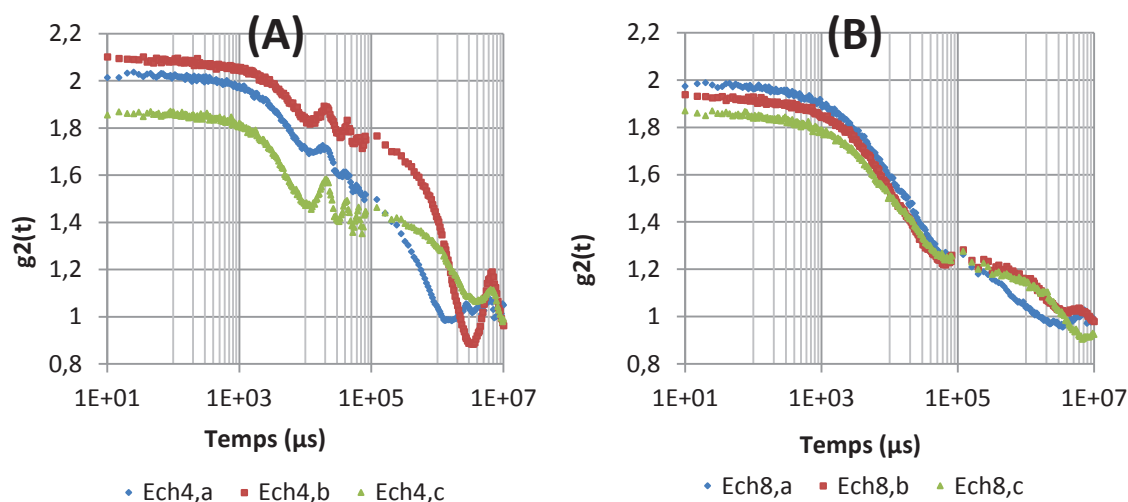
Afin d'estimer la répétabilité des mesures sur foie de porc frais, 42 tests ont été réalisés.

Les échantillons testés proviennent de 2 foies de porc frais. Chacun d'eux sera testé 3 fois de suite. Le nombre total des échantillons découpé est de 14 échantillons.

Nous avons constaté que la réponse des premiers échantillons n'était pas répétable, et qu'il y a un écart entre les trois tests réalisés pour le même échantillon, cet écart diminue pour les échantillons suivants qui ont été conservés plus longtemps dans le liquide physiologique.

Des tests supplémentaires ont été réalisés sur 8 autres échantillons, et ont montré le même comportement.

La Figure 68 illustre l'exemple de deux échantillons de foie porcin, le premier est conservé pendant 45 minutes dans le liquide physiologique au frais (A), et le second pendant 2 heures. Pour chacun des deux, 3 fonctions d'autocorrélation ont été enregistrées avec un court intervalle de temps.



**Figure 68. (A) les fonctions d'autocorrélation d'un même échantillon de foie de porc conservé dans le liquide physiologique à 4°C pendant 45 minutes et testé dans les mêmes conditions expérimentales avec un court intervalle de temps - (B) : les fonctions d'autocorrélation d'un échantillon de foie de porc testé après une durée de conservation de 2 heures à 4°C.**

Nous constatons alors que la répétabilité augmente avec le temps de conservation, on commence à obtenir des résultats répétables à partir de 1h30 de conservation au frais dans le liquide physiologique. Ceci peut être expliqué par le fait que le foie de porc a besoin d'une bonne hydratation avant d'être testé.



Pour étudier le foie de porc, il est nécessaire de respecter une durée minimale de conservation au frais dans le sérum physiologique avant de commencer les tests.

Une série de tests a été effectuée sur des échantillons conservés plus de deux heures au frais dans le liquide physiologique.

La Figure 69 montre un exemple de fonctions d'autocorrélation de même échantillons testés à trois reprises avec un court intervalle de temps.

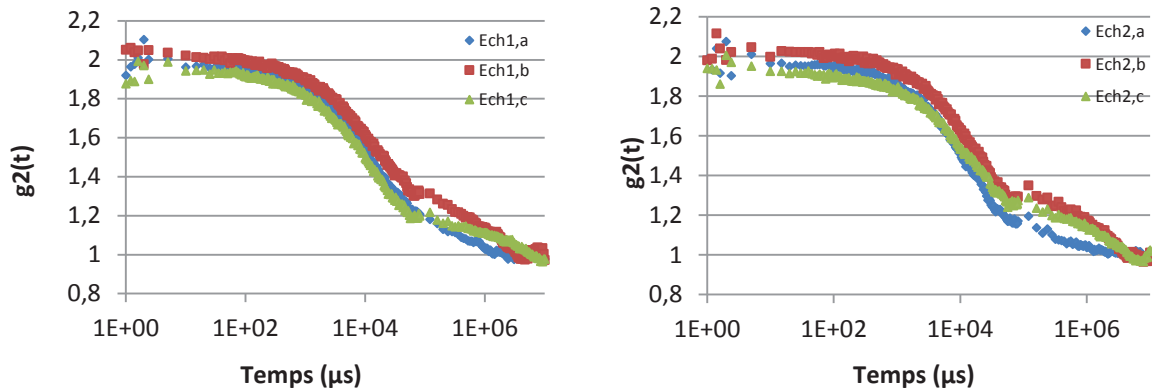


Figure 69. Exemple de test de répétabilité sur du parenchyme hépatique porcin. Pour chaque échantillon trois fonctions d'autocorrélation sont enregistrées.

La fonction d'autocorrélation du foie porcin, montre un début de décorrélation à 100μs et se termine à 2s. Ces valeurs sont les mêmes tirées de la fonction d'autocorrélation moyenne du cortex rénal porcin frais.

Comme pour le cortex rénal, la décorrélation commence à des temps lents du fait de la grande taille des diffuseurs, et le spectre décroît lentement ce qui s'explique par la polydispersité de la taille des particules diffusants la lumière.

Le coefficient de variation de ces fonctions a été calculé et présenté sur la Figure 70 :

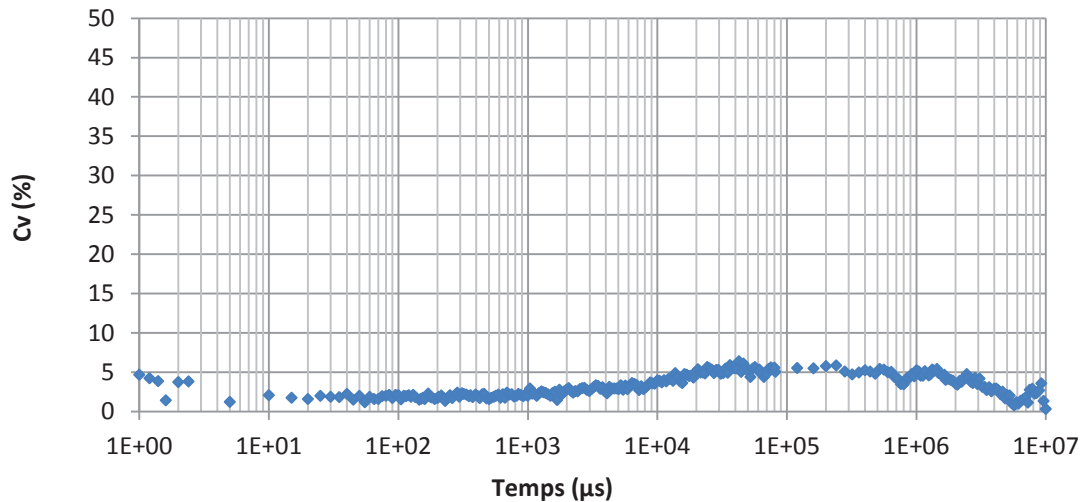


Figure 70. Répétabilité des mesures sur foie de porc frais : Cv (%) Coefficient de variation des essais.

Nous constatons que le coefficient de variation :  $Cv < 5.7\%$ . Ce qui prouve que nos résultats sont répétables sur le foie de porc à condition de respecter la durée minimale de conservation.

#### 4.3.4. La reproductibilité du parenchyme hépatique

Sept essais par jour ont été effectués pendant 3 jours différents sur le parenchyme du foie de porc frais conservé plus de 2 heures dans le liquide physiologique à 4°C, les échantillons proviennent de 3 foies de porc différents.

La Figure 71 montre les fonctions d'autocorrélation moyennes (sur 7 essais) obtenues à 3 jours de tests différents.

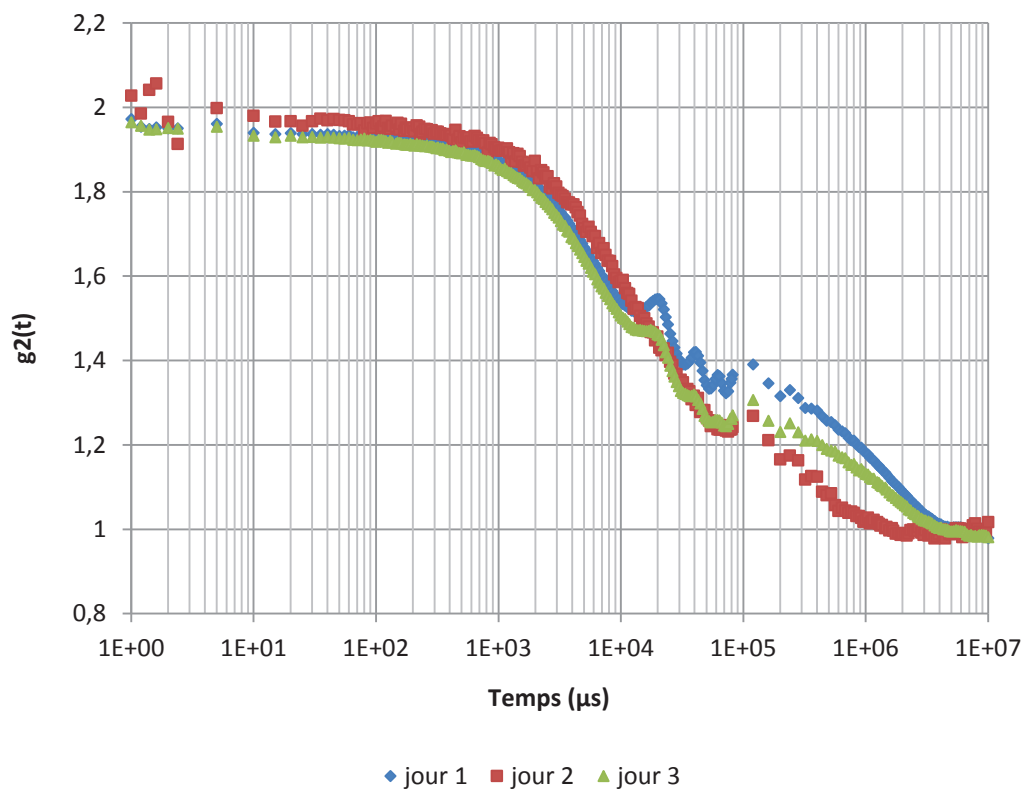


Figure 71. Reproductibilité du foie de porc : Fonctions d'autocorrélation moyennes obtenues à 3 jours de test différent (7 essais/jour)

Le coefficient de variation des résultats obtenus à différents jours a été calculé (voir la Figure 72).

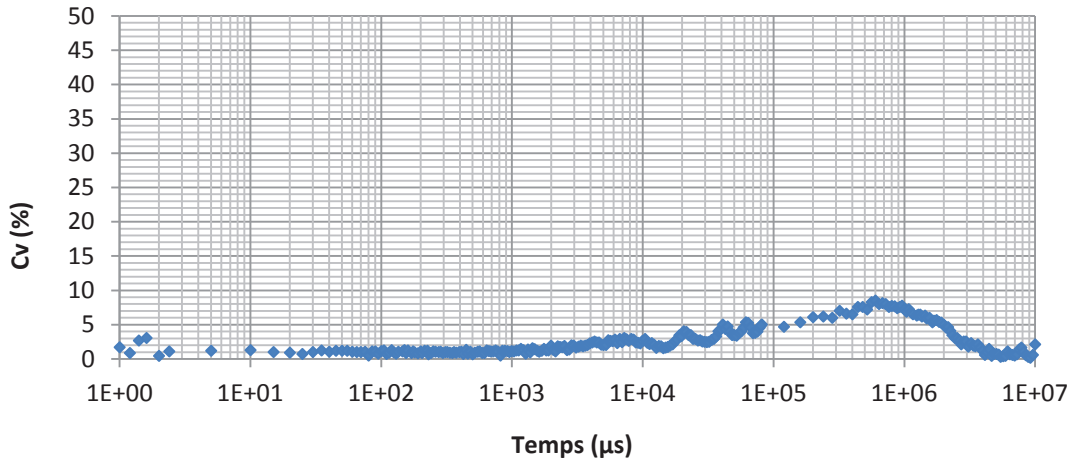


Figure 72. Reproductibilité des essais sur foie de porc conservé à plus de 2h au frais dans le liquide physiologique : Coefficient de variation en fonction du temps

Ces résultats montrent une bonne reproductibilité des mesures, avec un coefficient de variation inférieur à 9%.

#### 4.3.5. La répétabilité du Cerveau de porc

Pour étudier la répétabilité des résultats, deux cerveaux de porc frais à 4 jours de leur date de péremption ont été utilisés, 15 échantillons ont été découpés à 4mm d'épaisseur, ils ont ensuite été conservés dans le liquide physiologique à 4°C.

Chaque échantillon est testé trois fois à température ambiante.

La Figure 73 montre l'exemple de répétabilité sur un échantillon de cerveau de porc choisi au hasard.

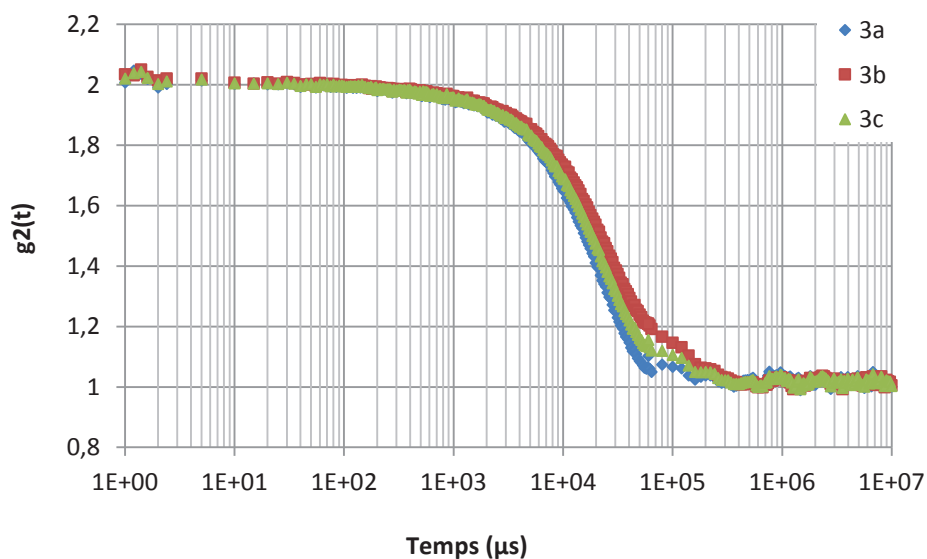


Figure 73. Tests de répétabilité : Fonctions d'autocorrélation de l'intensité diffusée par un échantillon de cerveau de porc.

La répétabilité est vérifiée dans la plupart des cas, elle est quantifiée en calculant le coefficient de variation dans la Figure 74.

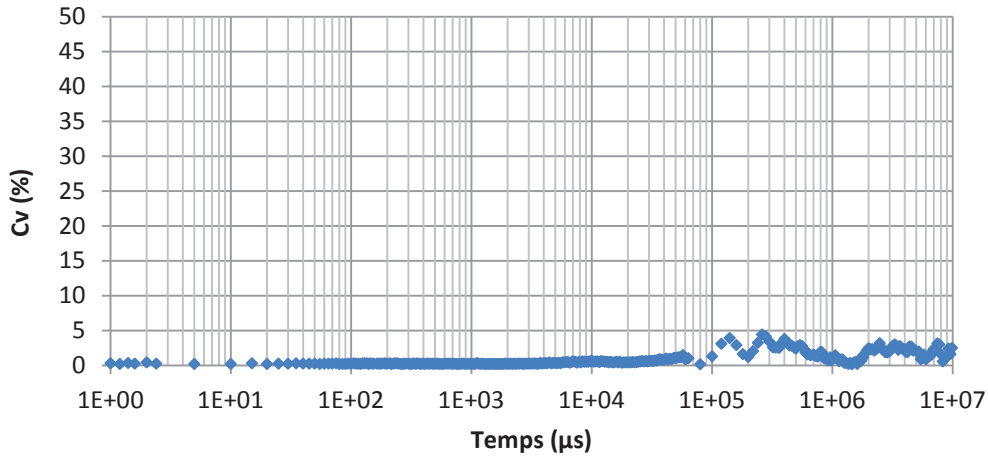


Figure 74. Coefficient de variation des tests de répétabilité sur cerveau de porc frais

Nous constatons que les mesures sont répétables avec un coefficient de variation inférieur à 3,5%

#### 4.3.6. La reproductibilité du cerveau de porc

Des essais de reproductibilité à deux jours différents ont été faits en utilisant deux cerveaux de porc frais, et en conservant le même mode opératoire ainsi que les mêmes conditions expérimentales.

La Figure 75 montre les fonctions d'autocorrélation moyennes sur 15 essais par jour.

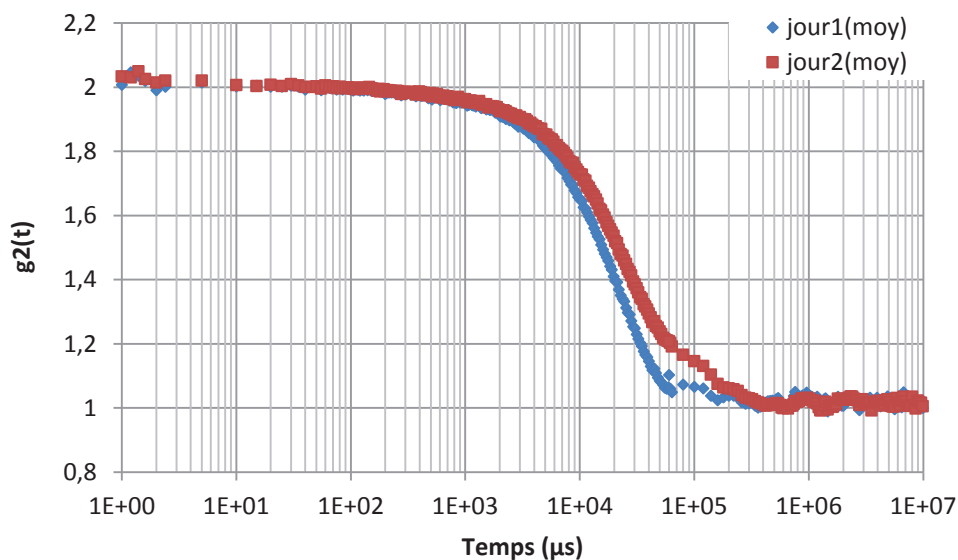


Figure 75. Fonctions d'autocorrélation moyennes du cerveau de porc, obtenues à deux jours de test différents (15 échantillons/jour)

Le coefficient de variation des deux courbes est présenté sur la Figure 76.

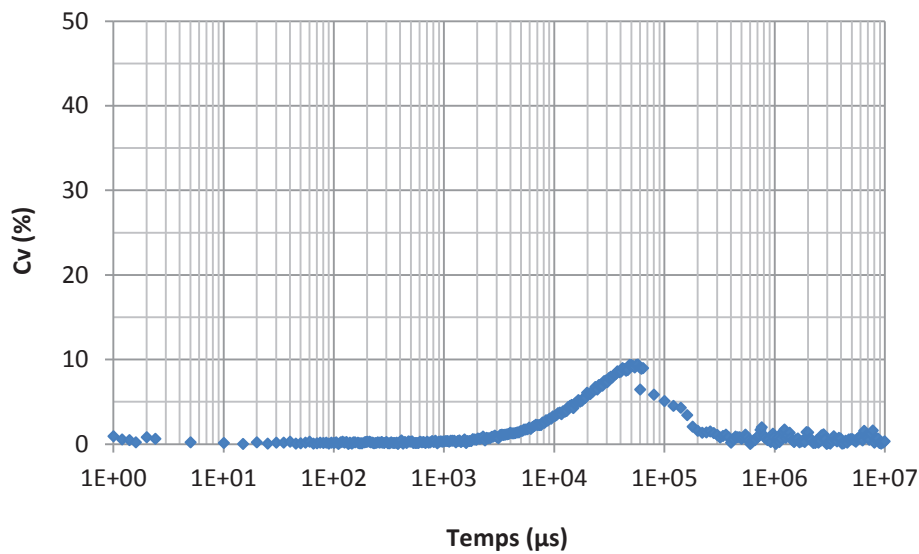


Figure 76. Le coefficient de variation des fonctions d'autocorrélation du cerveau de porc obtenues à deux jours différents

La reproductibilité de la mesure est quantifiée. L'écart entre les deux est inférieur à 9,5%.

#### 4.3.7. Conclusion sur la répétabilité et la reproductibilité des matériaux biologiques

Les trois types de matériaux biologiques testés présentent une bonne répétabilité, avec un coefficient de variation qui atteint son maximum de :

- 2,4% pour le cortex rénal
- 5,7% pour le foie
- 3,5% pour le cerveau.

Comme pour la répétabilité, les mesures sont reproductibles avec un maximum de variation de :

- 6,7% pour le cortex rénal
- 9% pour le parenchyme hépatique
- 9,5% pour le cerveau.

#### 4.4. Etude de la variabilité des matériaux biologiques mous

##### 4.4.1. Cortex rénal

Pour estimer la variabilité des résultats du cortex rénal, nous avons testé 24 échantillons différents en respectant le même protocole expérimental.

La Figure 77 montre les fonctions d'autocorrélation de 24 échantillons testés avec la diffusion de lumière, tous les échantillons proviennent de reins de porc frais conservés dans le liquide physiologique à 4°C et testés à température ambiante.

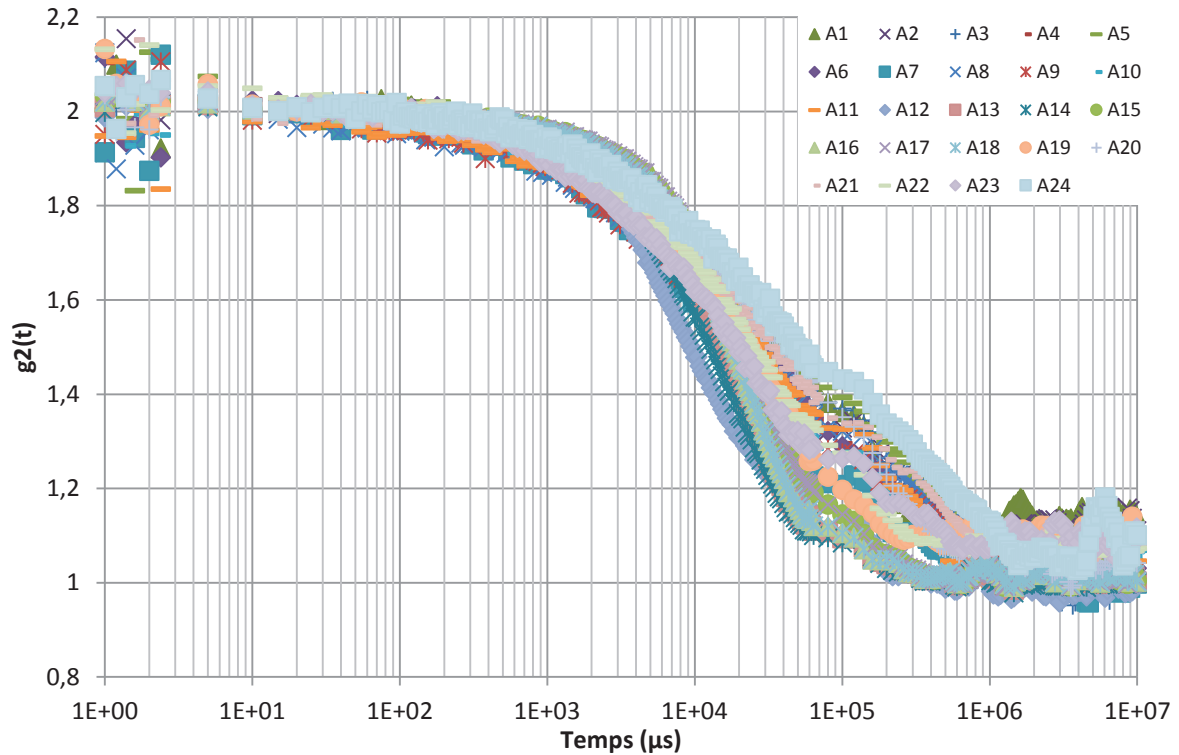


Figure 77. Fonctions d'autocorrélation de 24 échantillons de cortex rénal porcine frais, enregistrée par le même opérateur en utilisant le même mode opératoire à différents jours de test.

A partir de ces fonctions, une moyenne a été tracée avec l'écart-type, et le coefficient de variation a été calculé.

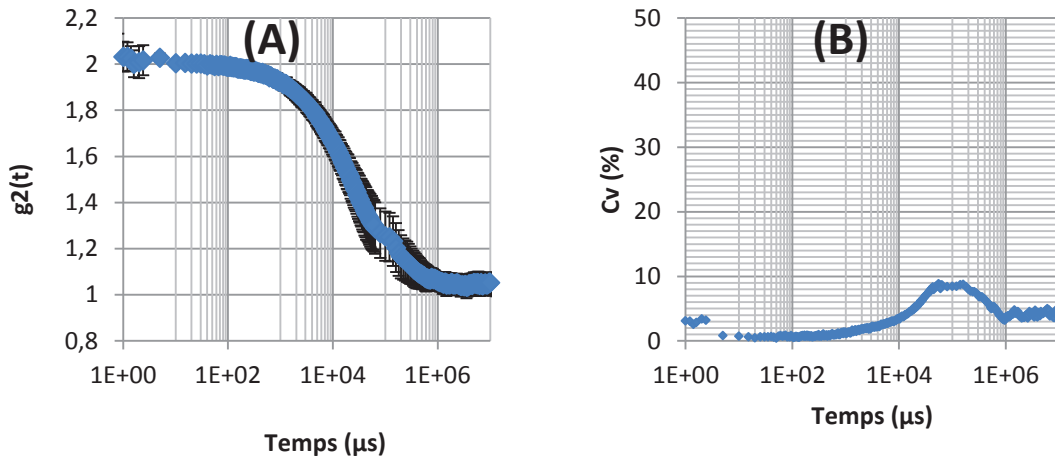


Figure 78. (A) la fonction d'autocorrélation moyenne (sur 24 échantillons différents testés dans les mêmes conditions expérimentales par le même opérateur) du cortex rénal porcine frais - (B) le coefficient de variation calculé à partir des résultats de variabilité sur cortex rénal porcine frais

La fonction d'autocorrélation moyenne du cortex rénal présente un début de décorrélation aux alentours de  $10^2 \mu\text{s}$  et une fin à  $10^6 \mu\text{s}$ , avec un temps caractéristique de  $2 \cdot 10^4 \mu\text{s}$ , cette fonction présente une sorte de plateau après  $10^5 \mu\text{s}$  qui n'apparaît pas pour les autres matériaux testés (comme la mousse), elle peut être spécifique à la réponse du tissu biologique ou due à un artéfact de la mesure. Cette deuxième hypothèse est exclue puisqu'avant chaque série de tests, une vérification est faite en enregistrant la fonction d'autocorrélation de la mousse à raser qui donne un spectre correspondant à celui de référence.

Nous constatons également que le coefficient de variation atteint un maximum de 8,8% à 0,2 s ce qui montre une faible variabilité entre les fonctions d'autocorrélation du cortex rénal porcine frais.

#### 4.4.2. Parenchyme hépatique

Pour estimer la variabilité des résultats sur foie porcine, il faut tester un nombre important d'échantillons provenant de différents foies de porc, les tests doivent se faire dans les mêmes conditions expérimentales, en respectant le même mode opératoire et le même mode de conservation des échantillons.

La Figure 79 montre les fonctions d'autocorrélation de 25 échantillons testés avec la diffusion de lumière, tous les échantillons proviennent de foie frais découpés à 4 mm d'épaisseur conservés au moins 2 heures dans le liquide physiologique à  $4^\circ\text{C}$  et testés à température ambiante.

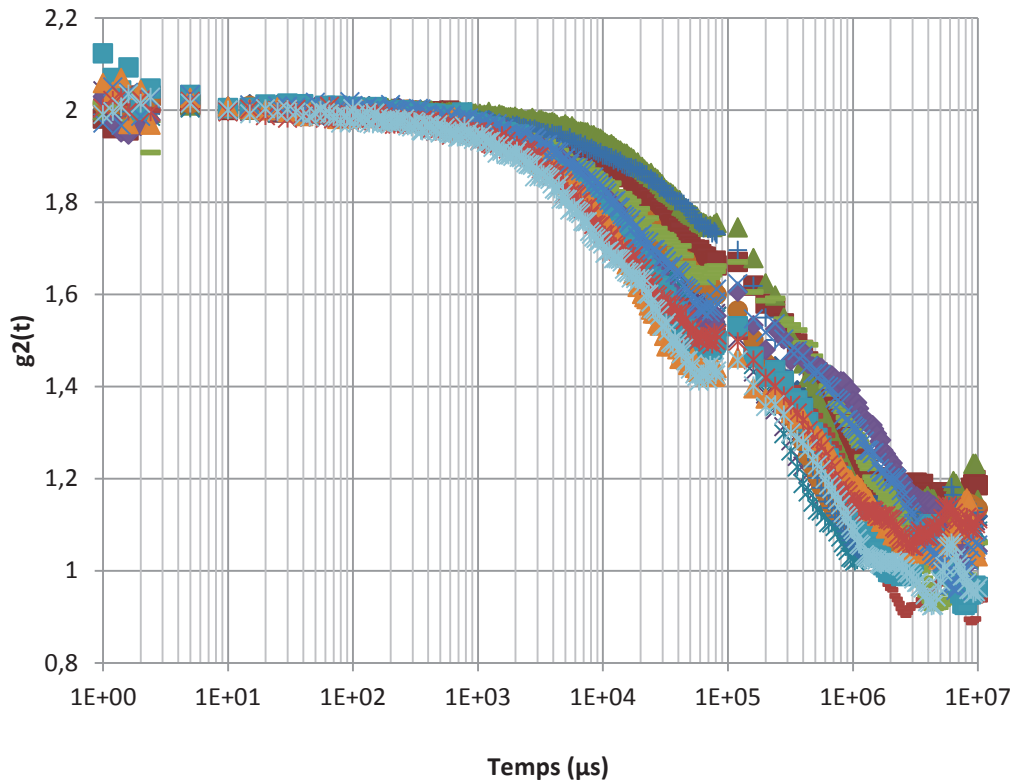


Figure 79. Fonctions d'autocorrélation de 25 échantillons différents de foie de porc enregistrées dans les mêmes conditions expérimentales à différents jours

A partir de ces fonctions, une moyenne a été tracée avec l'écart-type, et le coefficient de variation a été calculé (voir Figure 80).

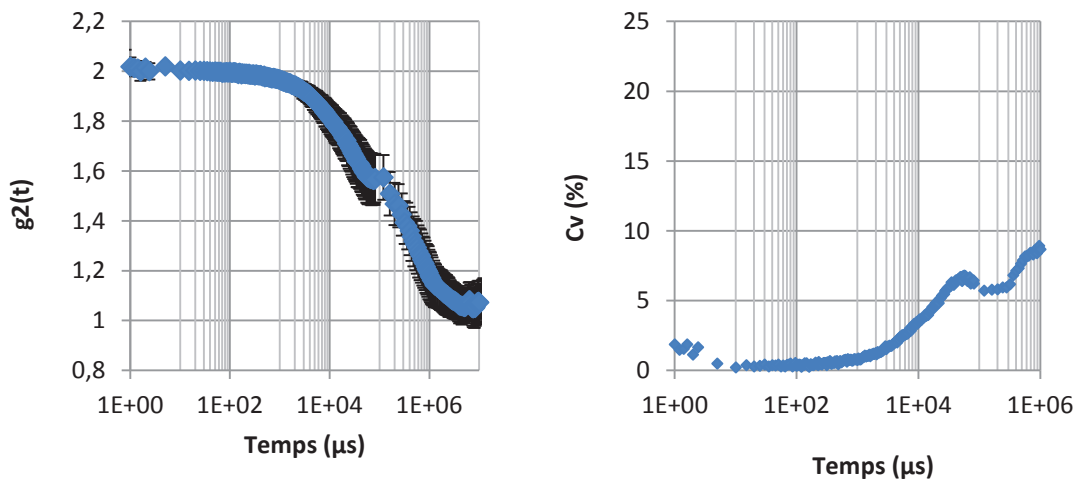


Figure 80. (A) : la fonction d'autocorrélation moyenne sur 47 échantillons différents testés dans les mêmes conditions expérimentales par le même opérateur du foie porc frais - (B) : le coefficient de variation calculé à partir des résultats de variabilité sur foie de porc frais.



La fonction d'autocorrélation moyenne du parenchyme hépatique présente les mêmes caractéristiques que le cortex rénal, un début de décorrélation à  $10^2 \mu\text{s}$  et une fin à  $10^6 \mu\text{s}$ , avec un temps caractéristique de  $2.10^4 \mu\text{s}$ , cette fonction présente un pic à  $10^5 \mu\text{s}$  spécifique au parenchyme hépatique porcine.

Nous constatons également que le coefficient de variation atteint un maximum de 10% à 0,1 s ce qui montre une faible variabilité entre les fonctions d'autocorrélation du foie porcine frais.

#### 4.4.3. Cerveau

Pour l'étude de la variabilité 25 échantillons provenant de 3 cerveaux de porc frais conservés dans le liquide physiologique à  $4^\circ\text{C}$  et découpés à 4mm d'épaisseur ont été testés à température ambiante.

La Figure 81 montre les différentes fonctions enregistrées.

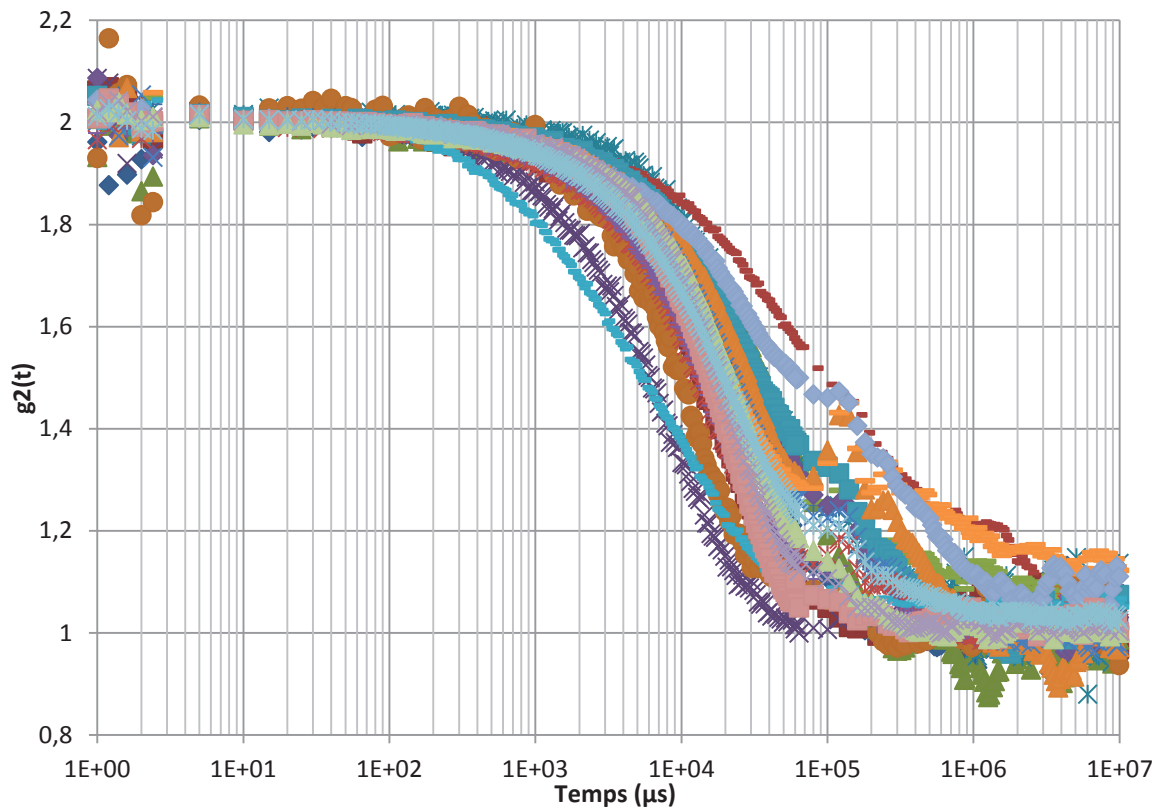


Figure 81. Fonctions d'autocorrélation (25) du cerveau de porc frais enregistrées à différents jours de tests sur des échantillons à même état de fraîcheur.

Comme pour les autres organes, la fonction d'autocorrélation moyenne a été calculée, ainsi que le coefficient de variation (voir Figure 82).

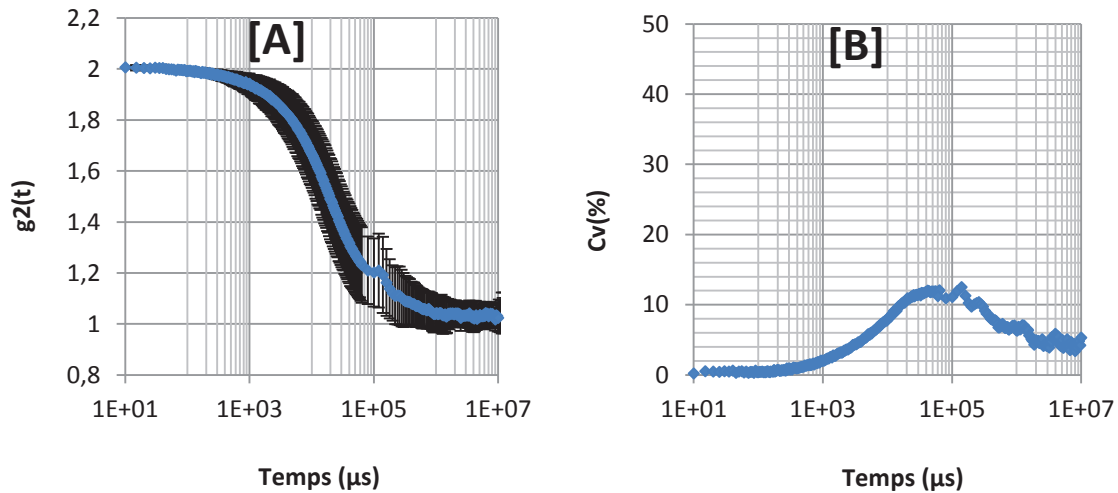


Figure 82. [A] : la fonction d'autocorrélation moyenne du cerveau de porc (sur 25 Ech). [B] : Le coefficient de variation des essais de variabilité sur cerveau de porc frais

La fonction d'autocorrélation moyenne du cerveau présente les mêmes temps caractéristiques que le cortex rénal et le parenchyme hépatique, avec un plateau caractéristique à  $10^5 \mu\text{s}$ .

Pour ce qui est de la variabilité, le Cv est inférieur à 11% (il atteint sa valeur maximal à 0,1 s).

Une faible variabilité entre la réponse du cerveau de porc est alors constatée.

#### 4.4.4. Conclusion sur la variabilité

La variabilité inter-échantillons pour les différents organes testés reste acceptable, avec un coefficient de variation qui atteints un maximum de

- 8,8% pour le cortex rénal
- 10% pour le parenchyme hépatique
- 11% pour le cerveau

#### 4.5. Conclusion de l'étude des matériaux biologiques

Le Tableau 8 résume les résultats de l'étude statistique sur les matériaux biologiques étudiés par DWS.

<b>Matériau étudié</b>	<b>Répétabilité</b>	<b>Reproductibilité</b>	<b>Variabilité</b>
<b>Cortex rénal</b>	$Cv \leq 2,4\%$	$Cv \leq 6,7\%$	$Cv \leq 8,8\%$
<b>Parenchyme hépatique</b>	$Cv \leq 5,7\%$	$Cv \leq 9\%$	$Cv \leq 10\%$
<b>Cerveau porcin</b>	$Cv \leq 3,5\%$	$Cv \leq 9,5\%$	$Cv \leq 11\%$

**Tableau 8. Résumé des résultats de l'étude statistique des matériaux biologiques étudiés.**

Nous constatons que le cortex rénal porcin donne les résultats les plus répétables avec un faible coefficient de variation ( $Cv < 2,4\%$ ) suivi du cerveau ( $Cv < 3,5\%$ ) et enfin le parenchyme hépatique qui donne les résultats les moins répétables avec un  $Cv < 5,7\%$

Dans tous les cas, la répétabilité est meilleure que la reproductibilité, et la variabilité donne des coefficients de variation plus grands que les deux autres études.

Pour les trois tissus biologiques étudiés la reproductibilité est bonne, la technique peut donc servir à suivre la réponse d'un échantillon au cours d'un changement de microstructure.

Grace aux différents essais réalisés sur ces organes, nous avons pu tracer les fonctions d'autocorrélations moyennes du cortex rénal, du parenchyme hépatique ainsi que du cerveau de porc et comparer leur réponse optique.

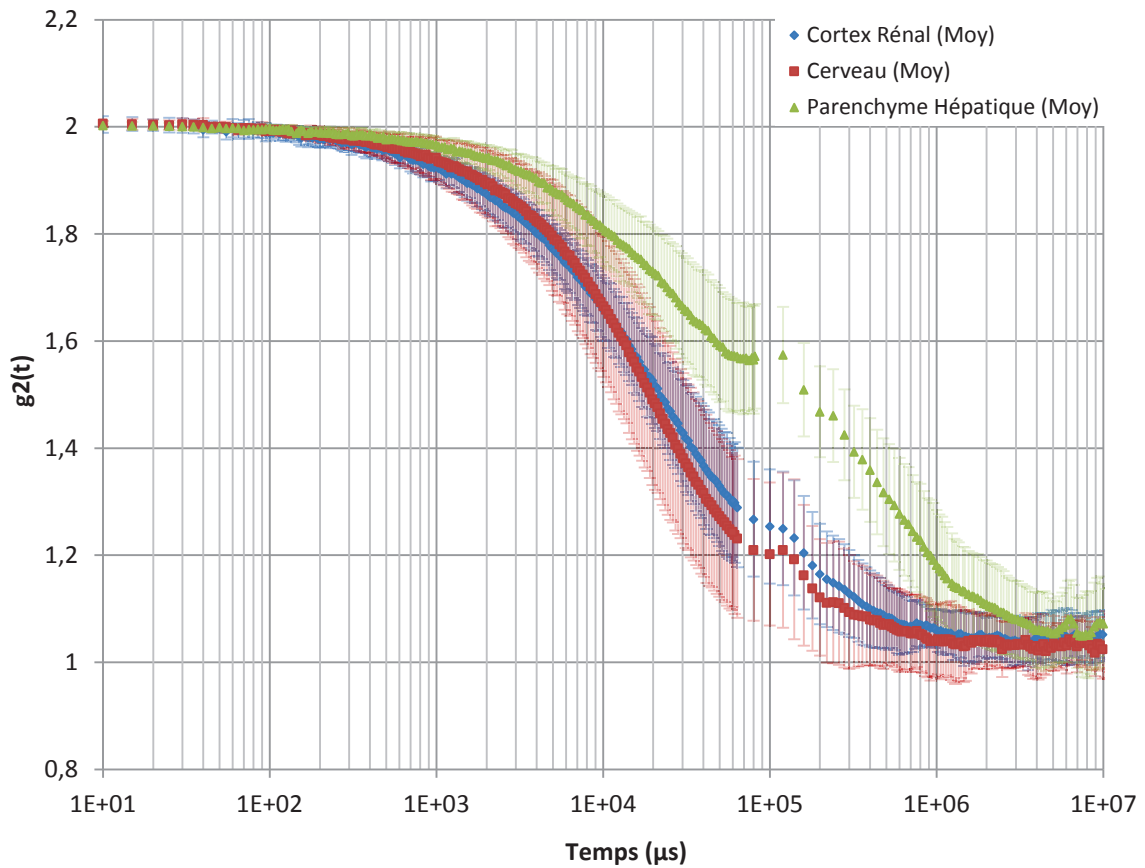


Figure 83. Comparaison des fonctions d'autocorrélation moyennes du cortex rénal porcin, du parenchyme hépatique et du cerveau de porc frais.

Deux échantillons de cerveau sur les 25 testés, représentent un spectre d'autocorrélation avec un pic. Ces derniers ont été écartés dans la moyenne représentée sur la Figure 83.

Le cortex rénal et le cerveau de porc présentent la même réponse optique avec la même forme de décroissance et un temps caractéristique se situant au temps lents.

Cette ressemblance entre organes est aussi constatée dans l'évolution fréquentielle des propriétés mécaniques similaires pour ces tissus mous, comme le montre la Figure 84.

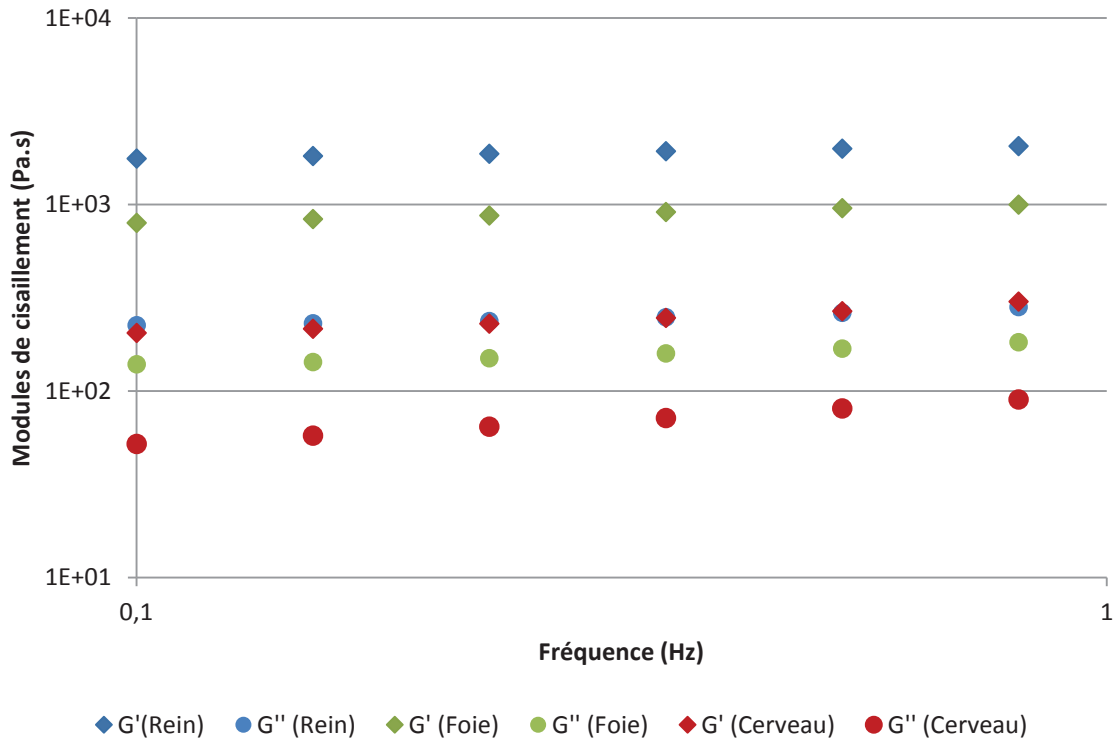


Figure 84. Les modules de cisaillement élastique et visqueux  $G'$  et  $G''$  du rein du foie et du cerveau de porc (Nicolle, 2010)

Pour le parenchyme hépatique, il présente une forme de spectre différente avec un pic à  $1,2 \cdot 10^5 \mu s$ , sa réponse est proche de celle du cortex rénal et du cerveau dans l'intervalle de temps  $[10-10^5] \mu s$ . Au-delà de  $10^5 \mu s$  il représente une décroissance plus étalée avec des perturbations spectrales.

La forme du spectre obtenue peut être caractéristique du foie porcin comme elle peut être due à des problèmes liés au dispositif. Il faut donc s'assurer qu'il n'y a pas d'artéfacts de mesure.

Pour cela une vérification du nombre de photons/seconde enregistré par le corrélateur a été faite et a montré que le parenchyme hépatique diffuse une intensité lumineuse proche de celle diffusée par le cortex rénal, ce qui écarte la possibilité que le signal/bruit soit grand.

En scanner un foie normal a une densité comprise entre 40 et 75 unités Hounsfield : UH, alors que le rein ne fait que 30 UH (Ernst, 2005). Donc la possibilité que le foie soit moins dense et donc flotte en l'entourant de liquide physiologique, ne peut pas expliquer sa réponse optique.

On peut alors conclure qu'il s'agit d'une réponse caractéristique du parenchyme hépatique porcin.

Nous constatons d'après la Figure 83 que tous les matériaux biologiques étudiés présentent un plateau après  $10^5 \mu s$ .

Le spectre d'autocorrélation d'un liquide commence à 2 et décroît jusqu'à 1, car les diffuseurs dans les fluides purement visqueux se déplacent très facilement, et les photons traversant un tel milieu perdent la mémoire de leur trajectoire initial. Dans le cas des solides viscoélastiques, la décorrélation n'est pas totale et la fonction d'autocorrélation ne décroît pas jusqu'à 1.

En se basant sur ces informations, nous allons exclure les points du spectre enregistrés après  $10^5 \mu\text{s}$  (après le plateau caractéristique).

La fonction d'autocorrélation moyenne du cortex rénal, du parenchyme hépatique et du cerveau de porc est représentée sur la Figure 85.

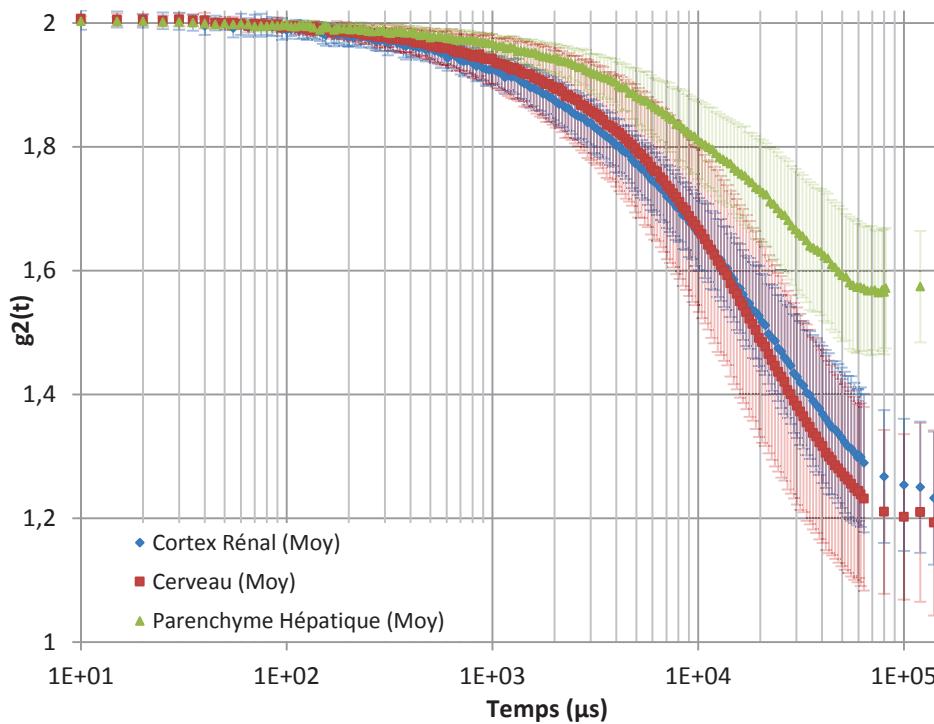


Figure 85. Fonctions d'autocorrélation moyennes du cortex rénal, du parenchyme hépatique et du cerveau de porc, représentées dans l'intervalle de temps  $[10-10^5] \mu\text{s}$

La réponse du cortex rénal est plus proche d'un liquide que celle du parenchyme hépatique. Ceci ne corrobore pas avec les résultats rhéologiques qui montrent que le rein est plus rigide que le foie (voir Figure 84).

Pour la réponse du cerveau, elle est cohérente avec les données rhéologiques puisqu'il est plus mou que le foie, ce qui explique son spectre d'autocorrélation plus proche d'un liquide que celui du parenchyme hépatique.

#### 4.6. Calcul de la viscosité à partir des spectres de DWS

Comme pour les autres types de matériaux déjà étudiés, le calcul de la viscosité a été effectué à partir de la fonction d'autocorrélation moyenne obtenue en utilisant la théorie d'un fluide en reprenant les mêmes hypothèses que celles utilisées pour le lait.

La taille des diffuseurs choisie pour le cortex rénal est de  $55\mu\text{m}$  qui correspond à la taille du tubule proximal, pour le foie la taille utilisée correspond à celle des hépatocytes ( $25\mu\text{m}$ ) puisqu'elles représentent 70% des cellules hépatiques. Pour le cerveau la taille choisie est de  $20\mu\text{m}$ .

Comme pour la mousse, nous avons constaté un grand écart entre les résultats rhéologiques et ceux de DWS, comme le montre la Figure 86 (en rouge les résultats rhéologique et en bleu la viscosité calculée par DWS).

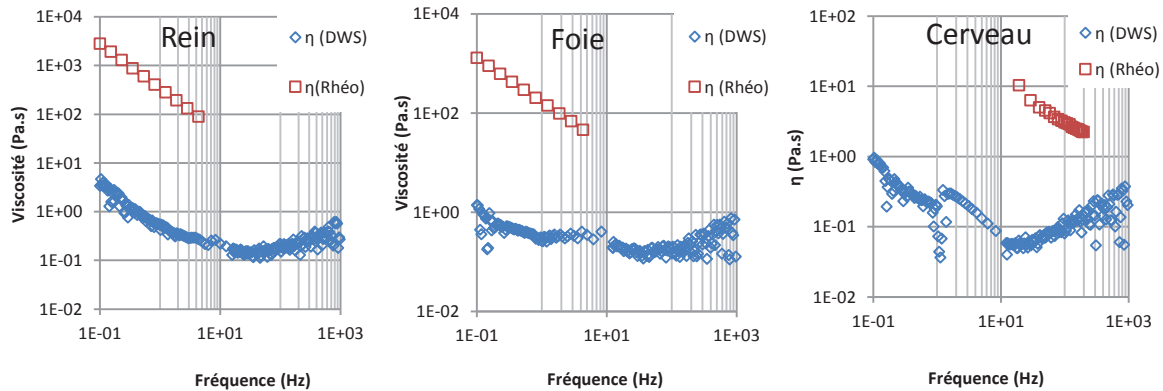


Figure 86. Comparaison de la viscosité mesurée par rhéométrie du rein, du foie et du cerveau de porc avec celle calculée à partir des résultats de DWS

En effet, les hypothèses (les diffuseurs sont des sphères dures baignant dans une matrice monodisperse, où ils ne sont pas en interaction les uns avec les autres et subissent une agitation thermique, et sont donc sous mouvement brownien) sont trop fortes pour les tissus biologiques mous qui ont une microstructure complexe, inhomogène et polydisperse. Ces résultats soulignent que cette théorie ne peut pas être appliquée pour déterminer les propriétés mécaniques des tissus biologiques mous.

L'intérêt de la DWS pour étudier les tissus biologiques est de suivre l'évolution du spectre au cours d'une modification du tissu biologique (déshydratation, dégénérescence).

## 5. Etude du cortex rénal au cours de la déshydratation

Un tissu biologique sèche rapidement au contact de l'air, et il a été démontré dans la littérature (Nicolle, 2010) que la déshydratation a un effet sur les propriétés mécaniques, en effet les modules de cisaillement des tissus déshydratés sont supérieurs à ceux des tissus hydratés, ce qui signifie que ces matériaux biologiques se rigidifient en manque de liquide physiologique, comme le montre la Figure 87.

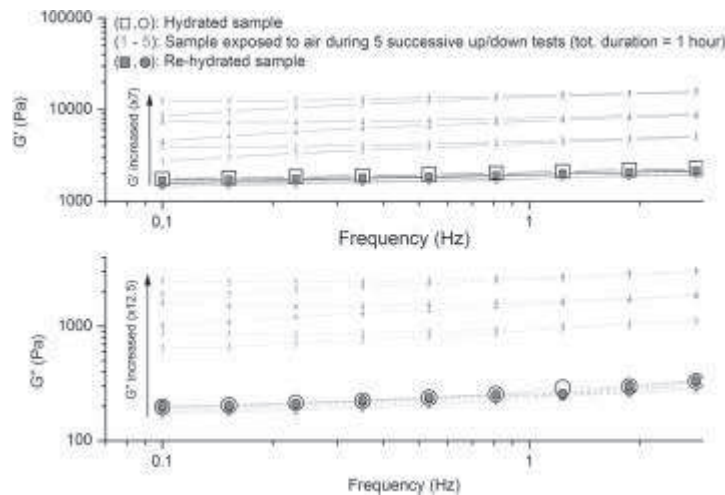


Figure 87. Effet du séchage sur le module de stockage ( $G'$  en haut) et de perte ( $G''$  en bas) tracés en fonction de la fréquence (Nicolle, 2010).

En DWS, il est possible de suivre cette déshydratation qui changera considérablement les propriétés optiques des matériaux biologiques (c'est pourquoi la réhydratation des échantillons avec le liquide physiologique est une étape importante à respecter dans le protocole expérimental) afin de vérifier si les résultats correspondent à ceux trouvés par rhéologie.

Pour chaque test, nous avons enregistré la fonction d'autocorrélation juste après la découpe de l'échantillon sans ajouter de liquide physiologique, ensuite après avoir ajouté du liquide physiologique. On a ensuite laissé ce même échantillon séché à l'air libre sans liquide pendant 30 minutes.

La Figure 88 montre les fonctions d'autocorrélation moyennes obtenues en faisant l'étude sur 5 échantillons frais du cortex rénal porcin.



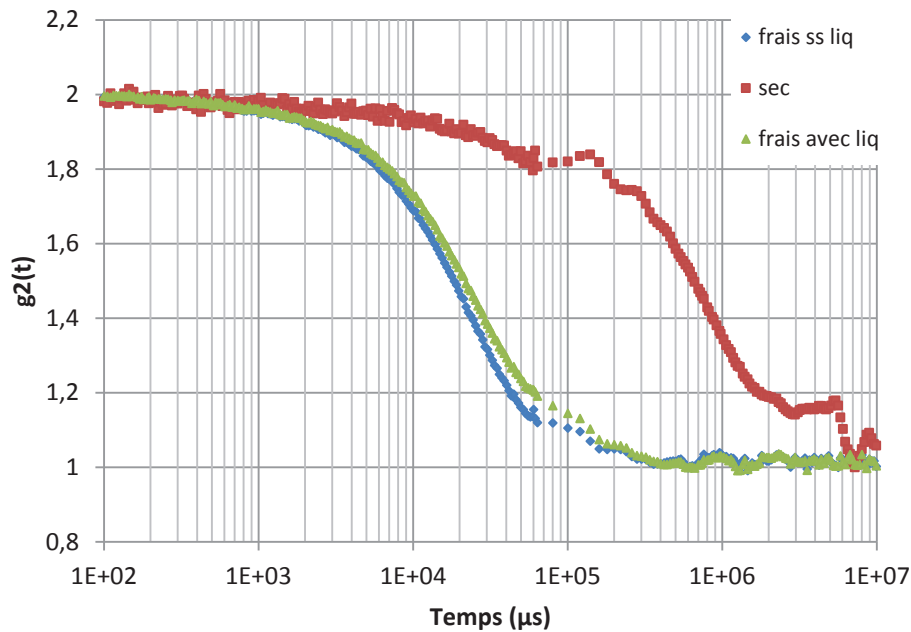


Figure 88. Etude de l'effet de la déshydratation sur le spectre de DWS : Fonctions d'autocorrélation moyennes (sur 5 Ech) d'échantillons fraîchement découpés considérés comme référence, et ceux hydratés avec du sérum physiologique, comparées aux fonctions d'autocorrélations d'échantillons séchés à l'air libre pendant 30 minutes.

En considérant que la fonction d'autocorrélation de l'échantillon frais et testé juste après la découpe est celle de référence, nous remarquons que l'ajout du liquide physiologique permet de conserver l'hydratation et l'état physique des échantillons sans modifier le spectre d'autocorrélation.

En l'absence de liquide physiologique, la fonction d'autocorrélation se décale vers des temps plus lents, et la réponse du cortex rénal s'approche de celle d'un solide. Ce qui signifie que le tissu se rigidifie en l'absence de l'hydratation, ceci est cohérent avec les résultats de Nicolle (2010) qui démontre le même effet en utilisant un rhéomètre plan-plan.

La DWS permet donc de suivre l'évolution du spectre en fonction de l'état des échantillons, ceci reflète les changements dans la microstructure causés par la déshydratation des tissus biologiques.

Elle nous a également montré que l'usage du liquide physiologique est nécessaire, il permet de garder les matériaux biologiques hydratés sans modifier leur réponse optique.

## 6. Etude du cortex rénal au cours de la dégénérescence

La DWS offre la possibilité d'étudier les tissus biologiques au cours de leur dégénérescence.

Nous avons étudié dans un premier temps des échantillons du cortex rénal de porc frais, que nous avons laissé dégénérer à 4°C (conservés au réfrigérateur dans le liquide physiologique).

Ensuite nous avons réalisé la même étude sur des matériaux conservés cette fois à température ambiante. Le but était de suivre les changements microstructuraux des échantillons en suivant le spectre d'autocorrélation au cours de la dégénérescence.

Ceci permettra également d'évaluer la sensibilité de la technique pour étudier de tels phénomènes à l'échelle microscopique.

### 6.1 Conservation à 4°C

Nous avons suivi l'évolution des fonctions d'autocorrélation de 7 échantillons frais au cours de leur dégénérescence.

Chaque échantillon est testé juste après la découpe (le temps  $t_0$ ) puis conservé au frais pendant 1h30 avant d'être de nouveau testé, de même après 3h, 4h30, 1 jour et 2 jours de conservation.

Pour avoir une meilleure visibilité de l'effet de la dégénérescence, nous avons choisi de représenter la fonction d'autocorrélation dans l'intervalle de temps  $[10^2-10^5] \mu s$ , en référence à Ninck (2010) qui a utilisé cette technique pour suivre le spectre de DWS en fonction du flux sanguin (voir la Figure 89).

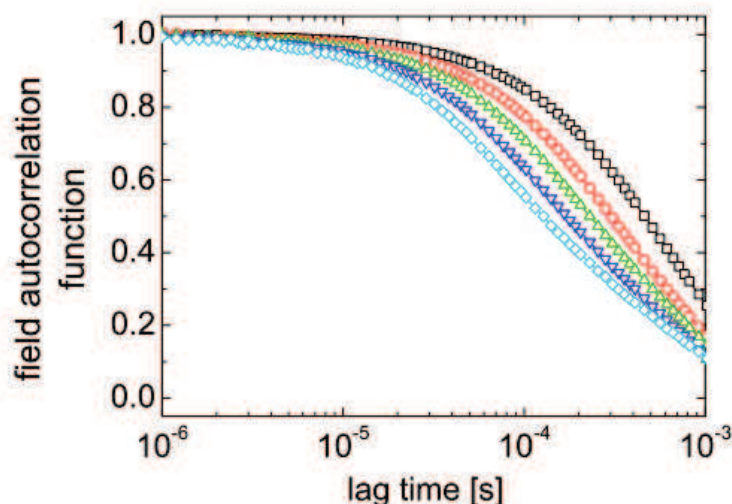


Figure 89. Fonctions d'autocorrélation  $g_1(t)$  à différents flux sanguin, représentées en supprimant les données correspondant au temps  $t > 1ms$  pour une meilleure visibilité de la variation du spectre en fonction du flux sanguin. (Ninck, 2010).

La Figure 90 montre l'évolution du spectre d'autocorrélation moyen (sur 7 échantillons) au cours du temps en fonction de la durée de conservation du cortex rénal porcin au frais (dans le liquide physiologique à 4°C).

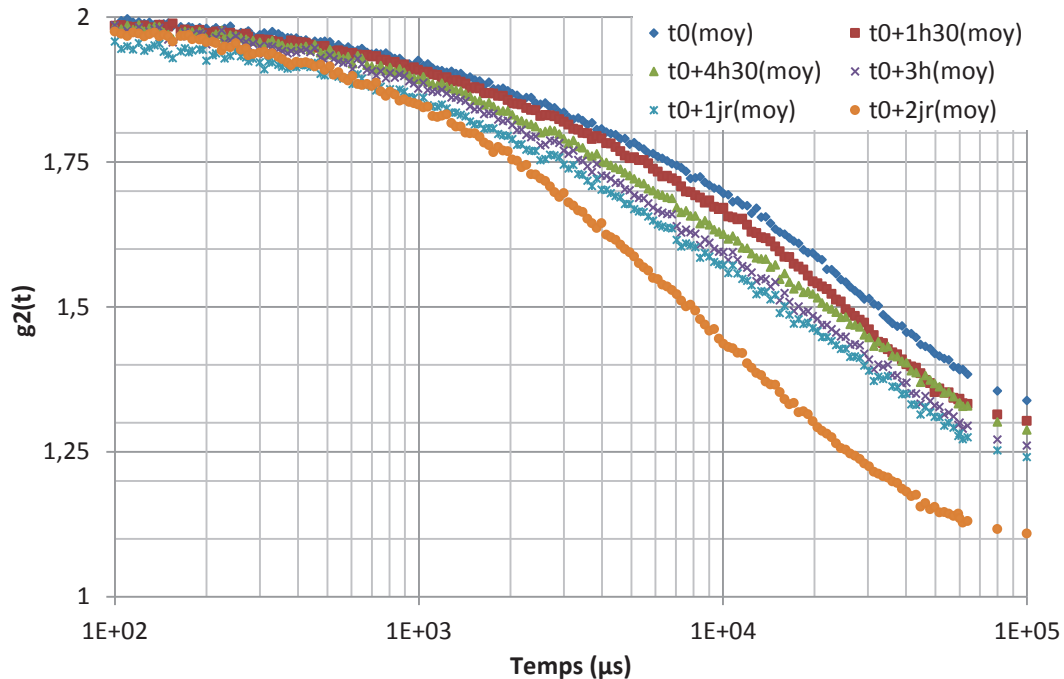


Figure 90. Évolution de la fonction d'autocorrélation du cortex rénal porcin au cours de la dégénérescence

Nous remarquons qu'il y a une très légère évolution de la fonction d'autocorrélation moyenne des échantillons testés 1h30, 3h, 4h30 et 1jour après leur découpe et que le décalage du spectre vers les temps courts est observé à partir du deuxième jour de conservation sur l'intervalle de temps correspondant à la décroissance  $[10^3-10^5]\mu s$ , où l'on constate que la fonction  $g_2(t)$  s'approche de celle d'un liquide.

Afin de s'assurer de la pertinence de ces résultats il faut comparer la variation observée après 4h30 et après un jour de conservation au frais avec la reproductibilité du cortex rénal porcin dans l'intervalle de temps  $[10^2-10^5] \mu s$ . Pour cela, nous avons calculé le coefficient de variation dans chaque cas.

La Figure 91 montre le coefficient de variation calculé pour les échantillons après 4h30 de conservation (le premier jour de test), après 1 jour et enfin après 2 jours de conservation (2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> jour de test), comparé à celui correspondant à la reproductibilité mesurée précédemment.

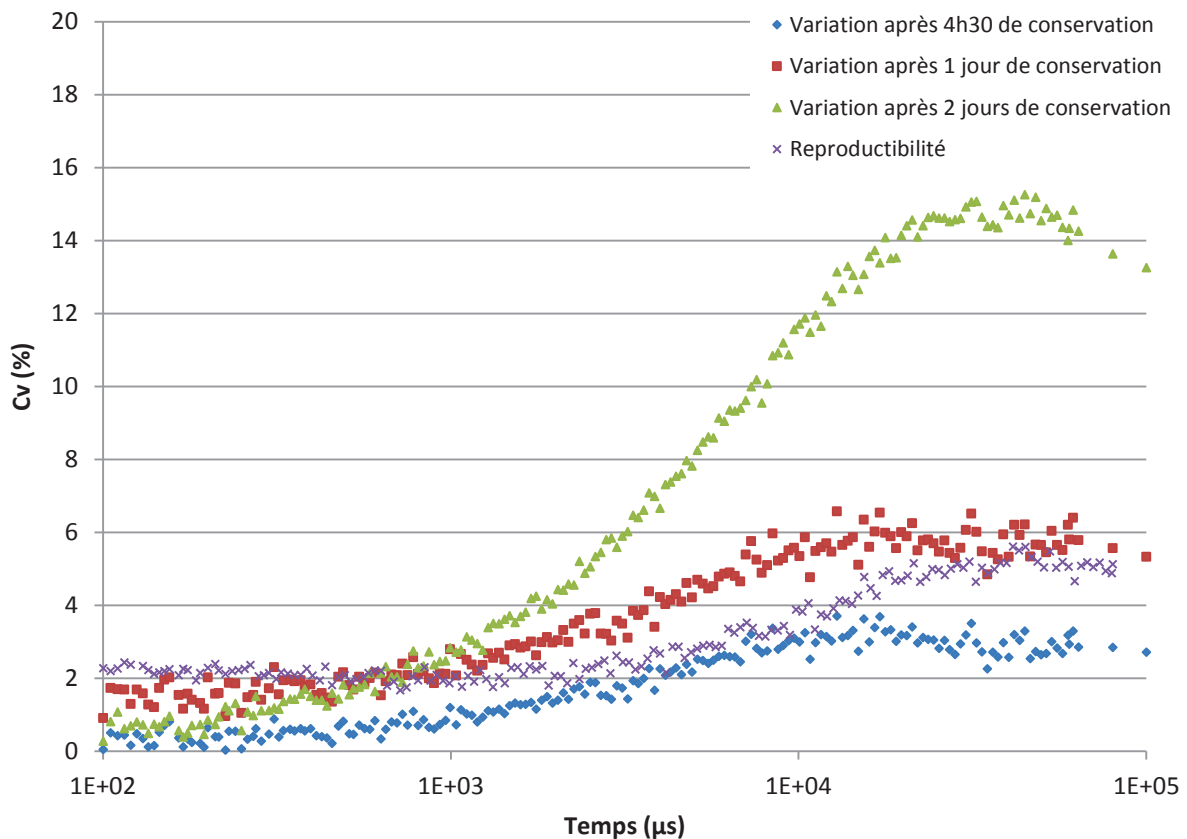


Figure 91. Coefficient de variation calculé à partir des résultats de l'étude de la dégénérescence du cortex rénal comparé à la reproductibilité.

Nous constatons que les variations observées au premier jour de test (jusqu'à 4h30 de conservation) sont de l'ordre de la reproductibilité des échantillons, ce qui signifie qu'on n'observe aucun effet de la dégénérescence sur le spectre d'autocorrélation pour le premier jour de test.

On commence à observer des variations significatives dans le spectre (plus importantes que la reproductibilité) à partir d'un jour de conservation au frais.

Pour les résultats obtenus au troisième jour de test, nous constatons une très grande variation (qui atteint les 15%) qui est due au décalage du spectre vers les temps courts pour les grandes durées de conservation.

L'étude de la dégénérescence du cortex rénal de porc avec la DWS nous a donc permis de conclure que ce matériau biologique se liquéfie au cours du temps.

### 6.2 Conservation à température ambiante

La même démarche a été effectuée dans cette étude sur 7 échantillons de cortex rénal, la seule différence est au niveau de la température de conservation. En effet, les échantillons

sont conservés dans le liquide physiologique à température ambiante et testés à  $t_0$ ,  $t_0+1h30$ ,  $t_0+3h$ ,  $t_0+4h30$ ,  $t_0+1jour$  et  $t_0+2jours$ .

Les fonctions d'autocorrélation moyennes obtenues sont illustrées sur la Figure 92.

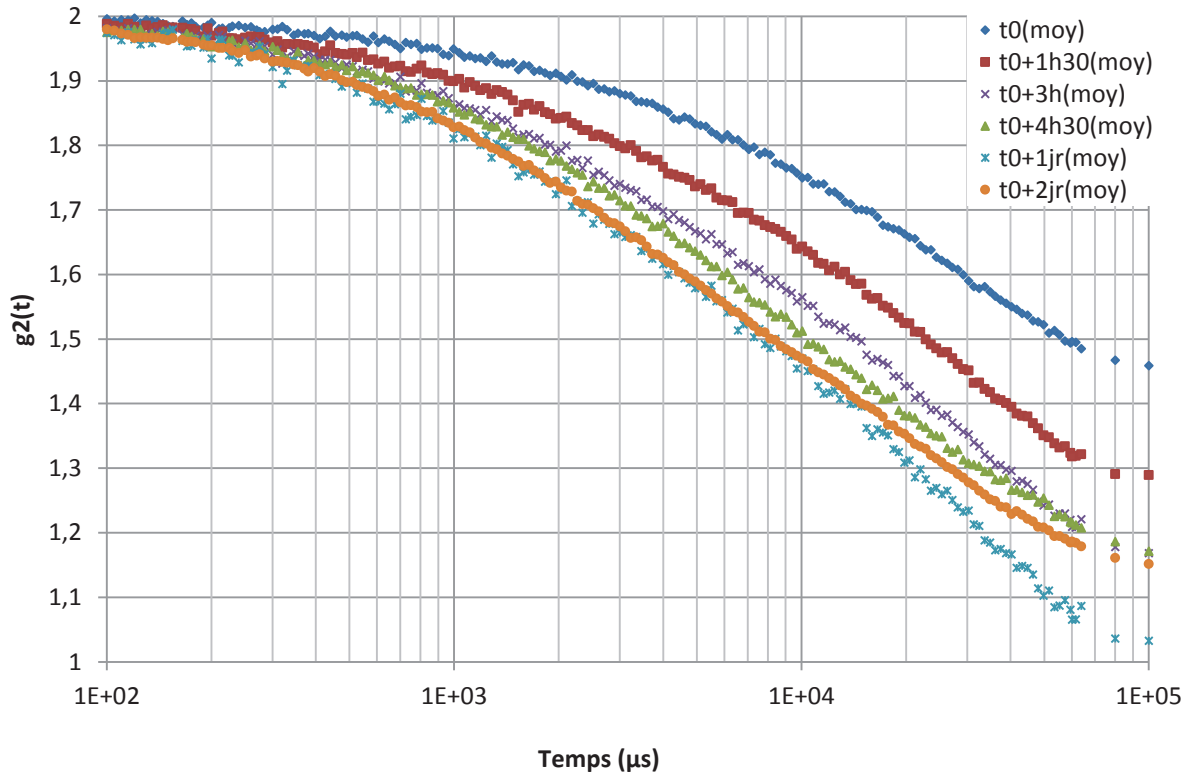
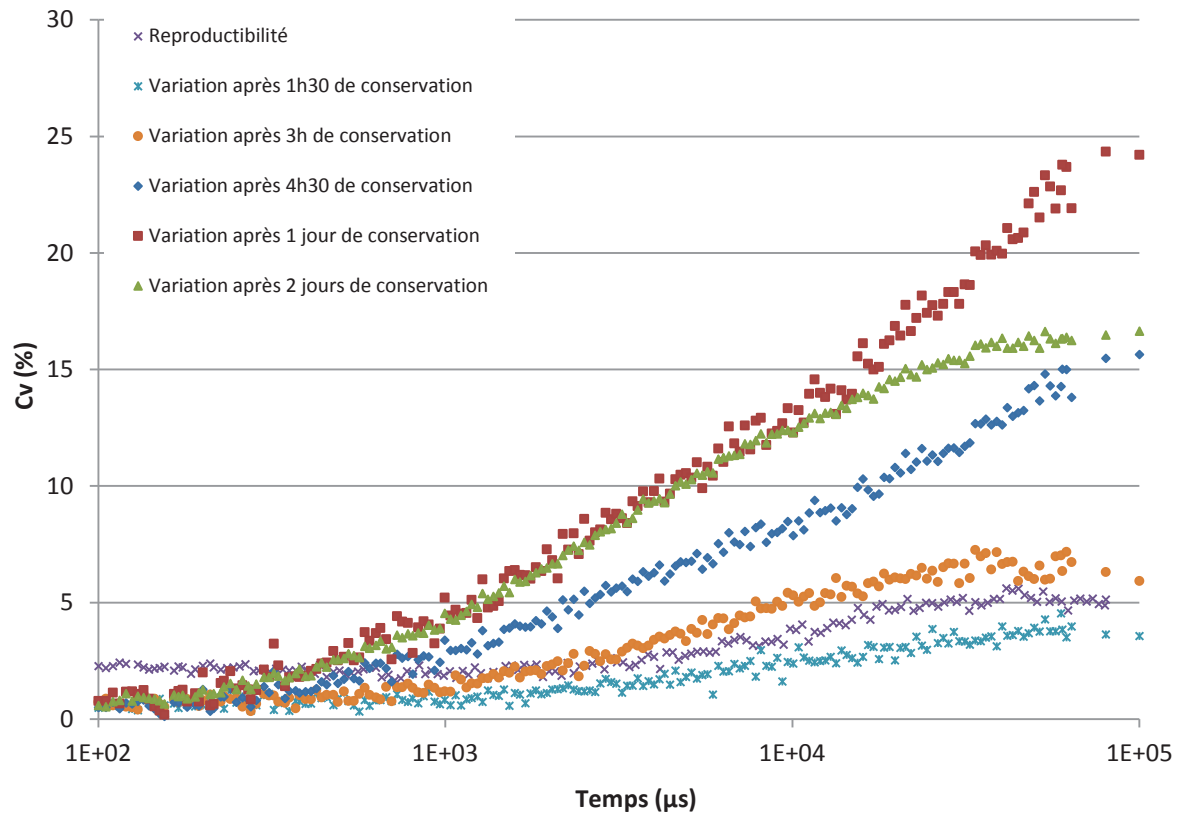


Figure 92. Fonctions d'autocorrélation du cortex rénal porcine enregistrée à différents stades de dégradation pour des échantillons conservés dans le liquide physiologique à température ambiante.

Nous constatons toujours le même décalage des fonctions d'autocorrélation (vers les temps courts) au cours de la dégradation. Nous pouvons donc conclure que dans les deux cas, le cortex rénal porcine se liquéfie au cours du temps.

Le décalage est observé à partir de 1h30 de conservation, nous constatons également qu'il n'y a pas de grande différence entre le spectre enregistré après 1 jour et 2 jours de conservation.

Pour quantifier ces variations, nous les avons comparées à la reproductibilité calculée précédemment. La Figure 93 montre les variations observées pendant le premier jour de test et après 1 jour et 2 jours de conservation.



**Figure 93. Comparaison du coefficient de variation des résultats obtenus sur le cortex rénal porcine à différents stades de dégénérescence pour des échantillons conservés à température ambiante**

Nous remarquons que les variations du spectre des échantillons conservés à température ambiante sont significatives dès 3 heures de conservation, contrairement aux spectres enregistrés pour les échantillons conservés au frais où on n'observe un décalage significatif qu'à partir du deuxième jour de conservation.

Ternifi et coll. (2013) ont observé les modifications des propriétés mécaniques du rein de porc dues à la dégénérescence *ex vivo* par élastographie ultrasonore, et ont pu suivre le module de cisaillement après 2 jours de conservation à température ambiante.

La Figure 94 montre les résultats de l'étude.

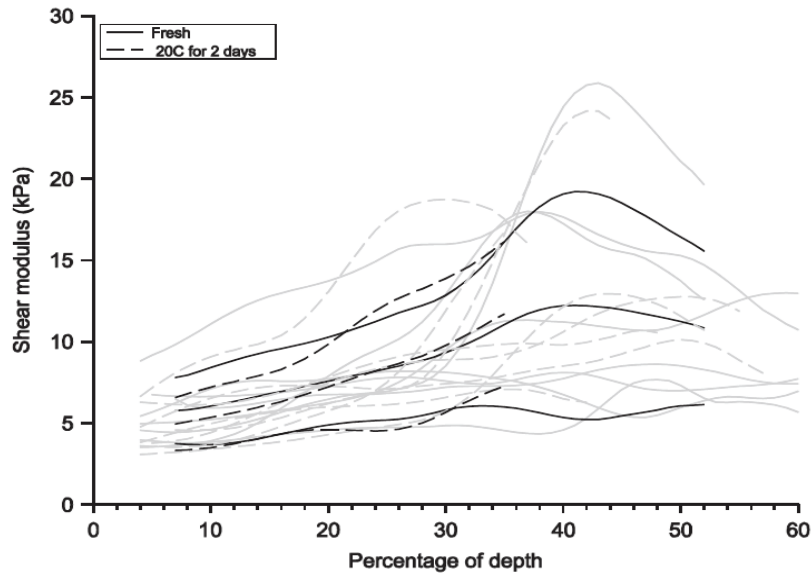


Figure 94. (En noir) la moyenne et l'écart type du module de cisaillement avant et après conservation à température ambiante pendant 2 jours. (En Gris) les courbes obtenues dans chaque cas. (Ternifi, 2013)

Contrairement à ce qu'on a observé par DWS, les propriétés mécaniques ne se modifient pas avec la dégénérescence. Ce qui suggère que la DWS détecte des modifications microstructurales, même si elles n'impactent pas les propriétés macroscopique du milieu étudié.

La Figure 95 est une comparaison des variations du spectre d'autocorrélation observées au cours de la dégénérescence du cortex rénal porcin pour une conservation dans le liquide physiologique à 25°C et à 4°C.

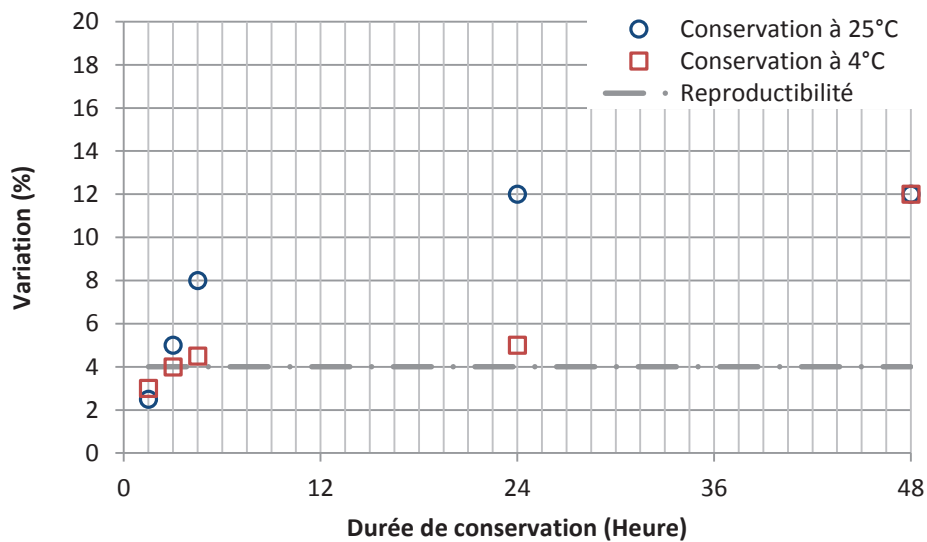


Figure 95. Les variations de la fonction d'autocorrélation du cortex rénal porcin enregistrées au cours de la conservation dans le liquide physiologique à 25°C et à 4°C

Nous constatons que les variations sont plus importantes pour les échantillons conservés à température ambiante, ce qui signifie que la conservation au frais permet de ralentir la dégénérescence de ce tissu biologique.

### 7. Conclusion

Les fonctions d'autocorrélation du cortex rénal porcin, du parenchyme hépatique ainsi que du cerveau de porc montrent un début de décorrélation à  $10^2 \mu\text{s}$  et se termine à  $10^6 \mu\text{s}$ , avec un temps caractéristique proche de  $2.10^4 \mu\text{s}$ .

Les mesures présentent une bonne répétabilité et reproductibilité, ainsi qu'une variabilité inter-échantillons raisonnable (voir Tableau 8).

La décorrélation commence à des temps lents, ceci peut être dû aux tailles assez grandes des diffuseurs, et le spectre décroît lentement, ce qui pourra être expliqué par la polydispersité de la taille des particules diffusants la lumière.

Le parenchyme hépatique présente une décroissance différente de celle du cortex rénal et du cerveau qui est caractéristique de ce milieu et qui se représente pour tous les échantillons testés.

A l'aune de cette étude, il semblerait que la théorie associée à la diffusion de la lumière (développée pour les fluides) ne peut pas être utilisée pour déterminer les propriétés mécaniques de ces matériaux biologiques.

Cette technique mise en place semble en revanche pertinente pour étudier les changements de la microstructure dans ces milieux biologiques au cours d'un processus donné. C'est ce qu'on a montré en suivant les changements de la fonction d'autocorrélation au cours de la déshydratation, et les résultats trouvés corroborent avec une étude de la bibliographie.

La DWS nous a aussi permis d'observer des modifications du spectre au cours de la dégénérescence pour deux modes de conservation (à  $25^\circ\text{C}$  et à  $4^\circ\text{C}$ ). Les modifications de la fonction d'autocorrélation sont significatives à partir de 3h de conservation à température ambiante, et à partir d'un jour de conservation à  $4^\circ\text{C}$ . Ces modifications observées dans le spectre d'autocorrélation reflètent l'état dynamique de la microstructure, même si ces changements n'ont pas d'influence sur les propriétés mécaniques macroscopiques.

Le Tableau 9 résume les différents milieux biologiques étudiés avec leurs principaux composants et les études menées avec les résultats de chaque technique utilisée.



CHAPITRE IV : ETUDE DES MATERIAUX BIOLOGIQUES

Organe étudié	Principaux constituants	Epaisseur	Répétabilité	Reproductibilité	Variabilité	Déshydratation	Dégénérescence
<b>Rein</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Glomérules : 200µm</li> <li>- Tubule proximal : 50 à 60 µm</li> <li>- Tubule distal : 12 à 15µm</li> <li>- Feuillet de la capsule : 0,25 à 0,35 µm</li> </ul>	<p>1. l'épaisseur n'a aucun effet sur le spectre obtenu.</p> <p>2. l'épaisseur choisie est de 4mm pour des raisons pratiques.</p>	Résultats répétables avec Cv < 2,4%	Résultats reproductibles avec Cv < 6,7%	Faible variabilité des résultats avec Cv < 8,8%	<p>1. Décalage des spectres vers les temps lents → le cortex rénal se rigidifie</p> <p>2. Le liquide physiologique permet d'hydrater le cortex rénal sans modifier son spectre de DWS</p>	<p>1. Décalage des spectres vers les temps courts → le cortex rénal se liquéfie au cours du temps</p> <p>2. La conservation au frais ralentie la dégénérescence.</p> <p>3. La DWS permet de détecter des changements microstructuraux même s'ils n'ont pas d'influence sur les propriétés mécaniques.</p>
<b>Foie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hépatocyte : 20-30 µm</li> <li>- Canalicule biliaire</li> <li>- Sinusoïde</li> <li>- Fibres grillagées</li> </ul>	<p>1. Le spectre ne dépend pas de l'épaisseur</p> <p>2. L'épaisseur choisie est de 4mm</p>	Résultats répétables avec Cv < 5.7%	Résultats reproductibles avec Cv < 9%	Faible variabilité des résultats avec Cv < 10%		

CHAPITRE IV : ETUDE DES MATERIAUX BIOLOGIQUES

<b>Cerveau</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Neurone: 5 à 50 <math>\mu\text{m}</math></li> <li>- Axones myélinisés : a &lt; 20<math>\mu\text{m}</math></li> <li>- Axones amyélinisés : a &lt; 1 ou 1.5<math>\mu\text{m}</math></li> <li>- Astrocytes &gt; 20<math>\mu\text{m}</math></li> <li>- Oligodendrocytes : a &lt; 20<math>\mu\text{m}</math></li> <li>- Microglie : Quelques <math>\mu\text{m}</math></li> </ul>	<p>1. Le spectre ne dépend pas de l'épaisseur</p> <p>2. l'épaisseur choisie est de 4mm</p>	<p>Résultats répétables avec Cv &lt; 3,5%</p>	<p>Résultats reproductibles avec un Cv &lt; 9,5%</p>	<p>Faible variabilité des résultats avec Cv &lt; 11%</p>
----------------	--	--	---	--	--

Tableau 9. Récapitulatif des différentes études réalisées avec les résultats trouvés et les caractéristiques des milieux étudiés.

## **Conclusion générale et perspectives**

Au cours de ce travail de thèse nous avons mis en place un dispositif expérimental de diffusion multiple de la lumière destiné à étudier les tissus biologiques mous. L'évaluation de ce dispositif est réalisée en utilisant des milieux choisis pour leur structure de complexité croissante.

### **Mise en place du dispositif expérimental de DWS**

Dans un premier temps, nous avons mis en place le dispositif expérimental de diffusion multiple de la lumière, qui permet d'analyser les fluctuations de l'intensité diffusée par les milieux étudiés. Des vérifications des conditions expérimentales ont été effectuées et ont montré la nécessité d'utiliser une table antivibratoire, deux socles anti-lumières parasites et un polariseur. Ensuite, le dispositif a été étalonné avec un matériau (le lait) dont le spectre est donné par la littérature.

La fonction d'autocorrélation enregistrée avec ce nouveau dispositif correspond à celle de référence et a permis de remonter à la viscosité du lait en se basant sur les hypothèses de la monodispersité de la taille des diffuseurs, de leur forme en considérant qu'ils sont des sphères dures et qu'ils sont sous mouvements brownien.

### **Limites de la DWS comme technique micro-rhéologique**

Afin d'étudier les possibilités offertes par la technique de DWS à remonter aux propriétés mécaniques des milieux d'étude, nous avons testés des matériaux de différentes structures : une suspension de polystyrène où les particules diffusantes sont des sphères dures monodisperses et une mousse où les diffuseurs sont des bulles d'air emprisonnées dans un liquide savonneux.

La réponse de la suspension de polystyrène est très proche de celle du lait avec les mêmes temps caractéristiques et une décroissance rapide, avec un début de décorrélation à  $1\mu\text{s}$  et une fin à  $10^3\mu\text{s}$  et un temps de relaxation de 40 et  $50\mu\text{s}$  pour la suspension et le lait respectivement ce qui est expliqué par la taille proche des diffuseurs. Tandis que la mousse donne un spectre avec un début de décorrélation aux temps lents ( $10^4\mu\text{s}$ ) et une fin à  $5.10^6\mu\text{s}$  expliqué par la grande taille des diffuseurs. Le temps de relaxation se situe à  $2.10^5\mu\text{s}$ .

Cette étude a montré que la théorie de DWS peut être utilisée pour remonter à la viscosité du lait et de la suspension, et a montré ses limites pour le calcul de la viscosité de la mousse.

### **Etude de la réponse des tissus biologiques mous**

Nous avons étudié les tissus biologiques mous avec le dispositif mis en place, la décorrélation commence à des temps très lents, nous avons constaté que l'épaisseur des

échantillons n'a pas d'effet sur le spectre de DWS, mais il est préférable d'utiliser des épaisseurs dépassants les 4mm.

L'étude du cortex rénal, du parenchyme hépatique ainsi que du cerveau de porc a montré une bonne répétabilité et une bonne reproductibilité des mesures, ainsi qu'une variabilité raisonnable, ce qui montre la sensibilité de la technique qui peut être utilisée pour suivre les changements microstructuraux.

Les trois tissus biologiques étudiés montrent les mêmes temps caractéristiques. Les fonctions d'autocorrélation du cortex rénal et du cerveau ont la même décroissance, tandis que celle du foie représente une décroissance différente avec un pic aux alentours de  $10^5\mu\text{s}$  caractéristique de la réponse de ce tissu.

Leur fonction d'autocorrélation ne permet pas de remonter à leur viscosité, résultat attendu puisque leur structure est différente de celle d'un fluide.

Nous avons enregistré les fonctions d'autocorrélation du cortex rénal porcin au cours de la déshydratation, et nous avons constaté un décalage vers les temps lents correspondants à la réponse des solides, ce qui est corroboré par une étude rhéologique qui a montré que le module de cisaillement des tissus biologiques augmente avec la déshydratation (Nicolle, 2010).

Nous avons également fait une étude de la dégénérescence du cortex rénal porcin pendant trois jours de conservation dans le liquide physiologique à 25°C et à 4°C. Nous avons constaté un effet inverse de la déshydratation. En effet, les fonctions d'autocorrélation du cortex rénal se décalent vers les temps courts s'approchant de la réponse des liquides.

La Figure 96 montre les fonctions d'autocorrélation moyennes des différents milieux étudiés avec le dispositif expérimental mis en place au cours de ce travail de thèse.

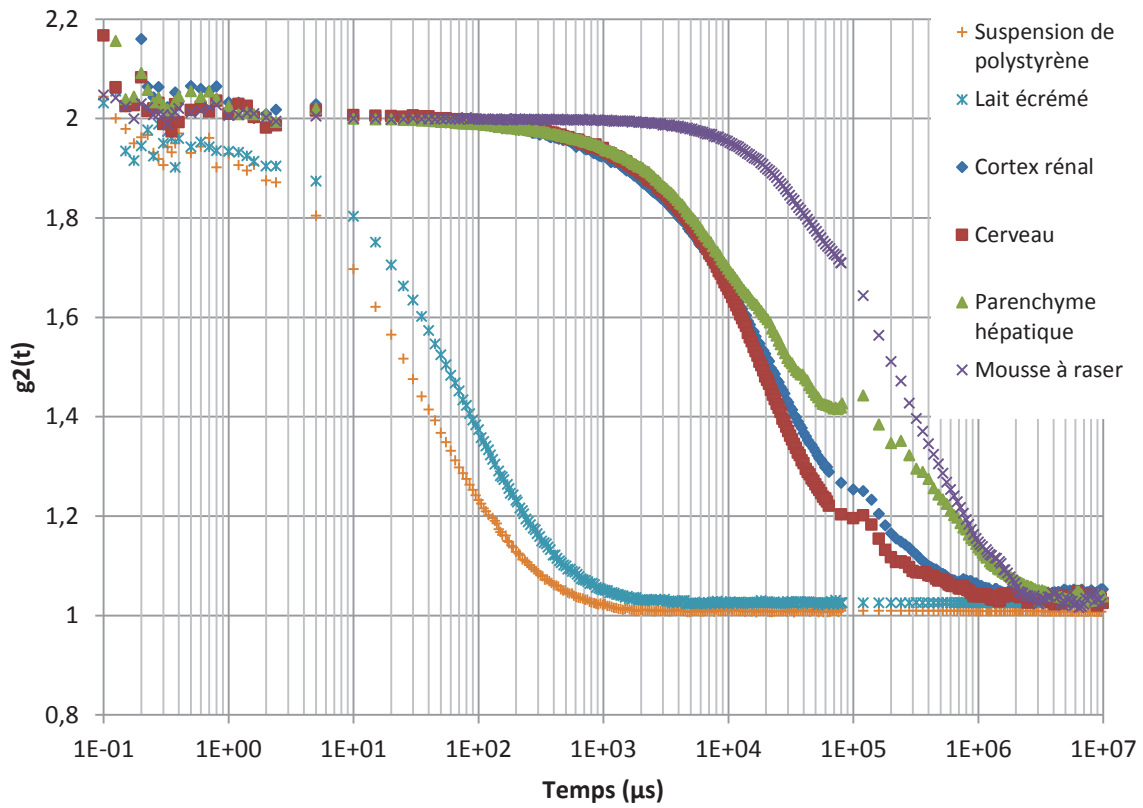


Figure 96. Les fonctions d'autocorrélation moyennes enregistrées pour les différents milieux d'étude (lait, suspension, mousse, tissus biologiques)

Nous constatons une ressemblance entre la fonction d'autocorrélation du lait et de la suspension, ce qui s'explique par la taille proche des éléments diffuseurs.

Les tissus biologiques donnent une fonction d'autocorrélation dans les temps lents avec une forme de spectre caractéristique spécifique à ces matériaux.

Leur réponse s'approche de celle de la mousse qui donne un spectre avec un début de décorrélation dans des temps plus lents que les tissus biologiques, ce qui peut être expliqué par la taille importante des diffuseurs dans la mousse (50μm).

## Perspectives

Nous avons montré que la DWS ne permet pas de remonter aux propriétés mécaniques des tissus biologiques mous à partir de la théorie développée pour les fluides, mais cette technique a permis dans la littérature de suivre les changements de la microstructure au cours d'un processus biologique, chimique ou industrielle donné.

Il faut prévoir une amélioration de la certitude de mesure pour les matériaux biologiques, notamment le foie qui représente un spectre plus proche d'un solide que celui du rein ce qui n'est pas cohérent avec les données rhéologiques

Une étude de la déshydratation a été faite et nous a permis de suivre l'évolution du spectre au cours de ce processus. Il est donc nécessaire de comprendre les changements microstructuraux qui se produisent au cours de la déshydratation afin de mieux interpréter les spectres obtenus.

Dans le cas des tissus biologiques mous, elle peut servir à suivre la dégénérescence des tissus au cours du temps. Cette étude a été initiée au cours de ce travail de thèse et a permis de suivre les changements de la microstructure en fonction des conditions de conservation (temps et température).

Elle peut également servir à étudier la modification de la structure des matériaux biologiques (conservation, pathologies...)

Etudier l'effet de la température sur la réponse optique des tissus biologique est aussi importante. Théoriquement, un tissu testé à basse température doit avoir un spectre étalé dans le temps avec une fin de décorrélation dans les temps lents, à l'inverse d'un échantillon testé à température corporelle qui doit avoir un spectre qui décroît plus rapidement et une fin de décorrélation se situant dans des temps plus courts.

Modéliser la fonction d'autocorrélation des tissus biologiques mous apportera également plus d'informations pour expliquer la réponse de ces matériaux au cours d'un processus donné (déshydratation, dégénérescence ou congélation par exemple), ceci en étudiant les variations des différents paramètres du modèle.

Une étude rhéo-optique est aussi envisageable, le dispositif expérimental a été mis en place pour permettre d'intégrer le dispositif optique au rhéomètre, et donc de suivre le changement de la microstructure au cours d'une sollicitation mécanique externe.

## **ANNEXES**

---

*A : Protocole expérimental de DWS (2013\_HST\_OPT)*

*B : Protocole expérimental de Rhéologie (2012\_HST\_SHE)*

*C : Le corrélateur*

*D : Tableau récapitulatif des différentes études et essais réalisés*

*E : Remonter à la viscosité à partir des spectres de DWS*

*F : Changements du socle inférieur du rhéomètre*

## **Annexe A : Protocole expérimental de DWS (2013\_HST\_OPT)**

### **1. Etapes des expérimentations :**

- Préparation générale (réservation des moyens d'essai, commande, achat - pièces anatomiques, etc.)
- Préparation du montage (vérification des fibres optiques et du polariseur, nettoyage et séchage de la plaque en saphir, mise en route du laser et positionnement de la tache lumineuse au centre du support)
- Préparation des organes (découpe, conservation au frais dans le liquide physiologique)
- Vérification du montage à l'aide d'un étalon (le lait ou la mousse à raser)
- Positionner l'échantillon à tester au centre du support en saphir après l'avoir nettoyé et séché
- Essais : mesures au cours du temps, à température ambiante
- Enregistrement des spectres
- Traitement et analyse des données

Il est impératif de nettoyer le support des échantillons (socle inférieur du rhéomètre contenant la plaque en saphir) après chaque essai en l'essuyant avec du papier absorbant, et de le laver à l'aide d'une éponge douce contenant du savon à la fin des tests.

### **2. Délimitation des zones d'expérimentation**

Les essais se déroulent dans le laboratoire de physique de l'école normale supérieure de Lyon. Le dispositif a été mis en place dans la salle du rhéomètre.

### **3. Personnel impliqué**

- Naoual Zerrari
- Stéphane Nicolle
- Jean-François Palierne



#### 4. Préparation des échantillons

##### a. Commande et transport des pièces anatomiques

- Provenance et préparation des échantillons : Les pièces anatomiques utilisées pour cette manipulation proviennent de la boucherie (Auchan Porte des Alpes ou Carrefours Part-dieu).
- Transport : Le transport des pièces anatomiques est effectué dans des glacières qui permettent de garder les organes au frais, et de maintenir leur température constante.

##### b. Traitement des pièces anatomiques au Laboratoire de physique de l'ENS

Les pièces anatomiques issues de la boucherie ne sont pas utilisables directement après achat et transport. Avant de les utiliser pour les essais, il faut réaliser des découpes avec une épaisseur de 4 mm à l'aide de deux lames soudées et qui font 4 mm entre elle. On peut utiliser l'emporte-pièce pour faire des rondelles de 16mm de diamètre, et utiliser le vibratome disponible dans le laboratoire de physique de l'ENS pour avoir des découpes propres pour le cerveau.

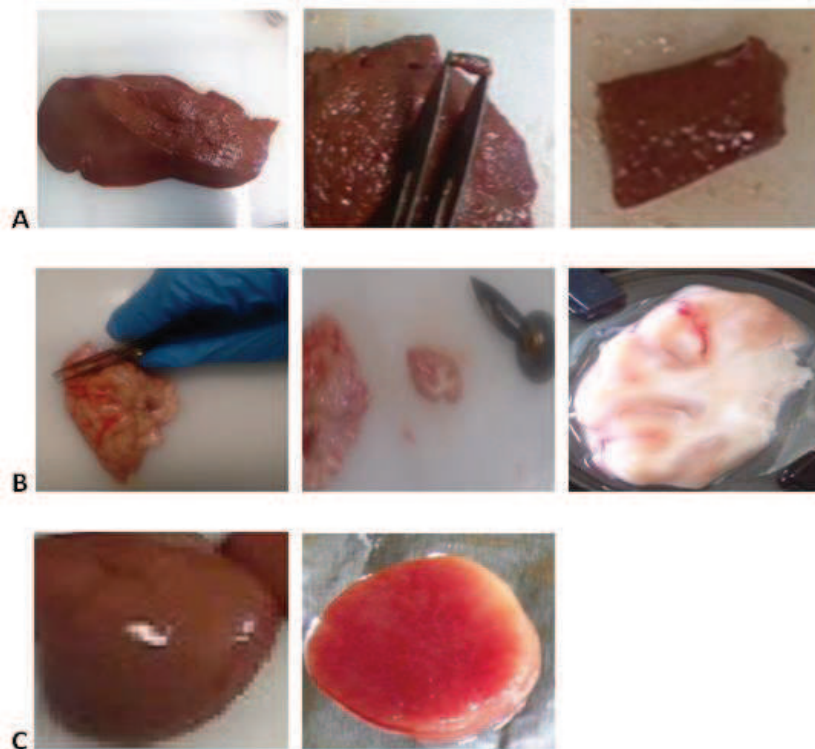


Figure 1. (A) les étapes de la découpe du foie de porc avec une épaisseur de 4mm. (B) du cerveau de porc avec une épaisseur de 4mm. (C) du cortex rénal porcine avec une épaisseur de 4mm et un diamètre de 16mm

## 5. Mise en place des procédures d'hygiène :

- Zone d'expérimentation : Paillasse de la salle de rhéométrie.
- Personnes autorisées à entrer dans la zone d'expérimentation : personnel impliqué
- Gants et lunettes de protection du laser : cf. liste matériel.

## 6. Campagne de mesure

### a. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental permettant de réaliser des expériences de diffusion multiple de lumière a été mis en place, puis étalonné. Il est composé d'un **canon laser** source de laser rouge, relié à une **fibre optique émettrice** qui illumine l'échantillon posé sur la **plaque en saphir**. La lumière diffusée à l'intérieur de l'échantillon traversera à la sortie un **polariseur**, puis sera transportée par la **fibre réceptrice** jusqu'au **photomultiplicateur** qui compte le nombre de photons diffusés et les transforme en intensité électrique. Enfin le **corrélateur** permet de calculer la fonction d'autocorrélation de cette intensité diffusée (voir figure3).

Le support de l'échantillon est recouvert avec un **socle** afin d'éviter la détection de photons parasites provenant des lumières de la salle, et repose sur une **table antivibratoire** qui absorbe les vibrations environnantes.

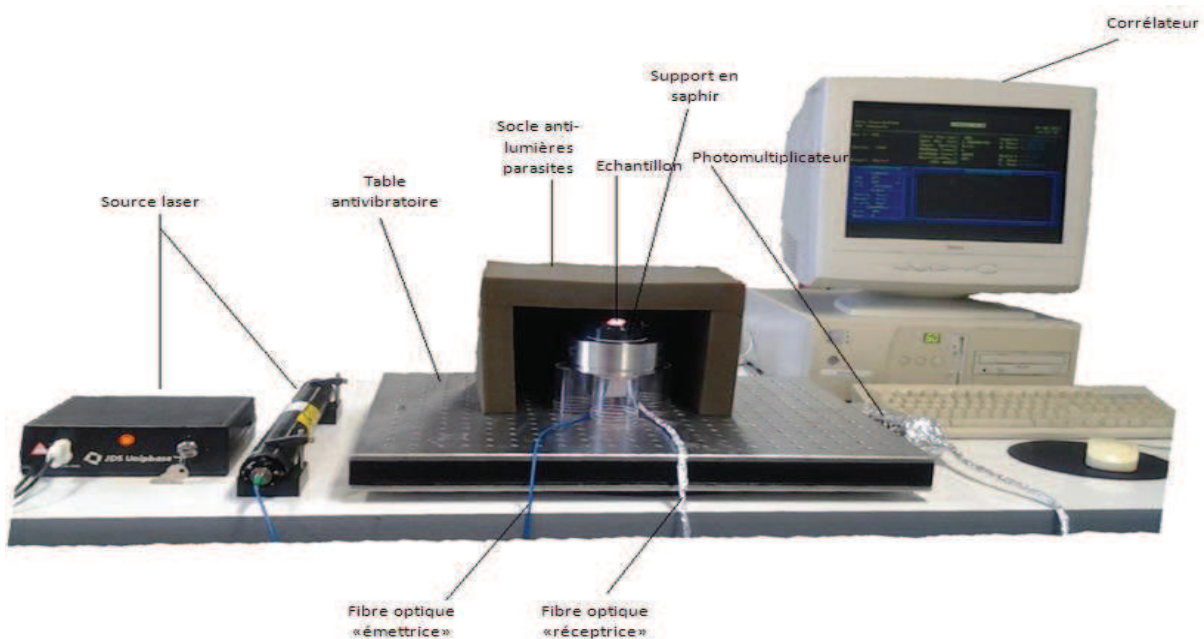


Figure 2. Dispositif expérimental mis en place dans le laboratoire de physique de l'ENS Lyon qui permet de réaliser des essais de diffusion multiple de la lumière sur différents types de matériaux

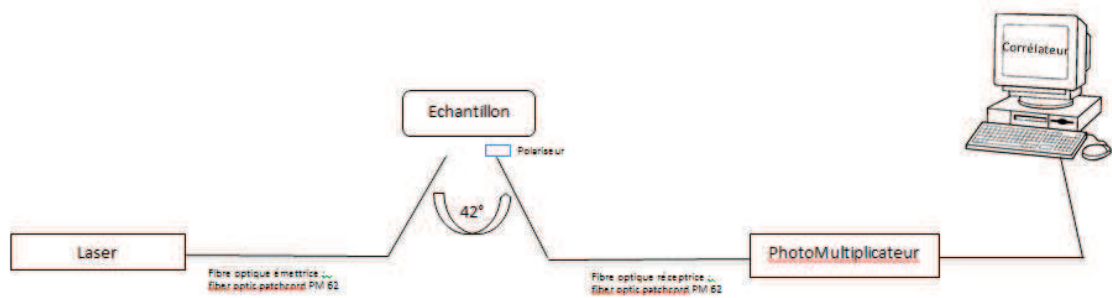


Figure 3. Schéma du montage expérimental de diffusion de lumière avec les différentes composantes

### b. Mise en place des échantillons

Avant de commencer les tests, un étalonnage doit être fait en enregistrant la fonction d'autocorrélation  $g_2(t)$  du lait ou de la mousse à raser, dont le spectre est connu, afin de s'assurer que le montage ne présente aucune anomalie.

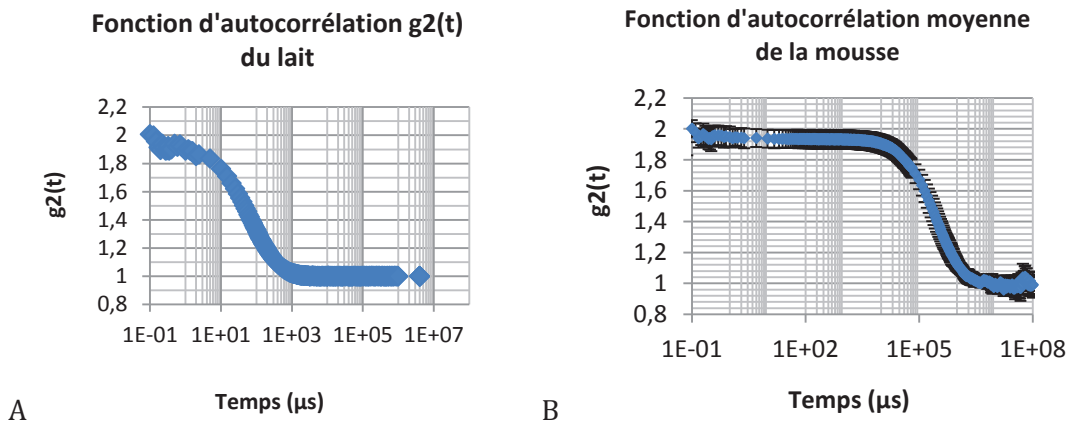


Figure 4. (A) : Fonction d'autocorrélation moyenne du lait – (B) : Fonction d'autocorrélation moyenne de la mousse à raser. Les deux sont utilisés comme étalons

Si l'échantillon à tester est un milieu purement visqueux, on doit le verser dans un petit bœcher en verre préalablement nettoyé et séché, qu'on doit remplir au maximum (2,5 cm).

S'il s'agit d'un milieu viscoélastique, on le dispose directement sur la plaque en saphir nettoyée et séchée, et si besoin on l'écrase à l'aide d'une lame en verre afin d'uniformiser la surface au contact du support (dans le cas d'une mousse ou d'une émulsion par exemple).

Dans le cas des tissus biologiques, on réalise la découpe correspondante, puis on le dispose sur le support tout en l'hydratant avec du liquide physiologique pour éviter le dessèchement de la surface au contact de l'air.

Dans tous les cas, il faut positionner l'échantillon au centre de la plaque en saphir, et faire bouger le support afin de centrer la tache laser sur tout l'échantillon (voir figure 6)

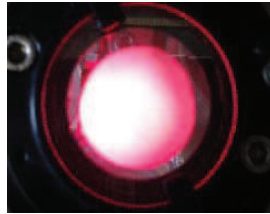


Figure 5. Exemple de positionnement de la tache laser sur la surface de la mousse à raser avant de commencer les tests.

### c. Mesure avec le BI9000AT

Nous utilisons une carte corrélateur BI9000AT (Brookhaven Instrument) afin d'acquérir l'intensité de la lumière diffusée sous sa forme auto-corrélée.

Le spectre que trace notre corrélateur est la fonction d'autocorrélation qui consiste à comparer l'intensité diffusée à un temps  $t$  avec elle-même après un temps  $t+\tau_j$ . (Suissa, 2006).

La fonction d'autocorrélation tracée est donc la fonction d'autocorrélation de l'intensité diffusée  $I(t)$ , et qui s'écrit :

$$C(\tau) = \langle I(0)I(\tau) \rangle$$

L'interface du logiciel est composée de quatre parties,

La première en haut nous montre la nature de la fonction enregistrée (autocorrélation), la version du logiciel ainsi que la date et l'heure de la mesure

La deuxième partie qui se situe juste en bas nous montre les différents paramètres du corrélateur qu'on peut modifier :

A : le temps du début de la mesure ( $\mu\text{s}$ )

B : le temps de fin de mesure ( $\mu\text{s}$ )

C : le mode de mesure

D : la durée du test

E : le nombre de photons détectés par seconde

F : la ligne de base mesurée

G : la ligne de base calculée

La troisième partie en bas à gauche « display info » montre les informations de l'affichage : le curseur, l'échelle ainsi que les canaux utilisés pour la mesure :

a : le canal

b : le temps correspondant à la position du curseur

c : l'intensité de la lumière diffusée à l'instant « b »

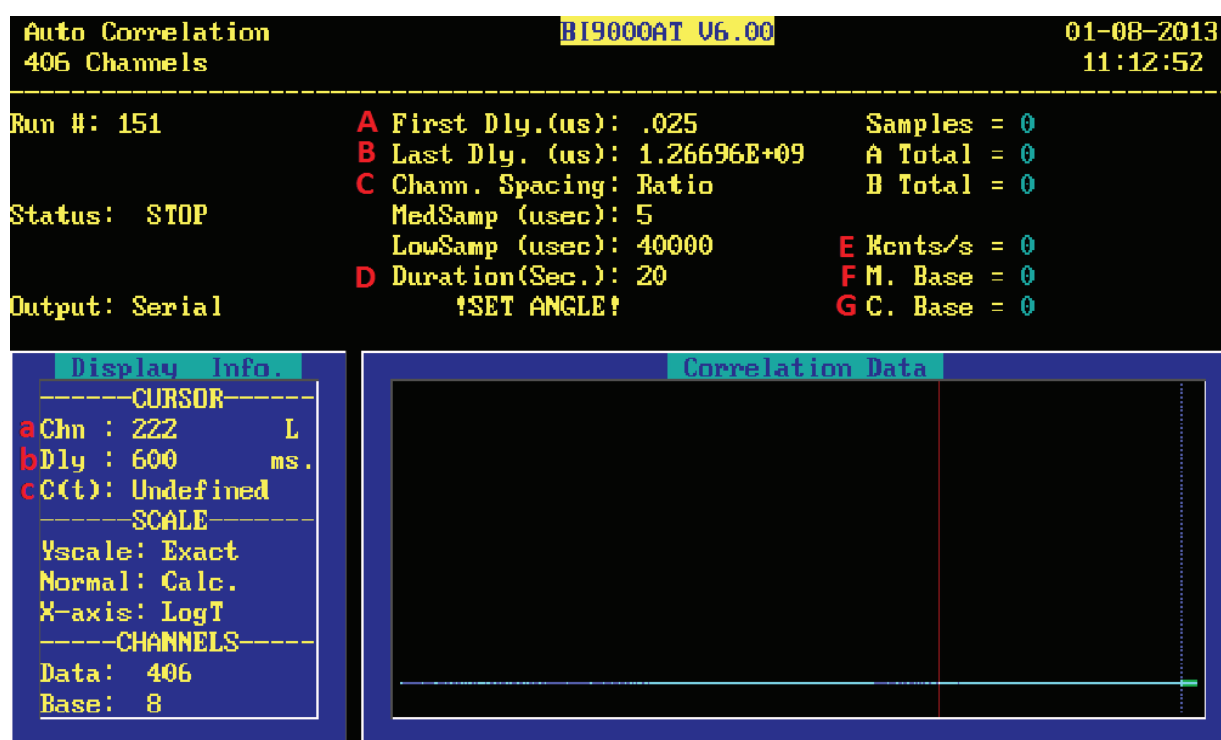


Figure 6. L'interface du corrélateur BI9000AT avant de lancer le test

Avant de commencer les tests, il faut choisir le temps de début et de la fin de mesure [0.025 $\mu$ s – 10<sup>9</sup>  $\mu$ s], s'assurer qu'on est en mode « ratio » ceci en appuyant sur la touche F7.

Ensuite il faut déterminer la durée de mesure, pour cela on lance un test sans fixer la durée, puis on regarde le temps correspondant à la fin de la décorrélation qu'on va multiplier par 100 pour obtenir la durée optimale de mesure.

Pour lancer le test on appuie sur F9. On observe alors la fonction d'autocorrélation au cours du temps

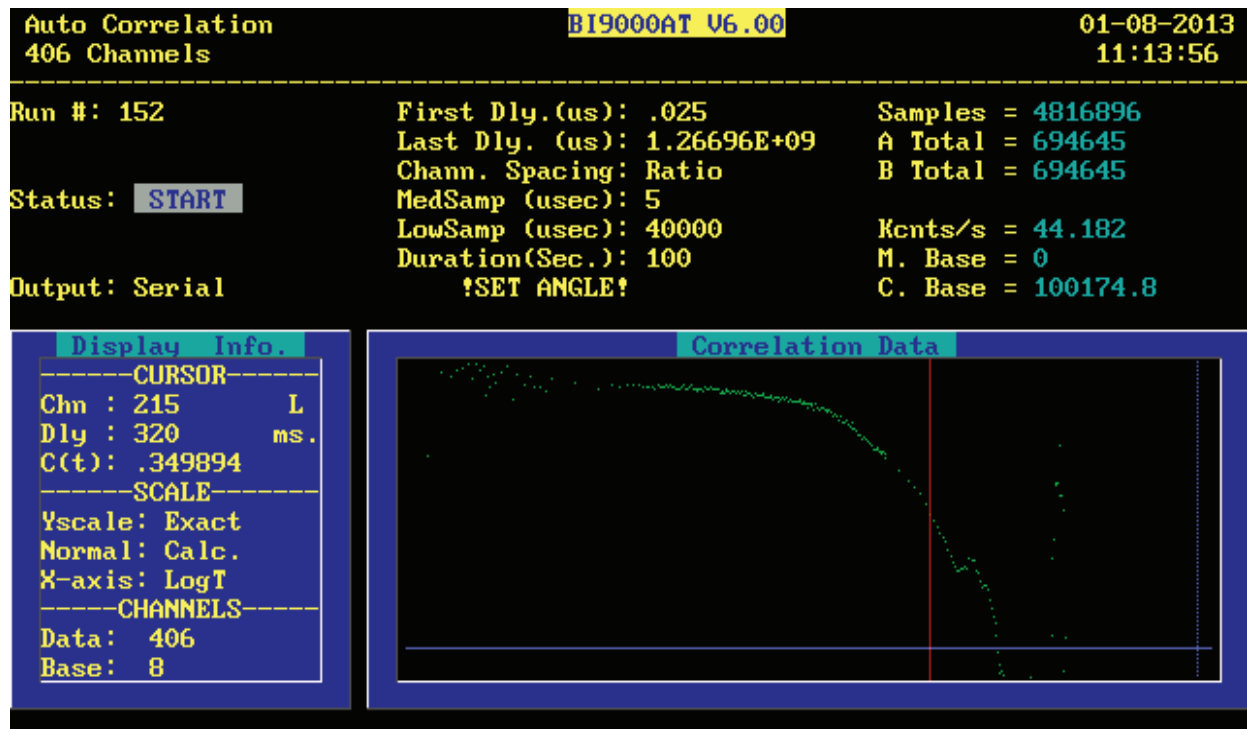


Figure 7. Exemple d'une fonction d'autocorrélation  $C(t)$  enregistrée en mode "ratio" avec une durée de 100 sec. La position du curseur est montrée en rouge, avec les informations sur le point correspondant dans la fenêtre à gauche

#### d. Enregistrement et sauvegarde des données

Pour enregistrer le spectre obtenu, il faut appuyer sur AltGr F10, puis entrer le nom du fichier. L'enregistrement se fait sur C:\

L'ensemble des données de l'expérimentation seront conservées en 2 exemplaires.

#### e. Traitement des données

Le fichier enregistré est sous forme « Wordpad » il faut donc le copier sous « Excel » puis normaliser la fonction obtenue en la divisant par la valeur de la ligne de base calculée, qui est donnée par le corrélateur.

On pourra alors tracer la fonction normalisée grâce à laquelle on peut par exemple remonter aux modules de cisaillement (pour certains types de matériaux) ou à la taille des particules diffuseurs.

### 7. Liste du matériel nécessaire

Tenue de protection individuelle lors des expérimentations

- Sur-blouse (si on étudie du matériau biologique d'origine animale)
- Gants : petits et grands

- Lunettes pour se protéger du rayon laser si l'exposition au faisceau est directe lors de la vérification du montage (pas nécessaire au cours de la manip)

#### Transport pour le cas de matériau biologique

- Glacières avec protections (type sac poubelle)
- Gants

#### Préparation des échantillons biologiques

- Scalpel
- Deux lames soudées
- Pincés
- Solution saline
- Papier
- Sacs poubelle + boîte de récupération pour déchets d'activités de soins à risque infectieux (dasri)
- Etiquettes échantillons
- Stylo bille
- Une pharmacie est à disposition dans le hall du laboratoire de physique de l'ENS contenant le nécessaire pour les premiers soins en cas de coupure (désinfectant, pansements...)
- éponge, savon et papier absorbant pour le nettoyage du socle inférieur du rhéomètre et la plaque en saphir.



## Annexe B : Protocole expérimental de Rhéologie (2012\_HST\_SHE)

[Nicolle]

### 1. Matériels et Méthodes

#### a. Préparation

Le foie, la rate, le pancréas et les reins seront prélevés dans le L2 dès réception du corps et avant congélation si cette dernière est envisagée avant une autre expérimentation. La procédure mise en place au LBMC (« Manipulation des matériaux biologiques ») sera respectée tout au long de la préparation des échantillons.

Une coupe cylindrique à l'emporte-pièce sera effectuée dans le parenchyme de chaque organe avec un outil de diamètre 15 mm. L'échantillon de tissu sera ensuite découpé perpendiculairement à l'axe longitudinal du cylindre à l'aide d'un scalpel double lames écartées de 2 mm (figure 1) puis immergé de solution saline (Ringer lactate) dans un pot. Un pot sera réservé à chaque type d'organe et conservé au réfrigérateur jusqu'au moment du transport.

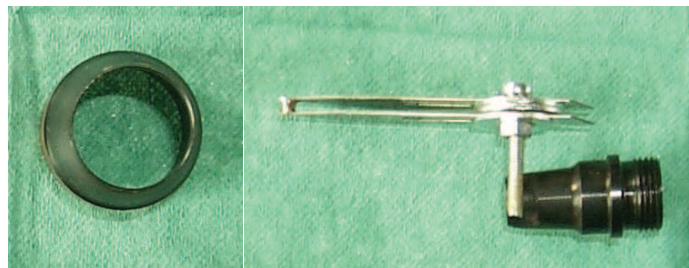


Figure 1 : Emporte-pièce (à gauche) et scalpel double lame (à droite)

Le transport des échantillons vers l'ENS de Lyon s'effectuera en voiture de service avec une valise à triple confinement chargée dans son premier compartiment des pots et de sachets remplis de glaçon.

#### b. Tests

Un rhéomètre (Bohlin CVO-R 150) sera utilisé en configuration plan/plan pour réaliser les expériences de cisaillement (figure 2). Les échantillons seront collés aux plateaux du rhéomètre à l'aide d'une colle cyanoacrylate Superglue3 (Loctite®) afin d'éliminer les risques de glissement (4) et immergés de liquide physiologique pour éviter leur déshydratation (5). La température du plateau inférieur sera portée à 37°C et un couvercle recouvrira l'échantillon afin de réduire les pertes thermiques et les effets de convection.



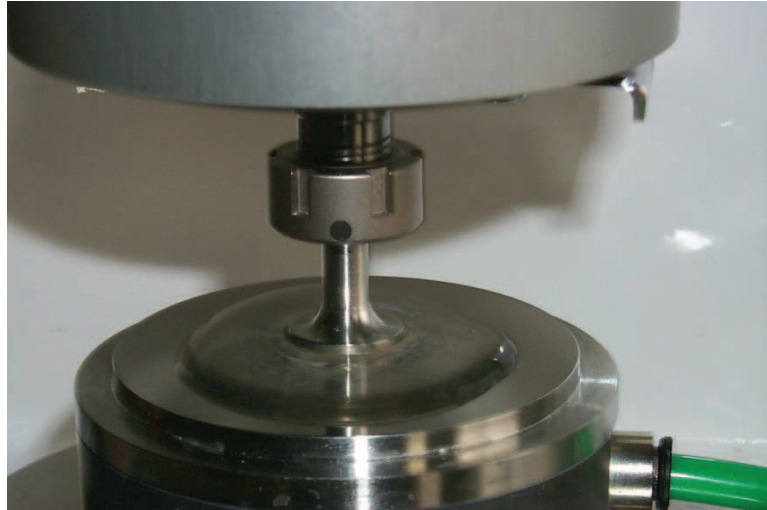


Figure 2 : Echantillon de tissu mis en situation de test (sans couvercle)

La détermination des propriétés mécaniques linéaires et non linéaires des organes s'effectuera en deux étapes après avoir préconditionné les échantillons. Le préconditionnement consiste à répéter le premier type de test décrit ci-dessous jusqu'à ce que la réponse de l'échantillon soit stabilisée.

Le premier test consistera à exciter l'échantillon de manière harmonique en appliquant une petite déformation (0.1 ou 1%) au bord de l'échantillon et à mesurer dans le même temps le couple résultant. Le balayage fréquentiel sera réalisé de 0.1 à 10 Hz puis de 10 Hz à 0.1 Hz. L'échantillon sera dit « préconditionné » lorsque sa réponse fréquentielle sera stable entre la montée et la descente en fréquences (écart des réponses < 5%).

Le deuxième test consistera à soumettre les échantillons à une vitesse de déformation constante. Chaque échantillon subira un maximum de déformation de 100% et sera sollicité par l'une des trois vitesses suivantes : 0.0151 s<sup>-1</sup>, 0.133 s<sup>-1</sup> et 0.6 s<sup>-1</sup>. Ce type de test permettra d'étudier la dépendance de la réponse des tissus à la déformation et à la vitesse de déformation.

### c. Nettoyage

Les échantillons testés seront mis dans un sac à déchets médicaux, en plastique jaune qui sera rapporté au L2 pour être jeté dans une boîte carton à déchets d'activités de soins à risque. Les plateaux du rhéomètre ainsi que le scalpel et l'ustensile de récupération des échantillons dans le pot seront nettoyés au phagospray après chaque utilisation.

## 2. Résultats attendus

L'analyse des résultats du test harmonique aboutira à la détermination du module de cisaillement complexe reflétant les propriétés élastique et visqueuse des tissus dans le régime linéaire de leur déformation, i.e. indépendantes de la déformation appliquée.

Le test à vitesse de déformation constante permettra de déterminer la façon dont vont raidir les tissus avec la déformation et la vitesse de déformation.

L'évolution fréquentielle du module de cisaillement complexe et l'évolution temporelle du couple mesuré à vitesse de déformation constante conditionneront l'applicabilité aux tissus humains de la loi de comportement proposée pour les organes de porc.

### **3. Liste du matériel nécessaire**

La tenue dans le L2 est décrite dans la procédure « Manipulation des matériaux biologiques.

#### **a. Préparation des échantillons**

- Emporte-pièce
- Scalpel
- Double scalpel
- Pincés
- Solution saline
- Papier
- Sachets poubelle
- 3 Bacs (outils propres/outils sales/organes nettoyés)
- Etiquettes pot
- Sachet plastique pour congélation
- Stylo bille
- Scotch papier

#### **b. Transport des organes**

- Véhicule de service du LBMC dédié aux transports des tissus biologiques
- Glacières contenant deux emballages étanches
- Gants

#### **c. Tenue de protection individuelle lors des expérimentations à l'ENS**

- Blouse
- Gants : petits et grands
- Lunettes et masque

**d. Essais**

- Rhéomètre
- Scalpel
- Cuillère
- Liquide physiologique
- Sacs à déchets médicaux, en plastique jaune
- Boîte en plastique rigide jaune pour lames usées

## Annexe C : Le corrélateur

Nous utilisons une carte corrélateur BI9000AT (Brookhaven Instrument) afin d'acquérir l'intensité de la lumière diffusée sous sa forme auto-corrélée

Le spectre que trace notre corrélateur est la fonction d'autocorrélation qui consiste à comparer l'intensité diffusée à un temps  $t$  avec elle-même après un temps  $t+\tau_j$ . (Suissa, 2006)

Si l'on compare l'intensité d'un signal aléatoire avec lui-même à un instant  $t$  donné, et un instant  $t'$  plus tard, il n'existe aucune relation prévisible entre ces deux intensités. Pour tout signal aléatoire, ce qui est le cas de la diffusion par des particules sous agitation thermique, la connaissance du signal à l'origine ne permet pas de prévoir la valeur du signal un certain temps ultérieur ( $t=\infty$ ).

Par contre, si l'on compare l'intensité du signal à l'instant  $t$  et à un temps  $t+dt$  infinitésimalement proche ( $dt$  de l'ordre de la nanoseconde), alors il existera une relation entre les deux signaux, qui seront dits « corrélés ».

Si l'on compare à présent, à  $t+2dt$ , le signal sera raisonnablement corrélé, mais moins bien qu'à  $t+dt$ . La corrélation se réduit avec le temps.

Si l'on continue à comparer le signal à  $t+2dt$ ,  $t+3dt$ ,  $t+4dt...$  avec le signal à l'origine, la corrélation va décroître de façon exponentielle en fonction du temps jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de corrélation du tout à  $t=\infty$  (quelques dizaines de millisecondes).

La fonction d'autocorrélation est donc une exponentielle décroissante qui traduit la probabilité pour une particule de rester à la même place en fonction du temps. Pour obtenir cette fonction, le corrélateur multiplie les intensités à  $t$  et  $t+n(dt)$ , et additionne le tout sur une période de temps égale au temps de la mesure.

Les temps caractéristiques seront donnés par la décroissance de la courbe d'autocorrélation.

La carte de corrélation BI9000AT dispose de deux modes de fonctionnement, le premier mode dit « mode linéaire » et le second « mode ratio »

### 1. Le mode linéaire

En mode linéaire,  $\Delta t_i = \Delta t$  pour tout  $i$  où  $\Delta t$  est un temps d'échantillonnage choisi par l'utilisateur. Les temps de décalage  $\tau_j$  sont tels que :  $\tau_j = j \times \Delta t$ . Pour un temps  $t$  donné, la quantité  $n_1$  sera donc le nombre de photons comptés entre  $t$  et  $t + \Delta t$ . Le nombre  $n_2$  sera le nombre de photons comptés entre  $t$  et  $t + 2\Delta t$  et ainsi de suite jusqu'à  $n_M$ , nombre de photons comptés entre  $t$  et  $t + M\Delta t$ . Le corrélateur va ajouter la valeur du produit  $n_1 \times n_1$  à celle présente dans le canal  $N_1$ , la valeur du produit  $n_1 \times n_2$  à celle présente dans le canal  $N_2$ , et continuera ainsi jusqu'au canal  $N_M$ . La fonction d'auto-corrélation se construit donc pendant tout le temps d'acquisition par accumulation. Notons que le corrélateur BI9000AT dispose d'un nombre maximum de 508 canaux. La gamme de temps que peut couvrir le mode linéaire est donc comprise entre 0 et  $508 \Delta t$ . Il appartient donc à l'utilisateur de choisir convenablement  $\Delta t$ . Il devra être suffisamment petit pour ne pas

rater de l'information contenue dans le signal et suffisamment grand pour que le corrélateur en couvre toute la dynamique.

## 2. Le mode ratio

Le mode linéaire est satisfaisant si le signal ne contient qu'un seul temps caractéristique compris dans la gamme que peut couvrir le corrélateur. Par contre, si le signal mesuré contient plusieurs temps caractéristiques, il peut être assez difficile d'avoir toutes les décroissances correspondantes sur la courbe d'autocorrélation entre 0 et  $508 \Delta t$ . Il est alors nécessaire d'étendre la dynamique du corrélateur. Le nombre de canaux étant fixe, il suffit d'augmenter les temps de décalage non linéairement de façon à couvrir une plus grande gamme de temps.

Le BI9000AT dispose d'un mode de répartition non linéaire des canaux : le mode ratio. Dans ce mode, les temps de décalage ne dépendent plus directement de  $\Delta t$ . Ils dépendent surtout du nombre de canaux  $M$ , du premier et du dernier temps de décalage, respectivement  $\tau_1$  et  $\tau_M$ , ces deux paramètres devant être choisis par l'utilisateur. Le BI9000AT choisi automatiquement  $\Delta t$  en fonction de  $\tau_1$  et  $\tau_M$ .

Concernant les temps de décalages, ils sont calculés en fonction du ratio  $R$  entre le premier et le dernier temps de décalage pondéré par  $M$  de sorte que :

$$\tau_M = \tau_1 \times R^{M-1}$$

Le temps de décalage  $\tau_j$  est calculé en fonction de  $R$  et arrondi au multiple de  $\Delta t$  le plus proche :

$$\tau_j = \tau_1 \times R^{j-1} \pmod{\Delta t}$$

Evidemment, il se peut que  $\tau_j \pmod{\Delta t} = \tau_{j+1} \pmod{\Delta t}$ . Dans ce cas, le corrélateur utilisera 1 canal de moins et le canal  $j+1$  correspondra en fait au canal numéro  $k$ , plus proche entier de  $j$  tel que :  $\tau_j \pmod{\Delta t} \neq \tau_k \pmod{\Delta t}$ .

Le Tableau ci-dessous donne un exemple de la répartition des canaux si l'utilisateur choisi  $M=25$ ,  $\tau_1=5\mu s$  et  $\tau_M=5000\mu s$  (on a alors  $R \approx 1.33$ ). Au final, le corrélateur n'utilisera que 23 canaux. On fera attention au fait que plus  $M$  est grand, plus sa différence avec le nombre de canaux réellement utilisé est importante.

Numéro canal demandé	$\tau_j$	$\tau_j \text{ (mod } \Delta t)$	Numéro canal attribué
1	5,00	5	1
2	6,67	5	
3	8,89	10	2
4	11,86	10	
5	15,81	15	3
6	21,08	20	4
7	28,12	30	5
8	37,49	35	6
9	50,00	50	7
10	66,68	65	8
11	88,91	90	9
12	118,57	120	10
13	158,11	160	11
14	210,85	210	12
15	281,17	280	13
16	374,95	375	14
17	500,00	500	15
18	666,76	665	16
19	889,14	890	17
20	1185,69	1185	18
21	1581,14	1580	19
22	2108,48	2110	20
23	2811,71	2810	21
24	3749,47	3750	22
25	5000,00	5000	23

Tableau 10. Exemple de répartition des canaux par le corrélateur BI9000AT. Ici l'utilisateur a choisi un nombre maximum de canaux égal à 25, le premier temps de décalage à  $5\mu\text{s}$  et le dernier à  $5000\mu\text{s}$ . Le ratio R calculé vaut environ 1,33. Le corrélateur n'utilisera en réalité que 23 canaux, les canaux 2 et 4 étant respectivement redondants avec les canaux 1 et 3. (Suisa, 2006)

Dans notre étude, le corrélateur sera toujours utilisé en mode ratio, qui est le plus approprié aux matériaux qui seront testés.

D'autres paramètres doivent être réglés avant de lancer le test. En effet il faut configurer le logiciel en fonction du matériau à étudier, vérifier la longueur d'onde, vérifier que la fonction calculée est enregistrée sous sa forme corrélée. L'absence d'effet de l'angle de diffusion sur le spectre final a été vérifiée.

### 3. Le temps d'acquisition

Pour être certain d'enregistrer la totalité de la fonction d'autocorrélation, il faut enregistrer un premier spectre et observer le temps de la fin de décorrélation. Ce temps est alors multiplié par 100 pour avoir la durée de test optimale pour un matériau donné.

En effet, un signal continu n'existe pas, pour décrire le continu on a besoin d'une infinité de valeurs. Tout signal est alors échantillonné, c'est-à-dire décrit sur un nombre discret de valeurs.

Pour avoir une bonne observation, il ne faut pas dégrader la résolution du signal par ce phénomène d'échantillonnage, c'est ce qu'exprime la condition d'échantillonnage de Shannon. Ce théorème nous dit qu'il faut en théorie prendre au moins deux points par période du signal. En pratique, pour un bon rendu il faut en prendre au moins 10.

**Annexe D : Tableau récapitulatif des différentes études et essais réalisés**

Milieu étudié	Technique utilisée	L'étude réalisée	Nombre de tests	Résultats
Lait	DWS	L'épaisseur	8	$e_{\min} = 1.2\text{cm}$
		L'étalonnage	20	Bon accord avec la référence
		Isolation vibratoire	15	Table anti-vibrations nécessaire et efficace
		Polariseur	16	L'usage du polariseur à 0° est nécessaire
		La répétabilité	10	Résultats répétables ( $C_v < 2\%$ )
		La reproductibilité	20 (10/jour pdt 2 jours)	Résultats reproductibles ( $C_v < 3.3\%$ )
	Rhéologie (Piézo)	La viscosité	10	$\eta = 2.10^{-3} \text{ Pa.s}$
Suspension de polystyrène	DWS	La répétabilité	15	Résultats répétables ( $C_v < 1\%$ )
		La reproductibilité	20 (5/jours pdt 4 jours)	Résultats reproductibles ( $C_v < 1\%$ )
		La dilution	50	Les nanosphères forment des agrégats
		L'ajout de sel	15	Le sel évite l'agrégation des sphères de polystyrène



ANNEXE : RECAPITULATIF DES ETUDES FAITES

		La viscosité	25	$\eta \approx 10^3$ Pa.s
	Rhéologie (Piézo)	La viscosité	6	$\eta = 10^3$ Pa.s
Mousse à raser	DWS	L'épaisseur	50 (10/épaisseur)	L'épaisseur n'a aucun effet sur $g_2(t)$
		La répétabilité	10	Résultats répétables ( $C_v < 5\%$ )
		La reproductibilité	20 (10 / jour)	Résultats reproductibles ( $C_v < 5\%$ )
	Rhéologie (Bohlin)	La viscosité	15	$\eta = 10^2$ Pa.s
	Rhéologie (piézo)	Le glissement sans colle	4	$\eta = 10^2$ Pa.s
		Le glissement avec colle	15	$\eta = 10^2$ Pa.s
La répétabilité		3	Résultats répétables	
Cortex rénal porcin	DWS	Epaisseur	90	L'épaisseur du cortex n'a aucun effet sur le résultat
		Répétabilité	78	Résultats répétables ( $C_v < 4\%$ )
		Reproductibilité	60	Résultats reproductibles ( $C_v < 7\%$ )
		Variabilité	89	Faible variabilité ( $C_v < 10\%$ )
		Déshydratation	15	Décalage du spectre vers les temps lents

ANNEXE : RECAPITULATIF DES ETUDES FAITES

<b>Parenchyme hépatique</b>		Dégénérescence	41	Décalage du spectre vers temps courts
	Rhéologie (Bohlin)	Calcul de la viscosité	42	Viscosité différente de celle calculée à partir de la DWS
	DWS	Epaisseur optimale	15	L'épaisseur est sans effet sur le spectre
		Répétabilité	52	Résultats répétables (Cv < 7%)
		Reproductibilité	21	Résultats reproductibles (Cv < 9%)
		Variabilité	64	Faible variabilité (Cv < 10%)
	Déshydratation	4	Décalage du spectre vers les temps lents	
Rhéologie (Bohlin)	Calcul de la viscosité	18	Viscosité différente de celle calculée à partir de la DWS	
<b>Cerveau de porc</b>	DWS	Epaisseur optimale	15	Eviter les faibles épaisseurs (e>1mm)
		Répétabilité	42	Résultats répétables (Cv < 10%)
		Reproductibilité	40	Résultats reproductibles (Cv < 11%)
		Variabilité	42	Faible variabilité (Cv < 12%)
	Rhéologie (Bohlin)	Calcul de la viscosité	55	Viscosité différente de celle calculée à partir de la DWS

## Annexe E : Calcul de la viscosité à partir des spectres de DWS.

### 1. Dans le cas de milieux dilués

Dans ce cas, le temps de relaxation  $\tau$  est directement lié à la viscosité par le coefficient de diffusion donné par la relation de Stokes-Einstein:

$$\tau = \frac{1}{DK_0^2} \quad \text{Et} \quad D = \frac{k_B T}{6\pi\eta a}$$

Avec  $k_0 = \frac{2\pi}{\lambda}$

On peut donc conclure directement la viscosité du spectre enregistré.

$$\eta = \frac{2\pi}{3} \cdot \frac{k_B T}{a\lambda^2} \cdot \tau$$

Où déduire la taille des éléments diffuseurs

$$a = \frac{2\pi}{3} \cdot \frac{k_B T}{\eta\lambda^2} \cdot \tau$$

### 2. Dans le cas de milieux plus concentrés

On ne peut pas utiliser la relation de Stokes-Einstein et relier le coefficient de diffusion au temps de relaxation, dans ce cas il faut calculer le déplacement quadratique moyen des diffuseurs à partir de la fonction d'autocorrélation, ce dernier permettra de remonter au module de cisaillement complexe, grâce auquel on peut déduire la viscosité, comme le montre le raisonnement suivant :

La forme de  $g_1(t)$  pour une configuration de rétrodiffusion est

$$g_1(t) = \frac{\frac{l/l^*+4/3}{z_0/l^*+2/3} \left\{ \sinh \left[ \frac{z_0}{l^*} \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle} \right] + \frac{2}{3} \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle} \cosh \left[ \frac{z_0}{l^*} \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle} \right] \right\}}{\left( 1 + \frac{8t}{3\tau} \right) \sinh \left[ \frac{l}{l^*} \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle} \right] + \frac{4}{3} \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle} \cosh \left[ \frac{l}{l^*} \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle} \right]}$$

(Cucheval, 2009)

Où

- $l^*$  : le libre parcours moyen de transport

- $Z_0$  : la longueur de pénétration
- $L$  : l'épaisseur de l'échantillon

Cette équation se simplifie pour les épaisseurs très supérieures au  $l^*$

$$g_1(t) = \frac{e^{-\left(\frac{z_0}{l^*}\right) \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle}}}{1 + \frac{2}{3} \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle}}$$

Avec  $z_0 \sim l^*$

Cette équation devient :

$$g_1(t) = e^{-\gamma \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle}}$$

Avec  $\gamma \approx 2$

Sachant que

$$g_2(t) = 1 + g_1(t)^2$$

On a donc

$$g_2(t) = 1 + \left( e^{-\gamma \sqrt{k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle}} \right)^2$$

On peut donc remonter au déplacement quadratique à partir du spectre enregistré.

Ce dernier est directement lié au module de cisaillement complexe.

$$G^*(\omega) = \frac{k_B T}{\pi a i \omega \zeta[\langle \Delta r^2(\tau) \rangle]}$$

$$G'(\omega) = G(\omega) \cos\left[\frac{\pi \alpha(\omega)}{2}\right]$$

$$G''(\omega) = G(\omega) \sin\left[\frac{\pi \alpha(\omega)}{2}\right]$$

$$G(\omega) = \frac{k_B T}{\pi a \langle \Delta r^2 \left( \frac{1}{\omega} \right) \rangle \Gamma[1 + \alpha(\omega)]}$$

$$\Gamma(1 + \alpha) \approx 0.457(1 + \alpha)^2 - 1.36(1 + \alpha) + 1.90$$

$$\alpha(\omega) = \left| \frac{\partial \ln \langle \Delta r^2(t) \rangle}{\partial \ln t} \right|_{\tau = \frac{1}{\omega}}$$

Les modules visqueux et élastique s'écrivent :

$$G' = \frac{k_B T}{\pi a \langle \Delta r^2 \rangle \cdot [0,457 \left(1 + \frac{\partial \ln \langle \Delta r^2(t) \rangle}{\partial \ln t}\right)^2 - 1,36 \left(1 + \frac{\partial \ln \langle \Delta r^2(t) \rangle}{\partial \ln t}\right) + 1,90]} \cos\left[\frac{\pi \left|\frac{\partial \ln \langle \Delta r^2(t) \rangle}{\partial \ln t}\right|}{2}\right]$$

$$G'' = \frac{k_B T}{\pi a \langle \Delta r^2 \rangle \cdot [0,457 \left(1 + \frac{\partial \ln \langle \Delta r^2(t) \rangle}{\partial \ln t}\right)^2 - 1,36 \left(1 + \frac{\partial \ln \langle \Delta r^2(t) \rangle}{\partial \ln t}\right) + 1,90]} \sin\left[\frac{\pi \left|\frac{\partial \ln \langle \Delta r^2(t) \rangle}{\partial \ln t}\right|}{2}\right]$$

A partir de ces modules on peut calculer la viscosité.

Pour valider cette démarche, des références bibliographiques ont été utilisées.

La viscosité complexe  $\eta^*$  de l'échantillon ainsi que sa partie réelle et imaginaire sont déduites à partir du module de cisaillement complexe  $G^*$  :

$$\eta^* = \frac{G^*}{\omega} = \frac{G''}{\omega} + i \frac{G'}{\omega} = \eta' + i \eta''$$

La viscosité mesurée par rhéométrie a été utilisée pour remonter à la taille des particules et a donné des valeurs approuvées par la littérature.

Annexe F : Changements du socle inférieur du rhéomètre

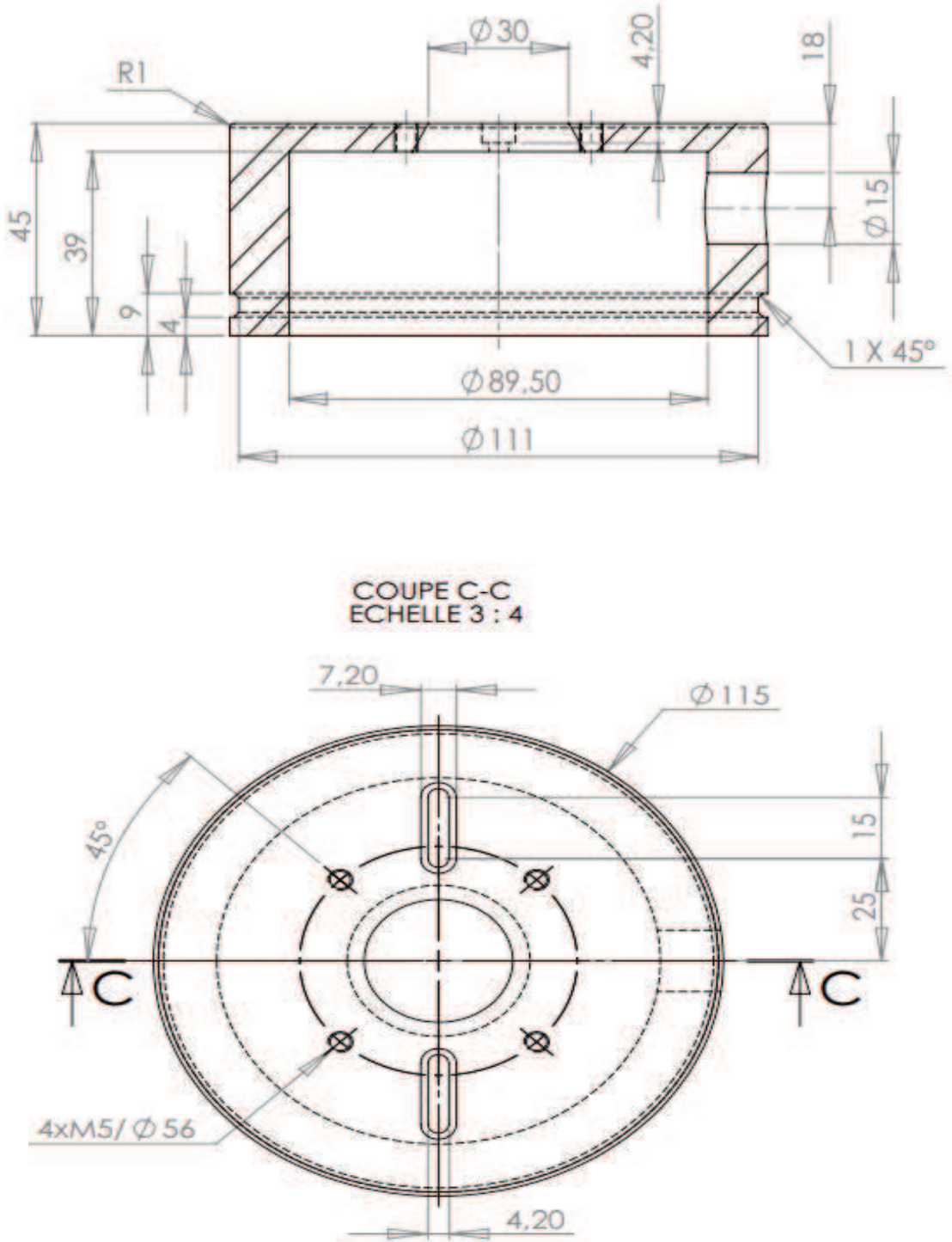


Figure 97. Les modifications apportées au socle inférieur du rhéomètre

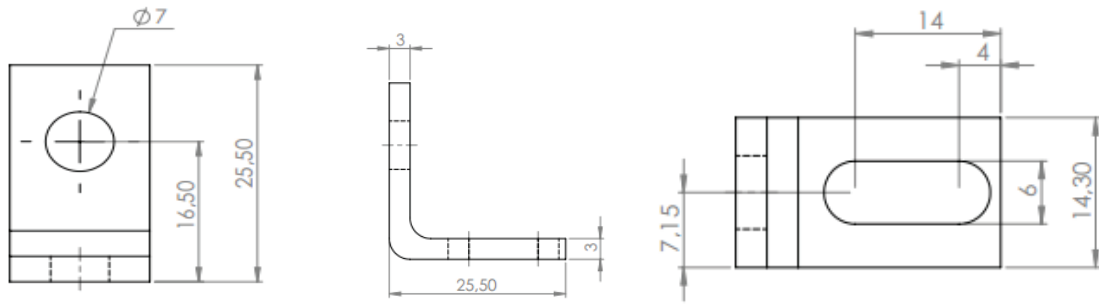


Figure 98. Mise en place de l'équerre (support des fibres optiques)

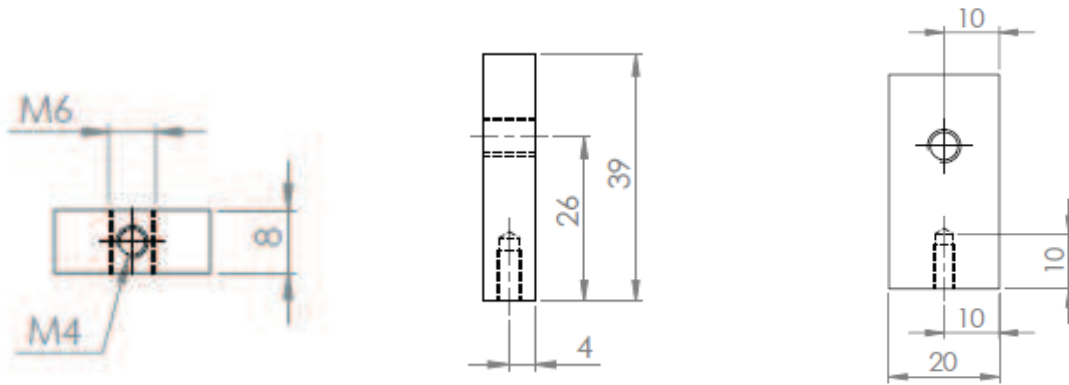


Figure 99. Support droit de l'équerre pour fixation de la fibre émettrice

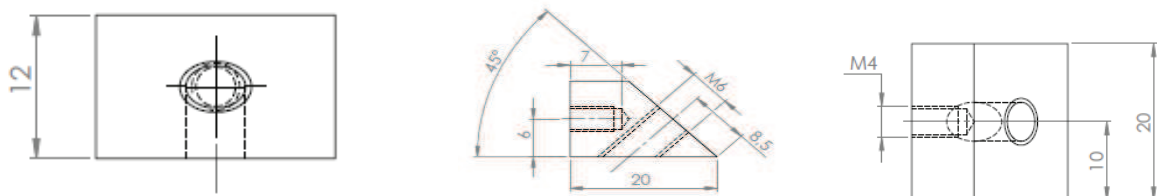


Figure 100. Support incliné de l'équerre où sera fixée la fibre réceptrice

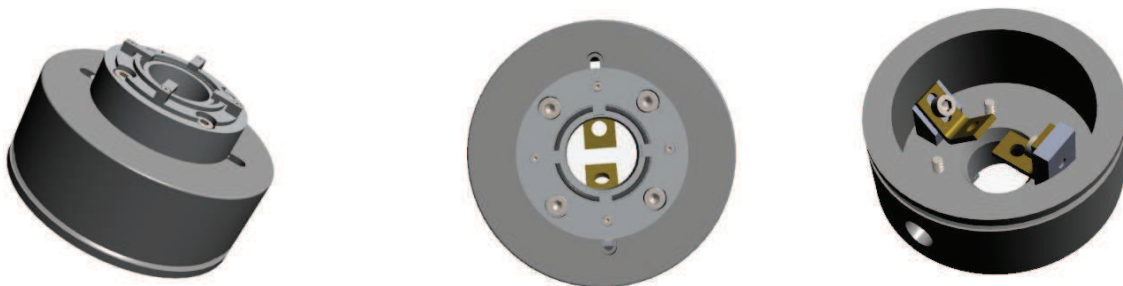


Figure 101. Résultat final des changements du socle inférieur du rhéomètre avec les supports des fibres optiques

## Bibliographie

**Abadjian** <http://www.eopathologies.com/> [En ligne]. - 2002.

**Advani L. Z. Shuck and S. H.** Rheological Response of Human Brain Tissue in Shear [Revue] // Journal of Basic Engineering . - 1972. - pp. 905-911.

**Alexander B.Holland et M.Corredig et** gelation of casein micelles in  $\beta$ -casein reduced milk prepared using membrane filtration [Revue] // Food Research International. - 2011. - pp. 667-671.

**Alexander Douglas G. Dagleish** Application of transmission diffusing wave spectroscopy to the study of gelation of milk by acidification and rennet [Revue] // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. - 2004. - pp. 83-90.

**Alexander L.F. Rojas-Ochoa, M. Leser, P. Schurtenberger** Structure, Dynamics, and Optical Properties of Concentrated Milk Suspensions: An Analogy to Hard-Sphere Liquids [Revue] // Journal of Colloid and Interface Science. - 2002. - pp. 35-46.

**Arbogast Bittenbender, Meaney, Thibault** Biomedical characterization of the constitutive relationship for the brainstem [Revue] // Proceedings of the 39Th stapp car crash conference. - 1995. - pp. 153-159.

**Ashkin J. M. Dziedzic & T. Yamane** Optical trapping and manipulation of single cells using infrared laser beams [Revue] // Nature. - 1987. - pp. 769-771.

Atlas d'Histologie Animale et Humaine [En ligne]. - Faculté Universitaire Notre Dame de la paix-Namur. - <http://webapps.fundp.ac.be/umdb/histohuma/index.htm>.

**Atlas d'Histologie Humaine et animale** <http://webapps.fundp.ac.be/umdb/histohuma/> [En ligne]. - 2007.

**Backman M. B. Wallace, L. T. Perelman, J. T. Arendt, R. Gurjar, M. G. Müller, Q. Zhang, G. Zonios, E. Kline, T. McGillica, S. Shapshay, T. Valdez, K. Badizadegan, J. M. Crawford, M. Fitzmaurice, S. Kabani, H. S. Levin, M. Seiler, R.** Detection of preinvasive cancer cells [Revue] // Nature. - 2000. - pp. 35-36.

**Basset Elisabet Brusseau** Elastographie ultrasonore et par résonance magnétique - Etude exploratoire sur l'association de deux techniques diagnostiques. - INSA Lyon : <http://www.creatis.insa-lyon.fr/site/sites/default/files/Sujet-Creatis-Basset-Brusseau.pdf>, 2009.

**Ben Holland Milena Corredig, Marcela Alexander** Gelation of casein micelles in  $\beta$ -casein reduced milk prepared using membrane filtration [Revue] // Food Research International. - 2011. - pp. 667-671.



**Berne** Dynamic light scattering with applications to chemistry biology and physics [Ouvrage]. - 2000.

**BI9000AT** Manuel BI9000AT. - UK university : Brookhaven instruments Corporation, 1999.

**Bikerman** Foams [Revue] // Springer-Verlag. - 1973. - p. New York.

**Bland Douglas G. Altman** Statical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement [Revue] // The Lancet. - 1986. - pp. 307–310.

**Bordier** Diffusion de la lumière par des tissus biologiques : Etude expérimentale et modélisation par l'équation de transfert radiatif vectorielle. [Rapport]. - Paris : UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE (PARIS 6), 2006.

**Brands Bovendeerd, Peters, Wismans, Paas, van Bree** Comparison of the dynamic behavior of brain tissue and two model materials [Conférence] // Society of Automotive Engineers : Stapp Car Crash Conference Proceedings. - 1999. - pp. 313-320.

**Brown C** Dynamic light scattering : the method and some applications [Revue]. - 1993.

**Brown Jeffrey D., Hannaford, Jacob Rosen & Yoon Sang Kim & Lily Chang M.D & Mika N. Sinanan M.D & Blake** In-Vivo and In-Situ Compressive Properties of Porcine Abdominal Soft Tissues [Revue]. - 2003.

**Brown** Light Scattering : principles and development [Revue]. - 1996.

**Carter T.G. Frank, P.J. Davies, D. McLean and A. Cuschieri** Measurements and modelling of the compliance of human and porcine organs [Revue] // Medical Image Analysis. - 2001. - pp. 231–236.

**Chatzi C.J. Boutris, C. Kiparissid** On-Line Monitoring of Drop Size Distributions in Agitated Vessels. 1. Effects of Temperature and Impeller Speed. [Revue] // Industrial & Engineering Chemistry Research. - 1991. - pp. 536-543.

**Cheftel** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments, Technique et Documentation - Lavoisier, Paris, 1977. [Revue]. - 1977.

**Choplin Philippe Marchal, Christophe Baravian, Dominique Langevin** Techniques de l'ingénieur : Rhéologie et produits formulés complexes [Ouvrage]. - 2010.

**Chu** Laser Light Scattering [Ouvrage]. - 1991.

**Cipelletti** Diffusing Wave Spectroscopy Optical Measurement of particles mobility [Article] // Formulation Smart scientific analysis. - 2009.

**Cohen-Addad Hussein Hoballah, Reinhard Höhler** Viscoelastic response of a coarsening foam [Revue] // PHYSICAL REVIEW E. - 1998. - pp. 6897-6901.

**Cohen-Addad Reinhard Höhler** Bubble Dynamics Relaxation in Aqueous Foam Probed by Multispeckle Diffusing-Wave Spectroscopy [Revue] // Phys. Rev. Lett. - 2001. - pp. 4700–4703.

**Corredig Milena , Marcela Alexander** On line diffusing wave spectroscopy during rheological measurements: A new instrumental setup to measure colloidal instability and structure formation in situ [Revue] // Food Research international. - 2013. - 1 : Vol. 54. - pp. 367-372.

**Cucheval Vincent RR, Hemar Y, Otter D, Williams MA.** Multiple particle tracking investigations of acid milk gels using tracer particles with designed surface chemistries and comparison with diffusing wave spectroscopy studies. [Revue] // American Chemical Society. - 2009. - pp. 11827-34.

**Da Cruz F Chevoir, D Bonn, P Coussot** Viscosity bifurcation in granular materials, foams, and emulsions [Revue] // Physical Review. - 2002.

**Dalgleish Douglas G. , Paul A. Spagnuolo, H. Douglas Goff** A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanningelectron microscopy [Revue] // International Dairy Journal. - 2004. - pp. 1025–1031.

**Dalgleish Marcela Alexander et Douglas G.** Application of transmission diffusing wave spectroscopy to the study of gelation of milk by acidification and rennet [Revue] // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. - 2004. - pp. 83–90.

**Dalgleish S. Sandra et Marcela Alexander et Douglas G.** The rennet coagulation mechanism of skim milk as observed by transmission diffusing wave spectroscopy [Revue] // Journal of Colloid and Interface Science. - 2007. - pp. 364-373.

**Dam Carsten B. Pedersen, Torben Dalgaard, Paul Erik Fabricius, Prakasa Aruna, and Stefan Andersson-Engels** Fiber-optic probe for noninvasive real-time determination of tissue optical properties at multiple wavelengths [Revue] // Applied Optics, Vol. 40, Issue 7. - 2001. - pp. 1155-1164.

**De With Greulich KO** Wavelength dependence of laser-induced DNA damage in lymphocytes observed by single-cell gel electrophoresis [Revue] // Journal of photochemistry and photobiology. - 1995. - Vol. B.30. - pp. 71-76.

**Denef S.Haumont** Université catholique de Louvain - Faculté de Médecine [En ligne]. - 1996. - <http://www.isto.ucl.ac.be/safe/dig8.htm>.

**Ding Freddy Nguyen, Stephen A. Boppart, and Gabriel Popescu** Optical properties of tissues quantified by Fourier-transform light scattering [Revue] // Optics Letters. - 2009. - pp. 1372-1374.

**Dunn Smithpeter Colin, Drezek Rebekah, Collier Tom, Richards-Kortum Rebecca** Near Real Time Confocal Microscopy of Cultured Amelanotic Cells: Sources of Signal, Contrast Agents and Limits of Contrast [Revue] // J. Biomed. Opt.. - 1998. - pp. 429-436.

**Durand P.Aymard et T.Nicolai et** Static and dynamic scattering of  $\beta$ -lactoglobulin aggregates formed after heat-induced denaturation at ph 2 [Revue] // Macromolecules. - 1999. - pp. 2542-2552.

**Durian DA Weitz, DJ Pine** Multiple light-scattering probes of foam structure and dynamics [Revue] // Science. - 1991. - pp. 686-688.

**Ernst Olivier** Imagerie du foie, des voies biliaires et du pancréas [Ouvrage]. - paris : Masson, 2005. - Vol. 2-294-01431-6.

**Farshad Barbezat, Flüeler, Schmidlin, Graber, Niederer** Material characterization of the pig kidney in relation with the biomechanical analysis of renal trauma [Revue] // Journal of Biomechanics. - 1999. - pp. 417-425.

**Foegeding P.J. Luck, J.P. Davis** Factors determining the physical properties of protein foams [Revue] // Food Hydrocolloids. - 2006. - pp. 284-292.

**Formulation** www.formulation.com [En ligne]. - 2009. - [http://www.formulation.com/microrheologie\\_viscoelastique.html](http://www.formulation.com/microrheologie_viscoelastique.html).

**Fox J.A. Lucey** Importance of Calcium and Phosphate in Cheese Manufacture: A Review [Revue] // Journal of Dairy Science. - 1993. - 6 : Vol. 76. - pp. 1714-1724.

**Fung** Biomechanics: Mechanical Properties of Living Tissues, [Revue] // Biomechanics. - 1993.

**Fung Pin Tong & Yuang-Cheng** The stress-strain relationship for the skin [Revue] // Journal of Biomechanics. - 1976. - pp. 649-657.

**Galford McElhaney** A viscoelastic study of scalp, brain, and dura [Revue] // Journal of Biomechanics. - 1970. - pp. 211-221.

**Glüer Blake, Lu, Blunt, Jergas, Genant** Accurate Assessment of Precision Errors: How to Measure the Reproducibility of Bone Densitometry Techniques [Revue] // Osteoporosis International . - 1995. - pp. 262-270.

**Gopal D.J Durian** Shear-Induced "Melting" of an Aqueous Foam [Revue] // Journal of Colloid and Interface Science. - 1999. - pp. 169-178.

**Gopal DJ Durian** Relaxing in foam [Revue] // Physical review letters. - 2003.

**Greulich De With et** Wavelength dependence of laser-induced DNA damage in lymphocytes observed by single-cell gel electrophoresis [Revue] // Journal of photochemistry and photobiology B. 30. - 1995. - pp. 71-76.

**Hahn Christopher M. Counter, Ante S. Lundberg, Roderick L. Beijersbergen, Mary W. Brooks & Robert A. Weinberg** Creation of human tumour cells with defined genetic elements [Revue] // Letters to Nature. - 1999. - pp. 464-468.

**Hakim** Présentation d'un travail histologique : Foie [Rapport]. - [s.l.] : <http://www.authorstream.com/Presentation/aSGuest17062-177407-histologie-du-foie-tube-digestif-education-ppt-powerpoint/>, 2009.

**He Patricia G. Arscott, Victor A. Bloomfield** Condensation of DNA by multivalent cations: Experimental studies of condensation kinetics [Revue] // BioPolymers. - 2000. - pp. 329-341.

**Hebraud** Yielding and rearrangements in disordered emulsions. a unique method to study micro-rearrangements and relaxations under shear deformation in a viscoelastic solid such as a colloidal glass or an emulsion. [Revue] // Phys Rev Lett. - 1997.

**Helfenstein** Détermination des propriétés mécaniques des tissus biologiques mous par méthode optique [Rapport]. - Lyon : INRETS, 2010.

**Hemar Pinder, Hunter, Singh, Hebraud, Horne** Monitoring of flocculation and creaming of sodium caseinate stabilized emulsions using diffusing wave spectroscopy [Revue] // Colloid and interface Science. - 2003. - pp. 264, 502-508.

**Horne Y.Hemar et H.Singh et D.S** determination of early stages of rennet-induced aggregation of casein micelles by diffusing wave spectroscopy and rheological measurements [Revue] // Current Applied Physics. - 2004. - pp. 362-365.

<http://biotechnologie.ac-montpellier.fr/> Dissection du rein de porc [Représentation]. - 2005.

<http://tpegastronomie-moleculaire.e-monsite.com> [En ligne]. - /.

<http://www.edu.upmc.fr> UPMC [En ligne].

**Hulst** Light scattering by small particles [Ouvrage]. - [s.l.] : dover publications, 1957.

**Janmey S Hvidt, J Käs, D Lerche, A Maggs, E Sackmann, M Schliwa and T P Stossel** The mechanical properties of actin gels. Elastic modulus and filament motions. [Revue] // the journal of biological chemistry. - 1994.

**Kauer V.Vuskovic, J.Dual** Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering [Revue]. - 2001. - pp. 291-305.

**KHALIL Abir** Etude expérimentale d'un procédé de cristallisation en émulsion huile dans eau : Application au distéarate d'éthylène glycol [Rapport]. - Lyon : Laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés - UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1, 2011.

**Kim Bummo Ahn & Jung** Measurement and characterization of soft tissue behavior with surface deformation and force response under large deformations [Revue] // Medical Image Analysis. - 2010. - pp. 138-148.

**Kiss Varghese T, Hall TJ** Viscoelastic characterization of in vitro canine tissue. [Revue] // Phys Med Biol. - 2004. - pp. 4207-4218.

**Kruif de** Supra-aggregates of casein micelles as a prelude to coagulation [Revue] // Journal of Dairy Science. - 1998. - Vol. 81. - pp. 3019-3028.

**Labiausse Vincent** Non linear rheology of aqueous foams [Rapport]. - Marne-la-Vallée : Université de Marne-la-Vallée, 2004.

**Liu Lynne Bilston** On the viscoelastic character of liver tissue: experiments and modelling of the linear behaviour [Revue] // BioRheology. - 2000. - pp. 191-201.

- Liu Phan-Thien** Linear viscoelastic properties of bovine brain tissue in shear [Revue] // *Biorheology*. - 1997. - pp. 377-385.
- LS-Instruments-AG** Characterization of the gelling process in acidifying milk by Diffusing Wave Spectroscopy (DWS) [Article] // *LS Instruments AG / éd. Merkle Institut Adolphe*. - Fribourg : Université de Fribourg, Février 2011.
- Manduca A., Oliphant, T.E., Dresner, M.A., Mahowald, J.L., Kruse, S.A** Magnetic Resonance Elastography: Non-invasive mapping of Tissue Elasticity. [Revue] // *Medical Image Analysis*. - 1997. - pp. 237-254.
- Maret Georg** Diffusing-wave spectroscopy [Revue] // *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. - 1997. - pp. 251-257.
- Margulies Michael T. Prange & Susan S.** Regional, Directional, and Age-Dependent Properties of the Brain Undergoing Large Deformation [Revue] // *Journal of Biomechanical Engineering*. - 2002. - pp. 244-252.
- Mason Hu Gang, and D. A. Weitz** Diffusing-wave-spectroscopy measurements of viscoelasticity of complex fluids [Revue] // *J. Opt. Soc.* - 1997. - pp. 139-149.
- Mason Weitz** Optical measurements of frequency dependent linear viscoelastic moduli of simple fluids [Revue] // *Physical Review Letters*. - 1995. - pp. 1250-1253.
- Mazza Patrick Grau, Marc Hollenstein, Michael Bajka** Constitutive Modeling of Human Liver Based on in Vivo Measurements [Revue] // *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention*. - 2008. - pp. 726-733.
- Meglinsky Alexander N. Korolevich et Igor V.** Experimental study of the potential use of diffusing wave spectroscopy to investigate the structural characteristics of blood under multiple scattering [Revue] // *Bioelectrochemistry*. - 2000. - pp. 223-227.
- Mendis Stalnaker RL, Advani SH** A constitutive relationship for large deformation finite element modeling of brain tissue. [Revue] // *Journal of Biomechanical Engineering*. - 1995. - pp. 279-285.
- Miller** Constitutive modelling of abdominal organs [Revue] // *Journal of biomechanics*. - 2000. - pp. 367-373.
- Miller Kiyoyuki Chinzei** Constitutive modelling of brain tissue: Experiment and theory [Revue] // *Journal of Biomechanics*. - 1997. - pp. 1115-1121.
- Monti** Microrhéologie de suspension colloïdales non érgodiques : Relaxations locales, dynamiques lentes et vieillissement [Rapport]. - Paris : Rapport de thèse - UMPC, 2010.
- Mooney-Rivlin** Based on Mooney [Section]. - 1940.

**Mourant Andreas H. Hielscher Ph.D, Angelia A. Eick B.S., Tamara M. Johnson A.D., James P. Freyer** Evidence of intrinsic differences in the light scattering properties of tumorigenic and nontumorigenic cells [Revue] // Cancer Cytopathology. - 1998. - pp. 366-374.

**Mourant James P. Freyer, Andreas H. Hielscher, Angelia A. Eick, Dan Shen, and Tamara M. Johnson** Mechanisms of Light Scattering from Biological Cells Relevant to Noninvasive Optical-Tissue Diagnostics [Revue] // Applied Optics. - 1998. - pp. 3586-3593.

**Nasseri Lynne E. Bilston, Nhan Phan-Thien** Viscoelastic properties of pig kidney in shear, experimental results and modelling [Revue] // Rheologica Acta. - 2002. - pp. 180-192.

**Neuman Chadd EH, Liou GF, Bergman K et Block SM** Characterization of photodamage to escherichia coli in optical traps. [Revue] // Biophysical Journal. 77. - 1999. - pp. 2856-2863.

**Nicolai Philippe Croguennoc and Taco** Self-diffusion of Native Proteins and Dextran in Heat-set Globular Protein Gels [Revue] // J. Phys. Chem. - 2001. - pp. 5782-5788.

**Nicolai Wyn Brown , Robert M. Johnsen , Petr Stepanek** Dynamic behavior of .THETA. solutions of polystyrene investigated by dynamic light scattering [Revue] // Macromolecules. - 1990. - pp. 1165-1174.

**Nicolle** Identification et modelisation du comportement viscoélastique linéaire et non linéaire du tissu cerebral en situation d'impacts [Rapport]. - Université Strasbourg 1 : Institut de Mécanique des Fluides et des Solides, 2003.

**Nicolle L.Noguer, JF.Palierne** Shear mechanical properties of the porcine pancreas: Experiment and analytical modelling [Revue] // journal of the mechanical behavior of biomedical materials. - 2013. - pp. 90-97.

**Nicolle Lounis, Willinger, Palierne** Shear linear behavior of brain tissue over a large frequency range [Revue] // BioRheology. - 2005. - pp. 209-223.

**Nicolle Lounis, Willinger.** Shear Properties of Brain Tissue over a Frequency Range Relevant for Automotive Impact Situations: New Experimental Results. [Revue] // Stapp Car Crash Journal. - 2004. - pp. 239-258.

**Nicolle Palierne** Dehydration effect on the mechanical behaviour of biological soft tissues: Observations on kidney tissues [Revue]. - Lyon : Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2010. - 630-635 : Vol. 3.

**Nicolle Palierne** On the efficiency of attachment methods of biological soft tissues in shear experiments. [Revue] // J Mech Behav Biomed Mater. - 2012. - pp. 158-162.

**Nicolle Vezin, Palierne** A strain-hardening bi-power law for the nonlinear behaviour of biological soft tissues [Revue] // Journal of Biomechanics. - 2010. - pp. 927-932.

**Niederquell Völker AC, Kuentz M.** Introduction of diffusing wave spectroscopy to study self-emulsifying drug delivery systems with respect to liquid filling of capsules. [Revue] // International Journal of Pharmaceutics. - 2012. - pp. 144-152.



**Ninck Markus Untenberger, Thomas Gisler** Diffusing-wave spectroscopy with dynamic contrast variation: disentangling the effects of blood flow and extravascular tissue shearing on signals from deep tissue [Revue]. - Germany : BIOMEDICAL OPTICS EXPRESS, 2010. - 5 : Vol. 1.

**Nisato B.Ermi, J.Douglas, K.Alamgir** Excitation of Surface Deformation Modes of a Phase-Separating Polymer Blend on a Patterned Substrate [Revue] // *Macromolecules*. - 1999. - pp. 2356-2364.

**Nisato P.Hébraud, JP.Munch, SJ.Candau** Diffusing-wave-spectroscopy investigation of latex particle motion in polymer gels [Revue] // *Phys. Rev.* - 2000. - pp. 2879-2887.

**Pecora Bern BJ et** *Dynamic Light Scattering* [Ouvrage]. - New York : Wiley & Sons, 1976.

**Pecora Bruce J Berne & Robert** *Dynamic light scattering : with applications to chemistry, biology and physics* [Ouvrage]. - 2000.

**Pellegrini Rosenbaum, Dollinger, Byrd, Tempero & Mulvihill** *How Cancer Is Diagnosed, Treated and Managed Day to Day*. [Article] // *Everyone's Guide to Cancer Therapy*. - Kansas City : Andrews McMeel Publishing, 2002. - 4th Édition. - 91-95 : Vol. 10.

**Phan-Thien Simin Nasser, Lynne E. Bilston** Oscillatory squeezing flow of a biological material [Revue] // *Rheologica Acta*. - 2000. - pp. 409-417.

**Pike** *Light Scattering and photon correlation spectroscopy* [Ouvrage]. - 1997.

**Pinder A.J. Swanson, P. Hebraud, Y. Hemar** Micro-rheological investigation of dextran solutions using diffusing wave spectroscopy [Revue] // *Food Hydrocolloids*. - 2006. - pp. 240-244.

**Pine** [Revue] // *Physics Abs*. - 1990. - pp. 2101-2127.

**Pine D. A. Weitz, P. M. Chaikin, and E. Herbolzheimer** Diffusing wave spectroscopy [Revue] // *Phys. Rev. Lett.* - 1988. - pp. 1134-1137.

**Prange Meaney DF, Margulies SS** Defining brain mechanical properties: effects of region, direction, and species. [Revue] // *Stapp car Crash Journal*. - 2000. - pp. 205-213.

**Raudsepp Paul Callaghan, and Yacine Hemar** A study of the nonlinear rheology of complex fluids using diffusing wave [Revue] // *Journal of Rheology*. - 2008. - pp. 1113-1129.

**Richards-Kortum A.Dunn et** Three-dimensional computation of light scattering from cells [Revue] // *Selected Topics in Quantum Electronics, IEEE Journal of (Volume:2 , Issue: 4 )*. - 1996. - pp. 898 - 905.

**Robert Benjamin** *Etude des Propriétés Viscoélastiques des Tissus Mous par Elastographie IRM. Une Approche Multi-Echelle*. [Rapport]. - Paris : Université Paris VII, 2009.

**Rogez Heino Finkelmann, Philippe Martinoty** *Anisotropie Mécanique d'Elastomères Cristaux-Liquide* [Conférence]. - Grenoble : 18ème Congrès Français de Mécanique, 2007.

**Rohrbach Nestor Rigual, Erin Tracy, Andrew Kowalczewski, Kenneth L, Keymel, Michele T. Cooper, Weirong Mo, Heinz Baumann, Barbara W. Henderson, Ulas Sunar** Interlesion differences in the local photodynamic therapy response of oral cavity lesions assessed by diffuse optical spectroscopies [Revue] // Biomedical Optics. - 2012. - pp. 2142-2153.

**Schurtenberger Claus Urban and Peter** Application of a new light scattering technique to avoid the influence of dilution in light scattering experiments with milk [Revue] // Physical Chemistry Chemical Physics. - 1999. - pp. 3911-3915.

**Schurtenberger M.Alexander et L.F.Rojas-Ochoa et M.Leser et** Structure, dynamics and optical properties of concentrated milk suspensions : an analogy to hard-sphere liquids [Revue] // Journal of colloid and interface science. - 2002. - pp. 35-46.

**Sidney laser** Light Scattering [Ouvrage]. - 1981.

**Snedeker J.G., Barbezat, M., Niederer, P., Schmidlin, F.R., Farshad, M** Strain energy density as a rupture criterion for the kidney: impact tests on porcine organs, finite element simulation, and a baseline comparison between human and porcine tissues [Revue] // Journal of biomechanics. - 2005. - pp. 993-1001.

**Sparks Rebecca B. Dupaix** Constitutive Modeling of Rate-Dependent Stress–Strain Behavior of Human Liver in Blunt Impact Loading [Revue] // Annals of Biomedical Engineering. - 2008. - pp. 1883-1892.

**Stein Assfalg N, Finkelmann H, Martinoty P** Shear modulus of polydomain, monodomain and non-mesomorphic side chain elastomers: influence of the nematic order. [Revue] // Eur. Phys. J. E. - 2001. - Vol. 4. - pp. 255-262.

**Suissa** Dynamique interne du noyau d'une cellule vivante : étude par diffusion dynamique de la lumière [Rapport]. - Lyon : [s.n.], 2006.

**Suki A. L. Barabasi, and K. R. Lutchen** Lung tissue viscoelasticity: a mathematical framework and its molecular basis [Revue] // Journal of applied physiology. - 1994. - pp. 2749-2759.

**Sunar Ulas** Monitoring tumor therapeutic response with diffuse optical spectroscopies [Rapport]. - [s.l.] : Faculties of the University of Pennsylvania, 2006.

**Tamura Omori K, Miki K, Lee JB, Yang KH, King AI.** Mechanical characterization of porcine abdominal organs. [Revue] // Stapp Car Crash. - 2002. - pp. 55-69..

**Taroni Antonio Pifferi, Alessandro Torricelli, Daniela Comelli and Rinaldo Cubeddu** In vivo absorption and scattering spectroscopy of biological tissues [Revue] // Photochemical & Photobiological Sciences. - 2003. - pp. 124-129.

**Ternifi Gennisson, Tanter, Beillas** Effects of storage temperature on the mechanical properties of porcine kidney estimated using shear wave elastography [Revue]. - Lyon : journal of the mechanical behavior of biomedical materials, 2013. - 86-93 : Vol. 28.



**Tishler F.D. Carlson** A study of the dynamic properties of the human red blood cell membrane using quasi-elastic light-scattering spectroscopy [Revue] // Biophysical Journal. - 1993. - pp. 2586-2600.

**Tourbin** Caractérisation et comportement de suspensions concentrées de nanoparticules sous écoulement : Application aux processus d'agrégation et de rupture [Rapport]. - Toulouse : [s.n.], 2006.

**Viasnoff Lequeux F, Pine DJ** Multispeckle diffusing-wave spectroscopy: a tool to study slow relaxation and time dependent dynamics [Revue] // Review of scientific instruments. - 2002. - pp. 2336-2344.

**Welsch Ulrich** Précis D'histologie - Cytologie, Histologie, Anatomie Microscopique [Ouvrage]. - [s.l.] : Lavoisier, 2004. - Tec & Doc Lavoisier.

**www.nature.com** [En ligne]. - /.

**www.univ-angers.fr** Université d'Angers. - Angers : [s.n.].