



HAL
open science

Caractérisation ultrasonore intégrée pour traitement in-vitro du sang

Baptiste Pialot

► **To cite this version:**

Baptiste Pialot. Caractérisation ultrasonore intégrée pour traitement in-vitro du sang. Biophysique [physics.bio-ph]. Sorbonne Université, 2020. Français. NNT : 2020SORUS034 . tel-03153271

HAL Id: tel-03153271

<https://theses.hal.science/tel-03153271>

Submitted on 26 Feb 2021

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.



Sorbonne Université

Ecole doctorale Sciences mécaniques, acoustique, électronique et robotique
de Paris

*Laboratoire d'Imagerie Biomédicale / Equipe Physiologie et Pathologie de la
Microcirculation*

Caractérisation ultrasonore intégrée pour le traitement *in-vitro* du sang

Par Baptiste Pialot

Thèse de doctorat en Acoustique Physique

Dirigée par Olivier Couture

SOMMAIRE

Résumé	iv
Liste des figures	vi
Chapitre 1 : Introduction générale	
1.1 Le sang en bref	1
1.1.1 Références	4
1.2 L’acoustophorèse et les nouvelles techniques microfluidiques de fractionnement du sang	6
1.2.1 Références	11
1.3 Mesure d’un bas débit de sang	14
1.3.1 Nécessité pour l’acoustophorèse et le fractionnement microfluidique	14
1.3.2 Techniques existantes	16
1.3.3 Limitation pour les bas débits	18
1.3.4 Références	22
1.4 Mesure de l’hématocrite « en ligne »	26
1.4.1 Nécessité pour l’acoustophorèse et le fractionnement microfluidique	26
1.4.2 Méthodes conventionnelles et limitations	27
1.4.3 Les techniques pour mesurer l’hématocrite “en ligne”	29
1.4.4 Hématocrite et hémodialyse	34
1.4.5 Hématocrite et circulation extracorporelle cardio-pulmonaire	37
1.4.6 Références	40
1.5 Présentation de la méthode Doppler continu	50
1.5.1 Historique	50
1.5.2 Principes physiques et traitement du signal	54
1.5.3 Références	64
1.6 Caractérisation ultrasonore du sang	67
1.6.1 Un bref état de l’art	67
1.6.2 Rétrodiffusion des ultrasons par le sang	70
1.6.3 Références	77
1.7 Quelques aspects non-Newtoniens	83
1.7.1 Références	87
1.8 Résumé et objectifs de la thèse	89
Chapitre 2 : Un débitmètre de sang « optimal »	
2.1 Introduction	92
2.2 Modèle de Vilkomerson <i>et al.</i>	98
2.2.1 Présentation du modèle	98
2.2.2 Optimisation de la mesure du débit	103
2.3 Travail présenté	104
2.3.1 Méthodes	104
2.3.2 Résultats	109
2.3.3 Discussion	112
2.4 Conclusion du chapitre	117

2.5	Références	118
Chapitre 3 : Puissance spectrale Doppler et mesure de l'hématocrite		
3.1	Introduction	121
3.2	Modèle de Bascom et Cobbold	123
3.3	Relation entre l'hématocrite et la puissance spectrale totale	127
3.4	Travail présenté	129
3.4.1	Evaluation expérimentale du modèle packing factor	130
3.4.2	Mesure de l'hématocrite d'un échantillon de sang dilué	132
3.4.3	Discussion	137
3.5	Conclusion du chapitre	142
3.6	Références	142
Chapitre 4 : Effets non-Newtoniens pour la mesure d'un hématocrite physiologique		
4.1	Introduction	145
4.1.1	Loi de puissance et propriétés intrinsèques du sang	145
4.1.2	« Blunting » du profil des vitesses	153
4.1.3	Observations expérimentales passées	155
4.2	Travail présenté	162
4.2.1	Dispositif expérimental et traitement des signaux	163
4.2.2	Influence du débit	164
4.2.3	Fréquence Doppler maximum et hématocrite	166
4.2.4	Influence de la vitesse du son	171
4.2.5	Définition de la fréquence seuil	174
4.2.6	Mesure de l'hématocrite	182
4.2.7	Discussion	186
4.3	Conclusion du chapitre	193
4.4	Références	194
Chapitre 5 : Conclusions et perspectives		
5.1	Développements futurs	197
5.1.1	Débitmètre	197
5.1.2	Mesure de l'hématocrite par rétrodiffusion ultrasonore	198
5.1.3	Mesure de l'hématocrite par effets non-Newtoniens	198
5.1.4	Augmentation de la fréquence d'émission ultrasonore	199
5.2	Perspectives	199

RÉSUMÉ

La transfusion de produits dérivés du sang (produits sanguins labiles) tels que les concentrés de globules rouges, les concentrés plaquettaires ou du plasma seul est un enjeu majeur de la médecine moderne. En France, les chiffres donnés par l'Etablissement Français du Sang en 2014 font état de 1 millions de patients soignés chaque année grâce au don du sang. Que ce soit pour la transfusion ou pour le comptage et l'examen d'un type cellulaire en particulier, des techniques de fractionnement du sang fiables et minimisant les risques de contamination sont donc d'une nécessité absolue.

Le travail réalisé lors de cette thèse CIFRE s'inscrit dans le développement récent de nouvelles techniques de fractionnement du sang pour la création de produits sanguins labiles. Ces techniques, issues de la microfluidique, visent à remplacer les méthodes conventionnelles de fractionnement mais aussi à fournir de nouveaux outils de thérapie. Parmi ces techniques se trouve notamment l'acoustophorèse, qui exploite la force de radiation ultrasonore pour séparer des cellules aux propriétés acoustiques différentes sans leur imposer de contraintes mécaniques fortes.

Comme dans la circulation extracorporelle, le maintien du débit est une tâche essentielle pendant le traitement d'un échantillon de sang par acoustophorèse. Ceci s'explique par le fait que le débit régit notamment le temps que passe chaque cellule dans le champ acoustique. Néanmoins les bas débits (de l'ordre de quelques centaines de $\mu\text{L}/\text{min}$ à quelques mL/min) utilisés par les dispositifs d'acoustophorèses ainsi que la complexité du sang en tant que milieu physique rendent complexe le développement de débitmètres

adaptés. Cette problématique se retrouve de manière générale dans les techniques de fractionnement issues de la micro-fluidique.

Mais également, l'acoustophorèse et les techniques de fractionnement microfluidiques sont demandeuses de nouveaux outils de caractérisation des propriétés du sang ne nécessitant pas l'extraction d'un échantillon de mesure. L'hématocrite est en particulier une quantité intéressante puisqu'elle permet de quantifier le procédé de fractionnement via les globules rouges mais également de réaliser des diagnostics. Ainsi, la conception d'une méthode de mesure de l'hématocrite non invasive et adaptée à ces nouvelles techniques serait un apport considérable pour leur développement. De plus, cette conception fait écho à un certain nombre d'études passées et trouve ainsi des applications potentielles pour l'hémodialyse ou la circulation extracorporelle cardiopulmonaire.

Nous présentons dans ce manuscrit un système Doppler ultrasonore élémentaire conçu pour caractériser un écoulement de sang dans un dispositif d'acoustophorèse. Dans un premier temps, nous montrerons comment ce système peut être simplement exploité à l'aide d'un algorithme d'optimisation pour mesurer un débit très faible de sang, dans des gammes communes en acoustophorèse. Puis, nous appliquerons quelques éléments théoriques pour évaluer la capacité du système à mesurer l'hématocrite d'un écoulement de sang dilué via la puissance ultrasonore rétrodiffusée. Enfin, afin d'étendre la mesure d'hématocrite à une gamme physiologique, nous montrerons que le comportement non-Newtonien de l'écoulement de sang nous permet de mesurer l'hématocrite en sondant de légères variations de sa vitesse maximum. Pour finir, nous ferons une conclusion globale sur l'ensemble du travail présenté dans ce manuscrit.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. 1	Vue d'artiste de la composition du sang humain.	2
Figure 1. 2	Echantillon de sang après centrifugation.	3
Figure 1. 3	Globules rouges observés au microscope et simulés numériquement.	4
Figure 1. 4	Machine d'aphérèse.	7
Figure 1. 5	Schéma d'un canal d'acoustophorèse d'Aenitis.	10
Figure 1. 6	Canal d'acoustophorèse pour enrichir des cellules mononuclées.	11
Figure 1. 7	Un schéma de débitmètre électromagnétique.	17
Figure 1. 8	Débitmètre "transit-time" de Sonoflow.	18
Figure 1. 9	Densité optique dans le sang en fonction de l'hématocrite.	31
Figure 1. 10	Variations de l'atténuation ultrasonore dans le sang avec l'hématocrite.	34
Figure 1. 11	Schéma simplifié d'un appareil d'hémodialyse.	35
Figure 1. 12	Schéma simplifié d'une circulation extracorporelle cardiopulmonaire.	39
Figure 1. 13	Photographie du système Doppler de Satomura en 1957.	51
Figure 1. 14	Schéma de la sonde CW Doppler créée par Christopher <i>et al.</i> (1996).	54
Figure 1. 15	Illustration de la méthode de Welch.	62
Figure 1. 16	Modélisation simplifiée de la densité spectrale de puissance d'un signal Doppler.	63
Figure 1. 17	Evolution de la puissance du spectre Doppler ultrasonore en fonction du taux de cisaillement dans le sang.	69

Figure 1. 18	Mesure du coefficient de rétrodiffusion ultrasonore dans du sang bovin en fonction de l'hématocrite.	72
Figure 1. 19	Mesure du coefficient de rétrodiffusion ultrasonore dans du sang de porc ajustée avec un modèle "packing factor".	74
Figure 1. 20	Illustration des composantes cohérentes et incohérentes du coefficient de rétrodiffusion dans le modèle hybride de Mo et Cobbold.	77
Figure 2. 1	Mise en évidence par Thompson <i>et al.</i> (2004) de la distorsion du champ ultrasonore par un tube médical.	95
Figure 2. 2	Valeur de la fréquence Doppler maximum telle que prédite par le modèle de Vilkomerson <i>et al.</i> (2011) dans un spectre Doppler simulé.	97
Figure 2. 3	Discretisation du profil des vitesses dans un tube de rayon R telle qu'illustrée dans l'article de Vilkomerson <i>et al.</i> (2011).	99
Figure 2. 4	Pulse fréquentiels de deux globules rouges en fonction de leurs temps d'observation et pour un temps d'acquisition ultrasonore total de 5s.	100
Figure 2. 5	Allure graphique du modèle de Vilkomerson <i>et al.</i> (2011) pour 3 fréquences Doppler maximums.	103
Figure 2. 6	Dispositif experimental.	105
Figure 2. 7	Algorithme pour l'estimation du débit Q .	108
Figure 2. 8	Un exemple de DSDP mesurée avec un ajustement du modèle théorique de Vilkomerson <i>et al.</i> (2011) correspondant.	109
Figure 2. 9	Erreur de mesure moyenne du débit en fonction du temps d'acquisition.	110
Figure 2. 10	Régression linéaire entre le débit mesuré et le débit donné par le pousse-seringue pour un temps d'acquisition de 2s.	111
Figure 2. 11	Erreur de mesure du débit pour un temps d'acquisition de 2s.	112
Figure 3. 1	Angle solide entre un volume infinitésimal de sang et un récepteur ultrasonore.	123
Figure 3. 2	Relation entre l'amplitude de la DSPD et la puissance ultrasonore rétrodiffusée totale.	124

Figure 3. 3	Illustration graphique de l'équation (35).	128
Figure 3. 4	Intégrales fréquentielles mesurées des signaux Doppler avec un ajustement de l'équation (35).	132
Figure 3. 5	Erreur relative de la mesure de l'hématocrite moyennée pour toutes les acquisitions et tous les hématocrites en fonction du temps d'acquisition.	134
Figure 3. 6	Erreur relative de la mesure de débit en fonction de l'hématocrite pour les 4 poches de sang (débit du pousse-seringue : 1 mL/min).	135
Figure 3. 7	Comparaison entre l'hématocrite mesurée et l'hématocrite de référence pour les 4 poches de sang (débit du pousse-seringue: 1 mL/min).	136
Figure 3. 8	Erreur relative de la mesure d'hématocrite pour les 4 poches de sang (débit du pousse-seringue: 1 mL/min).	137
Figure 3. 9	Intégrale Doppler normalisées par l'expression (37) pour des globules rouges suspendus dans du plasma et des globules rouges suspendus dans de la saline.	140
Figure 4. 1	Evolution de la viscosité en fonction du taux de cisaillement pour des globules rouges dans du plasma, des globules rouges dans un tampon isotonique et des globules rouges rendues rigides.	146
Figure 4. 2	Principe de fonctionnement d'un viscosimètre « cone and plate ».	147
Figure 4. 3	Evolution de l'index non-Newtonien n avec l'hématocrite ainsi qu'un ajustement de l'équation (39).	149
Figure 4. 4	Modélisation de la viscosité du sang par différents modèles.	151
Figure 4. 5	Profil des vitesses et taux de cisaillement dans un tube en fonction du rayon.	153
Figure 4. 6	Profil des vitesses dans un micro-tube (51.8 micromètres de rayon) de globules rouges artificiels comparé au profil prédit par la loi de Poiseuille.	155

Figure 4. 7	Profils des vitesses normalisés de traceurs dans de l'eau (gauche) et des mêmes traceurs dans du sang (droite) mesurés par un système PIV dans un micro-tube (Okuda <i>et al.</i> 2003).	157
Figure 4. 8	Décroissance de la vitesse maximum et « blunting » du profil des vitesses du sang observés par Yeleswarapu <i>et al.</i> (1998).	158
Figure 4. 9	Evolution du « blunting » en fonction de la contrainte de cisaillement dans des micro-tubes observée par Alonso <i>et al.</i> (1995).	160
Figure 4. 10	Evolution de la décroissance des fréquences Doppler maximum avec l'hématocrite en fonction du débit.	165
Figure 4. 11	Décroissance des fréquences Doppler maximum avec l'hématocrite à un débit de 1.75mL/min et avec un ajustement de l'équation (40).	166
Figure 4. 12	Evolution de la vitesse moyenne du sang à un débit de 0.25mL/min lorsque l'hématocrite augmente.	169
Figure 4. 13	Variation des densités spectrales de puissance du signal Doppler avec l'hématocrite pour la poche de sang B2.	170
Figure 4. 14	Ajustement de l'équation (40) avec les fréquences Doppler maximum mesurées pour les 6 poches de sang.	171
Figure 4. 15	Ajustement de l'équation (41) avec les fréquences Doppler maximum mesurées pour les 6 poches de sang.	173
Figure 4. 16	Ajustement des équations (40) (No correction) et (41) (Hematocrit correction) avec les fréquences Doppler maximum mesurées pour les 6 poches de sang.	174
Figure 4. 17	Moyennes et écarts-types des DSPD en fonction de la fréquence Doppler pour chaque valeur d'hématocrite de la poche B2.	176
Figure 4. 18	Evolution de l'écart-type de la moyenne des DPSD normalisées pour les 5 échantillons de sang extraits de la poche B5 en fonction de leurs amplitudes.	178
Figure 4. 19	Fréquences seuils et fréquences Doppler maximums de Vilkomerson <i>et al.</i> (2011) pour des DSPD normalisées à un hématocrite de 10% issues de la poche B4.	179

Figure 4. 20	Régression linéaire entre les moyennes des fréquences seuils et les moyennes des fréquences Doppler maximums estimées à l'aide du modèle de Vilkomerson et al. (2011).	180
Figure 4. 21	Ecart type de la fréquence seuil et de la fréquence Doppler maximum de Vilkomerson et al. (2011) en fonction de l'hématocrite.	181
Figure 4. 22	Amplitude moyenne de la bande fréquentielle utilisée pour normaliser les DSPD affichée pour chaque poche de sang.	182
Figure 4. 23	Mesure de l'hématocrite pour les poches de sang B1, B4 et B6.	184
Figure 4. 24	Erreur de mesure moyenne en fonction de la valeur de calibration utilisée pour le coefficient C .	185
Figure 4. 25	Erreur de mesure moyenne en fonction de la valeur de calibration utilisée pour la fréquence Doppler moyenne.	185
Figure 4.26	Evolution du profil des vitesses du sang dans le tube de mesure selon l'équation (21) avec $C = 0.0081$.	187

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1 Le sang en bref

Le sang peut être vu de manière schématique comme un ensemble de cellules en suspension dans une solution aqueuse nommée le plasma (Figure 1.1). Le plasma est composé à 90% d'eau et contient un certain nombre de protéines essentielles au bon fonctionnement du corps humain dont l'albumine et le fibrinogène. Il constitue environ 54% du volume sanguin chez l'humain. Le composant cellulaire le plus abondant du sang est le globule rouge (également appelé érythrocyte ou hématie), qui représente en moyenne 45% de son volume. Les 1% restant sont majoritairement occupés par les plaquettes (thrombocytes) et les globules blancs (leucocytes). Les globules rouges et les plaquettes sont dépourvus de noyau contrairement aux globules blancs. Les diamètres des trois types cellulaires se situent entre 6.7 et 7.7 micromètres pour les globules rouges, 2 et 4 micromètres pour les plaquettes et 7 et 17 micromètres pour les globules blancs (Rogers 2010, Bain 2017). Une façon simple de visualiser la composition du sang est de le fractionner suivant le gradient de densité de ses constituants principaux. Ceci est usuellement réalisé en utilisant la force centrifuge selon une technique appelée la centrifugation (Wennecke 2004). Un échantillon de sang fractionné par centrifugation se composera typiquement d'une couche de globules rouges supportant une fine couche de plaquettes et de globules blancs (le « buffy coat ») elle-même recouverte d'une couche de plasma (Figure 1. 2).

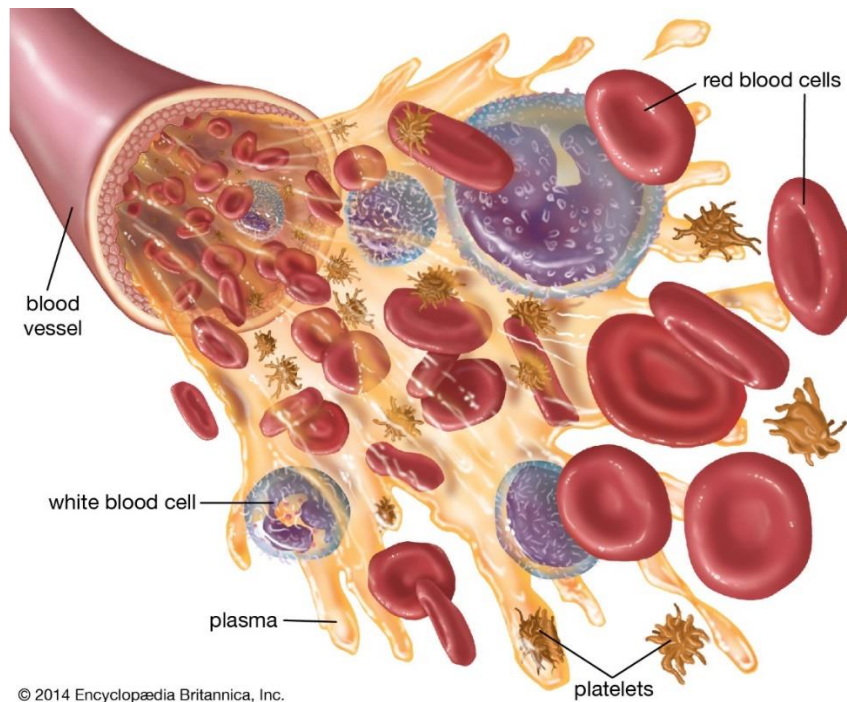


Figure 1. 1 – Vue d’artiste de la composition du sang humain dans l’Encyclopædia Britannica.

Le pourcentage de volume du sang occupé par les globules rouges est dénommé l’hématocrite. La valeur de l’hématocrite se répartit entre 37% et 47% chez la femme et entre 42% et 54% chez l’homme. Ceci correspond en moyenne à 4-5 millions de globules rouges par microlitre chez la femme et 5-6 millions de globules rouges par microlitre chez l’homme. Les globules rouges ont approximativement une forme de disque, avec une partie centrale plus fine que les côtés (Rogers 2010, Bain 2017). Ils ont une tendance à s’agréger, c’est-à-dire à former des structures tridimensionnelles complexes (souvent dénommées « rouleaux ») composées de plusieurs globules rouges. Pour le sang en écoulement ce phénomène d’agrégation dépend du taux de cisaillement c’est-à-dire des forces s’exerçant de manière tangentielle à la direction d’écoulement. Notamment, les agrégats de globules rouges sont brisés lorsque le cisaillement est suffisamment élevé. Ce procédé est réversible, c’est-à-dire que des agrégats se reforment si le cisaillement diminue et inversement. Dans

du sang non pathologique et à un hématicrite standard, les agrégats sont en général considérés comme se dispersant pour des taux de cisaillement entre 50 s^{-1} et 100 s^{-1} , avec une dispersion quasi totale au-delà de 100 s^{-1} (Schmid-Schönbein *et al.* 1968, Cloutier *et al.* 1996, Xu *et al.* 2013, Baskurt *et al.* 2019, Figure 1. 3).



Figure 1. 2 – Un échantillon de sang après centrifugation. Le « buffy-coat » est légèrement visible entre la couche de plasma supérieure et la couche de globules rouges (Indian Academy of Maxillofacial Surgery).

L'agrégation est le déterminant principal de la viscosité du sang, qui est sa capacité à résister à l'écoulement qu'on lui impose. Plus précisément, la viscosité du sang décroît lorsque le nombre d'agrégats diminue et donc lorsque le taux de cisaillement augmente. En revanche, elle croît avec l'augmentation du nombre de globules rouges et donc avec l'hématocrite. Le sang peut aussi exhiber un comportement élastique, également dû aux propriétés intrinsèques des globules rouges. En effet, les globules rouges se déforment de manière réversible selon les contraintes mécaniques qui leurs sont imposées (Robertson *et*

al. 2010). Enfin, le sang tend à naturellement coaguler quand il est extrait du corps humain, c'est-à-dire à passer d'un état liquide à un état compact (Blombäck 2013). La coagulation fait partie du mécanisme d'hémostase, qui est l'ensemble des phénomènes physiologiques permettant de stopper les saignements lors de la rupture de la paroi d'un vaisseau sanguin. L'hémostase fait aussi intervenir l'activation plaquettaire, un changement de forme des plaquettes leur permettant de s'agréger entre elles pour former le « clou plaquettaire » durant la première phase de la coagulation. D'un point de vue pratique la coagulation du sang peut être inhibée à l'aide d'un anticoagulant, par exemple de l'héparine.

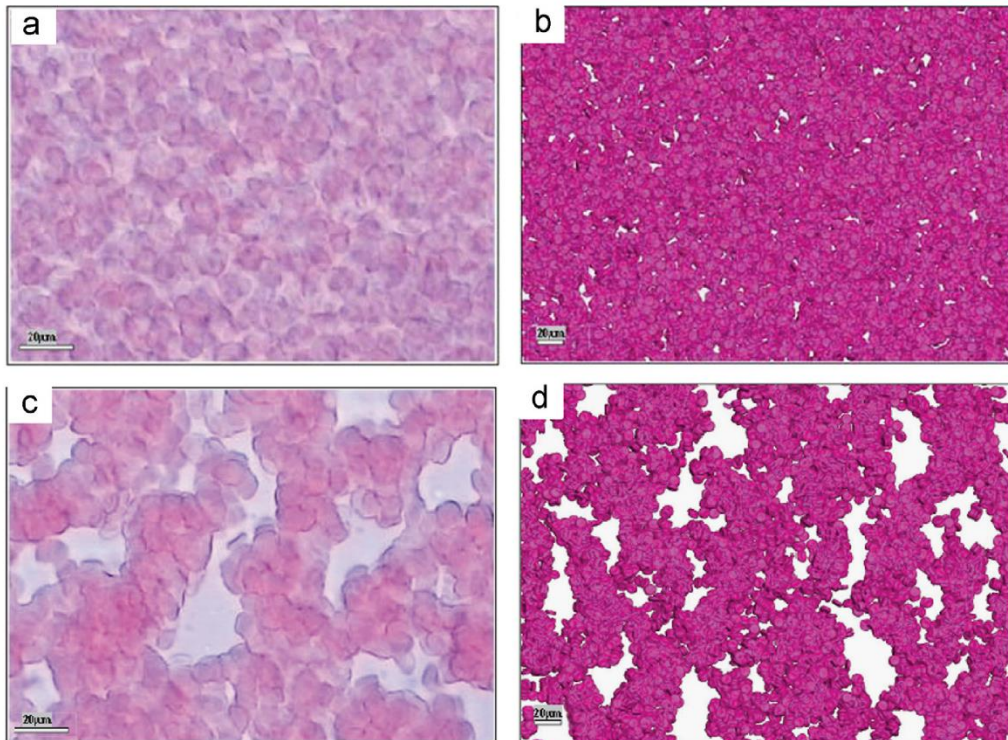


Figure 1. 3 – Globules rouges observés au microscope (a, c) et simulés numériquement (b, d) pour des taux de cisaillements de $10s^{-1}$ (c, d) et $100s^{-1}$ (a, b) (Xu *et al.* 2013). Les agrégats sont majoritairement dispersés à un taux de cisaillement de $100s^{-1}$.

1.1.1 Références

- Bain, Barbara. 2017. *A Beginner's Guide to Blood Cells*, 3rd Edition. Hoboken: Wiley.
- Baskurt, Oguz, Bjorn Neu, and Herbert J Meiselman. 2019. *Red Blood Cell Aggregation*. Boca Raton: CRC Press.
- Blombäck, Margareta, and Nils Egberg. 2013. *Essential Guide to Blood Coagulation*, Second Edition. Hoboken: Wiley.
- Cloutier, G., Z. Qin, L. G. Durand, and B. G. Teh. 1996. "Power Doppler Ultrasound Evaluation of the Shear Rate and Shear Stress Dependences of Red Blood Cell Aggregation." *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* 43 (5): 441–50.
- Robertson, Anne, Adélia Sequeira, and Robert G. Owens. 2010. "Rheological Models for Blood." In *Cardiovascular Mathematics*, 1:211–41.
- Rogers, Kara. 2011. *Blood: Physiology and Circulation*. Chicago: Britannica Educational Pub.
- Schmid-Schönbein, H., P. Gachtgens, and H. Hirsch. 1968. "On the Shear Rate Dependence of Red Cell Aggregation in Vitro." *Journal of Clinical Investigation* 47 (6): 1447–54.
- Wennecke, Gitte. 2004. "Hematocrit - a Review of Different Analytical Methods,"
- Xu, Dong, Efstathios Kaliviotis, Ante Munjiza, Eldad Avital, Chunning Ji, and John Williams. 2013. "Large Scale Simulation of Red Blood Cell Aggregation in Shear Flows." *Journal of Biomechanics* 46 (11): 1810–17.

1.2 L'acoustophorèse et les nouvelles techniques microfluidiques de fractionnement du sang

La transfusion de produits dérivés du sang (produits sanguins labiles, abrégés PSL) tels que les concentrés de globules rouges, les concentrés plaquettaires ou du plasma seul est un enjeu majeur de la médecine moderne. En effet, 85 millions d'échantillons de concentrés de globules rouges sont transfusés chaque année dans le monde (Carson *et al.* 2012). En France, les chiffres donnés par l'Etablissement Français du Sang en 2014 (<https://dondesang.efs.sante.fr>) font état de 1 millions de patients soignés chaque année grâce au don du sang. Autre chiffre évocateur, du plasma sanguin est actuellement requis dans le traitement de plus de 200 maladies. Également, les trois composants majeurs du sang que sont les globules rouges, les plaquettes et les globules blancs ont chacun des fonctions uniques qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques ou pour établir des diagnostics. La concentration en plaquette du sang est par exemple un biomarqueur de la leucémie et de l'anémie. Aussi l'examen de la capacité des globules blancs à relâcher des cytokines est utilisé pour détecter des maladies auto-immunes (Yu *et al.* 2014). Que ce soit pour la transfusion ou pour le comptage et l'examen d'un type cellulaire en particulier, les techniques de fractionnement du sang sont donc d'une nécessité absolue. Cependant, de par le nombre élevé de cellules dans le sang, le fractionnement du sang a toujours été un défi pour la médecine.



Figure 1. 4 – Une machine d’aphérèse utilisée pour extraire du plasma sanguin en centrifugeant le sang d’un patient au travers d’un circuit de circulation extracorporelle (transfusion.com).

Nous l’avons vu précédemment, l’approche la plus commune pour fractionner le sang est la centrifugation. Cependant, il est connu que la centrifugation peut potentiellement endommager les globules rouges ainsi qu’induire l’activation non désirée des plaquettes (Harm *et al.* 2012, Söderstrom *et al.* 2016). L’activation des plaquettes est principalement induite par la forte contrainte de cisaillement imposée au sang par la force centrifuge. Un autre moyen de fractionner le sang est d’utiliser le tri cellulaire magnétique ou le tri par fluorescence activée qui sont deux techniques permettant de séparer les cellules en les ciblant avec des marqueurs spécifiques. Néanmoins ces techniques sont particulièrement coûteuses et la préparation des échantillons avant le processus de tri peut parfois être longue (Urbansky 2019). Une autre approche courante est l’utilisation de filtres permettant de purifier un échantillon de sang d’une population cellulaire donnée. Par exemple, les

filtres à déleucocyter permettent d'ôter la grande majorité des globules blancs d'un échantillon. Ces filtres sont une technique de filtration simple qui peut être utilisée en complément d'une technique de fractionnement plus complète. Mais ils occasionnent souvent des pertes significatives de cellules (Urbansky 2019). Pour finir, ces trois techniques ont en commun de nécessiter un nombre élevé d'interventions manuelles, augmentant de par ce fait les risques d'erreurs humaines et de contamination (Yu *et al.* 2014).

La microfluidique est la science et la technologie qui manipule des écoulements dont au moins une dimension caractéristique est de l'ordre du micromètre. Dans cet ordre de grandeur, il est possible de manipuler individuellement des cellules en écoulement selon divers principes physiques. Cette manipulation est notamment facilitée par la prépondérance des effets visqueux sur les effets inertiels. Pour ces raisons, la microfluidique est une technologie idéale pour fractionner le sang directement à l'échelle de ses constituants cellulaires. De plus, les systèmes microfluidiques sont portables, peu coûteux et ne nécessitent potentiellement qu'un nombre restreint d'interventions humaines ce qui réduit le risque de contamination. Ainsi, un certain nombre de méthodes microfluidiques visant à remplacer les méthodes conventionnelles de fractionnement du sang ont récemment émergées. Des revues détaillées de ces méthodes peuvent être trouvées dans les publications de Hou *et al.* (2011), Yu *et al.* (2014) ainsi que de Antfolk et Laurell (2017).

Parmi ces nouvelles méthodes microfluidiques de fractionnement du sang se trouve l'acoustophorèse (ou lévitation acoustique). L'acoustophorèse est une technique utilisant la force de radiation acoustique pour manipuler les cellules sanguines ou toute autre

particule micrométrique en général. Brièvement, une force de radiation acoustique peut être imposée à des cellules en les mettant en écoulement dans un champ stationnaire ultrasonore. La magnitude de la force de radiation s'exerçant sur les cellules va être une fonction de leurs propriétés physiques et de celles de leur milieu de suspension (Bruus 2012). Cette discrimination permet alors de séparer des populations de cellules aux propriétés suffisamment divergentes (Antfolk et Laurell 2017). Par exemple, le canal d'acoustophorèse développé par Aenitis (Bohec *et al.* 2017, Figure 1. 5) permet d'isoler les plaquettes des globules rouges en exploitant le fait que la force de radiation acoustique est 4 fois plus forte sur ces premières (Nam 2011). L'acoustophorèse présente les avantages des méthodes microfluidiques mais impose aussi particulièrement peu de contraintes mécaniques aux cellules durant la séparation. Ainsi, il a été démontré à l'aide du système d'Aenitis que, contrairement à la centrifugation, les plaquettes n'étaient pas activées par l'acoustophorèse (Bohec *et al.* 2017).

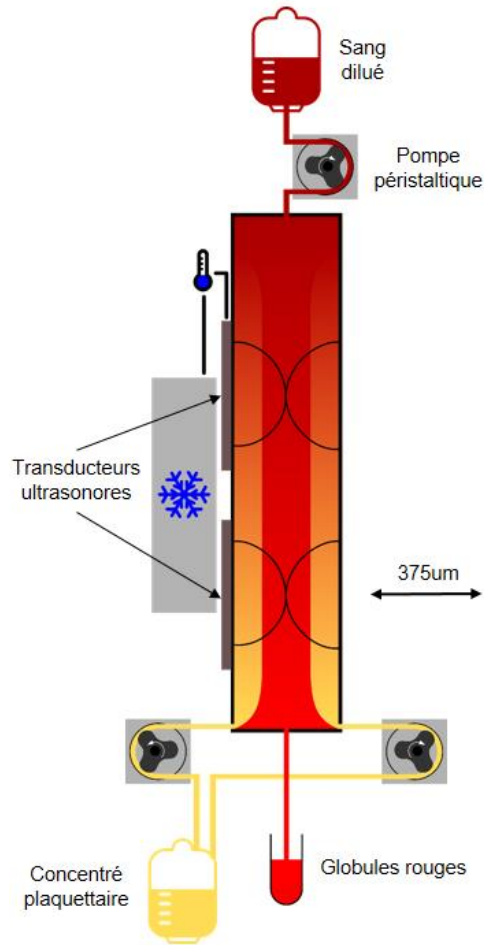


Figure 1. 5 – Schéma du canal d’acoustophorèse d’Aenitis pour la préparation de concentré plaquettaire à partir de sang dilué (Bohec *et al.* 2017).

L’acoustophorèse en tant qu’outil de fractionnement du sang est activement investiguée par la communauté scientifique depuis environ une dizaine d’année. Nous pouvons notamment citer les études de Lenshof *et al.* (2009) et de Karthick et Sen (2018) pour l’isolation de plasma à partir de sang total (c’est-à-dire de sang non dilué). Pour la génération de concentré plaquettaire par acoustophorèse nous pouvons citer l’étude d’Aenitis donc (Bohec *et al.* 2017) mais aussi celles de Nam *et al.* (2011) ainsi que de Chen *et al.* (2016). L’acoustophorèse peut aussi être appliquée à la détection et l’isolation de cellules cancéreuses circulant dans le sang comme l’ont montré Augustsson *et al.* (2012),

Antfolk *et al.* (2015), Li *et al.* (2015), Cushing *et al.* (2018) et González *et al.* (2018). De même l'acoustophorèse peut être utilisée pour filtrer des bactéries du sang (Ohlsson *et al.* 2016, Li *et al.* 2017), des protéines ou des lipides non désirés (Pettersson *et al.* 2004, Tenje *et al.* 2015, Dutra *et al.* 2018) ainsi que des globules rouges infectés (Gupta *et al.* 2017). De manière générale, il est à noter qu'un nombre élevé de dispositifs d'acoustophorèse opèrent à partir de sang dilué.

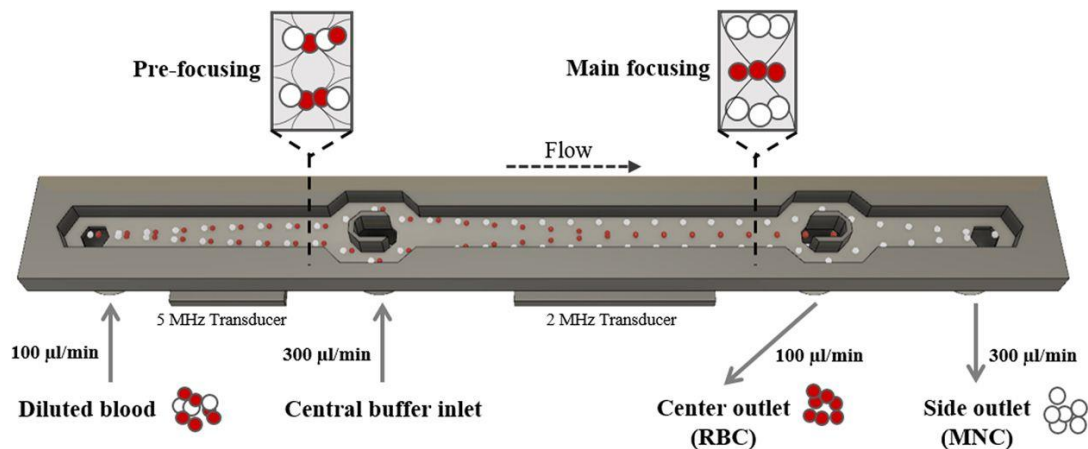


Figure 1. 6 – Canal d'acoustophorèse utilisé pour enrichir des cellules mononuclées à partir d'un échantillon de sang dilué (Urbansky *et al.* « Rapid and effective enrichment of mononuclear cells from blood using acoustophoresis », Scientific Reports, 2017).

1.2.1 Références

Antfolk, Maria, Christian Antfolk, Hans Lilja, Thomas Laurell, and Per Augustsson. 2015. "A Single Inlet Two-Stage Acoustophoresis Chip Enabling Tumor Cell Enrichment from White Blood Cells." *Lab on a Chip* 15 (9): 2102–9.

Antfolk, Maria, and Thomas Laurell. 2017. "Continuous Flow Microfluidic Separation and Processing of Rare Cells and Bioparticles Found in Blood – A Review." *Analytica Chimica Acta* 965 (May).

Augustsson, Per, Cecilia Magnusson, Maria Nordin, Hans Lilja, and Thomas Laurell. 2012. "Microfluidic, Label-Free Enrichment of Prostate Cancer Cells in Blood Based on Acoustophoresis." *Analytical Chemistry* 84 (18): 7954–62.

Bohec, Pierre, Jérémie Gachelin, Véronique Ollivier, Thibaut Mutin, Xavier Télot, Benoît Ho-Tin-Noé, and Sandra Sanfilippo. 2017. "Acoustophoretic Purification of Platelets: Feasibility and Impact on Platelet Activation and Function." *Platelets*, December, 1–7.

Bruus, Henrik. 2012. "Acoustofluidics 7: The Acoustic Radiation Force on Small Particles." *Lab on a Chip* 12 (6): 1014–21.

Carson, Jeffrey L., Brenda J. Grossman, Steven Kleinman, Alan T. Tinmouth, Marisa B. Marques, Mark K. Fung, John B. Holcomb, *et al.* 2012. "Red Blood Cell Transfusion: A Clinical Practice Guideline from the AABB." *Annals of Internal Medicine* 157 (1): 49–58.

Chen, Yuchao, Mengxi Wu, Liqiang Ren, Jiayang Liu, Pamela H. Whitley, Lin Wang, and Tony Jun Huang. 2016. "High-Throughput Acoustic Separation of Platelets from Whole Blood." *Lab on a Chip* 16 (18): 3466–72.

Cushing, Kevin, Eva Undvall, Yvonne Ceder, Hans Lilja, and Thomas Laurell. 2018. "Reducing WBC Background in Cancer Cell Separation Products by Negative Acoustic Contrast Particle Immuno-Acoustophoresis." *Analytica Chimica Acta* 1000 (February): 256–64.

Dutra, Brian, Maria Carmen Mora, Tyler I. Gerhardson, Brianna Sporbett, Alexandre Dufresne, Katharine R. Bittner, Carolanne Lovewell, *et al.* 2018. "A Novel Macroscale Acoustic Device for Blood Filtration." *Journal of Medical Devices* 12 (1): 0110081–87.

- González, Itziar, Julie Earl, Luis J. Fernández, Bruno Sainz, Alberto Pinto, Rosa Monge, Sonia Alcalá, Adela Castillejo, Jose L. Soto, and Alfredo Carrato. 2018. “A Label Free Disposable Device for Rapid Isolation of Rare Tumor Cells from Blood by Ultrasounds.” *Micromachines* 9 (3): 129.
- Gupta, Tamaghna, Ritwick Ghosh, and Ranjan Ganguly. 2017. “Acoustophoretic Separation of Infected Erythrocytes from Blood Plasma in a Microfluidic Platform Using Biofunctionalized, Matched-Impedance Layers.” *International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering*, November, e2943.
- Harm, S. K., J. S. Raval, J. Cramer, J. H. Waters, and M. H. Yazer. 2012. “Haemolysis and Sublethal Injury of RBCs after Routine Blood Bank Manipulations.” *Transfusion Medicine (Oxford, England)* 22 (3): 181–85.
- Hou, Han Wei, Ali Asgar S. Bhagat, Wong Cheng Lee, Sha Huang, Jongyoon Han, and Chwee Teck Lim. 2011. “Microfluidic Devices for Blood Fractionation.” *Micromachines* 2 (3): 319–43.
- Karthick, S., and A. K. Sen. 2018. “Improved Understanding of Acoustophoresis and Development of an Acoustofluidic Device for Blood Plasma Separation.” *Physical Review Applied* 10 (3): 034037.
- Lenshof, Andreas, Asilah Ahmad-Tajudin, Kerstin Järås, Ann-Margret Swärd-Nilsson, Lena Åberg, György Marko-Varga, Johan Malm, Hans Lilja, and Thomas Laurell. 2009. “Acoustic Whole Blood Plasmapheresis Chip for Prostate Specific Antigen Microarray Diagnostics.” *Analytical Chemistry* 81 (15): 6030–37.
- Nam, Jeonghun, Hyunjung Lim, Dookon Kim, and Sehyun Shin. 2011. “Separation of Platelets from Whole Blood Using Standing Surface Acoustic Waves in a Microchannel.” *Lab on a Chip* 11 (19): 3361–64.

Ohlsson, Pelle, Mikael Evander, Klara Petersson, Lisa Mellhammar, Ari Lehmusvuori, Ulla Karhunen, Minna Soikkeli, *et al.* 2016. “Integrated Acoustic Separation, Enrichment, and Microchip Polymerase Chain Reaction Detection of Bacteria from Blood for Rapid Sepsis Diagnostics.” *Analytical Chemistry* 88 (19): 9403–11.

Petersson, Filip, Andreas Nilsson, Cecilia Holm, Henrik Jönsson, and Thomas Laurell. 2004. “Separation of Lipids from Blood Utilizing Ultrasonic Standing Waves in Microfluidic Channels.” *Analyst* 129 (10): 938–43.

Söderström, Anna C., Mads Nybo, Christian Nielsen, and Pernille J. Vinholt. 2016. “The Effect of Centrifugation Speed and Time on Pre-Analytical Platelet Activation.” *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 54 (12): 1913–20.

Tenje, Maria, Maria N. Lundgren, Ann-Margret Swärd-Nilsson, Jens Kjeldsen-Kragh, Lena Lyxe, and Andreas Lenshof. 2015. “Acoustophoretic Removal of Proteins from Blood Components.” *Biomedical Microdevices* 17 (5): 95.

Urbansky, Anke. 2019. “Acoustofluidic Preparation of Whole Blood Components.” Thesis, Lund University.

Yu, Zeta Tak For, Koh Meng Aw Yong, and Jianping Fu. 2014. “Microfluidic Blood Cell Sorting: Now and Beyond.” *Small* 10 (9): 1687–1703.

1.3 Mesure d’un bas débit de sang

1.3.1 Nécessité pour l’acoustophorèse et le fractionnement microfluidique

Le maintien du débit à une valeur constante est un impératif souvent rencontré dans les techniques manipulant du sang en écoulement *in-vitro*. Par exemple, un débit constant

est essentiel pour assurer une filtration effective du sang lors d'une hémodialyse (Depner *et al.* 1990, Hoenich 1998). Aussi, la valeur du débit est liée au maintien de la fonction rénale durant la circulation extracorporelle cardiopulmonaire (Andersson *et al.* 1994).

La méthode la plus commune pour imposer un débit de sang dans un circuit extracorporel est la pompe péristaltique (Hoenich 1998, Sakota *et al.* 2008). Une pompe péristaltique permet de mettre le sang en écoulement dans un tuyau en effectuant une compression locale et répétée sur ce dernier. Si les pompes péristaltiques ont pour avantage évident de ne nécessiter aucun contact ou prélèvement de sang, leur utilisation n'est pas sans risque. Notamment, il a été plusieurs fois reporté qu'elles peuvent endommager les globules rouges et ainsi induire leur hémolyse (Sakota *et al.* 2008, Wilson *et al.* 2016). Pour pallier à ce problème, une optimisation du design des pompes doit être faite avant leur mise sur le marché, souvent à l'aide de simulations numériques (Behbahani *et al.* 2009).

Dans un dispositif de fractionnement par acoustophorèse, la séparation des différentes particules est contrôlée par la magnitude de la force de radiation acoustique mais également par le débit imposé en entrée. Ceci peut se comprendre par le fait que le débit régit tout simplement le temps que passera une particule donnée dans le champ acoustique (Lenshof *et al.* 2012). Ainsi, maintenir précisément le débit à une valeur constante est essentiel. Cet impératif se retrouve de manière générale dans tous les dispositifs microfluidiques de fractionnement du sang.

De plus, pour la génération de PSL, la bonne conservation des cellules sanguines durant le processus de production doit être assurée. L'usage d'une pompe péristaltique pour un dispositif de fractionnement du sang par acoustophorèse devrait donc à terme être évité.

Une alternative pour imposer le débit est alors d'utiliser la gravité ou bien des systèmes effectuant une légère pression sur la poche de sang en entrée du circuit fluide. Pour quantifier correctement le débit imposé par de tels dispositifs, un capteur permettant d'estimer le débit avec une haute précision est nécessaire.

En résumé, les nouvelles techniques de fractionnement du sang issues de la microfluidique et en particulier l'acoustophorèse sont demandeuses d'outils de contrôle du débit. Dans la sous-partie suivante, nous proposons de donner un aperçu des approches déjà existantes.

1.3.2 Techniques existantes

La circulation extracorporelle apporte déjà un certain nombre de méthodes pour mesurer le débit du sang *in-vitro*. Les plus étudiées ont été l'optique, l'induction électromagnétique et les ultrasons.

Pour l'optique nous pouvons citer en particulier le système de Norgia *et al.* (2010) qui utilise un laser « self-mixing » permettant d'estimer la vitesse du sang par interférence entre les signaux rétrodiffusés et émis. Toutefois, de manière générale, la mesure du débit de sang dans les circuits extracorporels n'est pas un domaine d'application important de cette modalité. En effet les débitmètres utilisant l'optique sont en majorité destinés à une utilisation *in-vivo* (Nilsson *et al.* 1980, Higurashi *et al.* 2003).

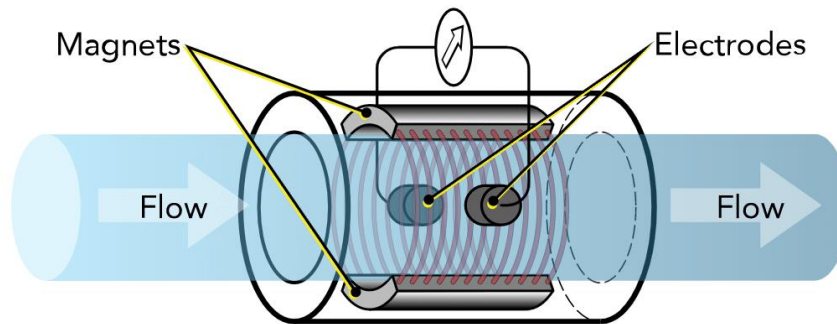


Figure 1. 7 – Un schéma de débitmètre électromagnétique. Un champ magnétique induit une différence de potentiel dans le tube qui est proportionnelle à la vitesse du fluide. La différence de potentiel est mesurée à l'aide de deux électrodes placées sur la paroi interne du tube (fluidhandlingpro.com).

Les débitmètres électromagnétiques estiment le débit du sang en induisant à l'aide d'un champ magnétique une différence de potentiel proportionnelle à sa vitesse (Figure 1. 7). Ces débitmètres sont depuis longtemps étudiés et utilisés pour la circulation extracorporelle (Cordell *et al.* 1960) et leurs besoins en électronique ainsi que leur portabilité peuvent être maintenant optimisés (Nair *et al.* 2015).

Les débitmètres ultrasonores sont principalement classables en deux catégories : les débitmètres Doppler et les débitmètres « transit-time » (Webster 2000). Le débitmètre Doppler repose sur l'effet physique du même nom permettant de relier la distribution fréquentielle du signal ultrasonore à la vitesse des globules rouges (Cobbold, 2006). Cette méthode est une référence depuis plusieurs décennies pour la quantification de l'écoulement de sang *in-vivo* (Satomura 1957, Evans et McDicken 2000). Cependant, pour

la circulation extracorporelle, peu de systèmes Doppler ont été étudiés et ceux-ci sont maintenant datés (Christmann 1990, Dantas et Costa 2000). Le débitmètre « transit-time » (Figure 1. 8) utilise le temps de propagation de l'onde ultrasonore dans le sang pour en déduire sa vitesse. En effet, celle-ci peut se déduire de la différence du temps de propagation d'une onde allant dans le sens de l'écoulement avec celui d'une onde allant dans la direction opposée (Hartman *et al.* 1994). La simplicité et la bonne précision des débitmètres « transit-time » en font un bon outil pour la circulation extracorporelle (Hoenich 1998, Webster 2000). En revanche, ces débitmètres s'utilisent essentiellement à des débits relativement élevés, comme nous allons le voir par la suite.



Figure 1. 8 – Débitmètre « transit-time » Sonoflow (Sonotec, Allemagne) conçu pour la circulation extracorporelle.

1.3.3 Limitation pour les bas débits

Les débits de sang utilisés dans les circuits extracorporels sont de l'ordre de plusieurs centaines de mL/min. L'acoustophorèse est initialement une technique

microfluidique dont les débits vont plutôt de quelques $\mu\text{L}/\text{min}$ à quelques centaines de $\mu\text{L}/\text{min}$ (Hou *et al.* 2011, Yu *et al.* 2014, Anfolk et Laurell 2017). Pour une utilisation industrielle ou clinique et en particulier pour Aenitis, des canaux d'acoustophorèse aux dimensions plus élevées et/ ou une mise en parallèle de plusieurs de ces canaux sont nécessaires afin d'augmenter le nombre de cellules ou de particules traitées sur un temps donné. Ce besoin en hauts débits (« *high-throughput* ») a mené au développement de canaux d'acoustophorèse capables de fonctionner à des débits supérieurs à ceux généralement rencontrés en microfluidique (Adams *et al.* 2012, Chitale *et al.* 2015, Chen *et al.* 2016, Bohec *et al.* 2017, Dutra *et al.* 2018). De manière générale, augmenter les débits des diverses techniques microfluidiques de fractionnement du sang est connu comme étant un axe de développement nécessaire pour mener celles-ci à atteindre leur plein potentiel (Yu *et al.* 2014).

Les canaux d'acoustophorèses fonctionnant à hauts débits possèdent des débits allant de quelques centaines de $\mu\text{L}/\text{min}$ à quelques mL/min . Ces débits sont donc toujours bien inférieurs aux débits utilisés en circulation extracorporelle (Adams *et al.* : maximum $17\text{mL}/\text{min}$, Chen *et al.* : maximum $10\text{mL}/\text{min}$, Bohec *et al.* maximum $1.5\text{mL}/\text{min}$, Dutra *et al.* maximum $32\text{mL}/\text{min}$). Dans cette gamme, le débitmètre le plus courant est le débitmètre thermique, qui est souvent utilisé en microfluidique (Dijkstra *et al.* 2008). Un tel débitmètre estime le débit à partir d'une légère élévation locale de température dans la zone d'écoulement. Néanmoins, les débitmètres thermiques ne sont en général pas destinés au sang mais plutôt à des liquides clairs comme l'eau ou alors à des gaz (Kuo *et al.* 2012). Nous pouvons également citer le système de Takamoto *et al.* (2001) où un transducteur ultrasonore radial est inséré directement dans le tube d'écoulement afin de mesurer le débit

par « transit-time ». Ce système est capable de mesurer des débits de l'ordre de 1mL/min avec une précision de 1% mais sa manufacture reste difficile. Mais également, le système n'a pas été testé sur du sang. Nous pouvons écarter pour les mêmes raisons le débitmètre bas-débits piézo-résistif de Zhang *et al.* (2010).

Nous proposons dans ce paragraphe de lister quelques débitmètres industriels disponibles sur le marché. Nous avons sélectionné plusieurs capteurs selon les deux critères suivants : 1) si le capteur a été conçu spécifiquement pour du sang 2) si le capteur peut mesurer un débit dans une gamme proche de celle des dispositifs d'acoustophorèse hauts-débits. La liste n'est bien sûr pas exhaustive mais se veut la plus représentative possible.

Modèle	Constructeur	Principe physique	Application(s) donnée(s) par le constructeur	Gamme de débit (mL/min) et précision (liquide utilisé)	Spécifique au sang
Mitos flow rate sensor 3200096	Dolomite (RU)	Thermique	Microfluidique	0.2-5 ± 5% (eau)	Non
Sonoflow CO.55/035 V2.0	Sonotec (All)	ultrasons « transit-time »	Dialyse, circuits extracorporels	0-300 ± 6mL/min (eau)	Oui
COR Flowmeter Milli+5	COR solutions (RU)	N/A	Microfluidique	0.2-5 ± 2% (eau)	Non

Flow-rate Platform L	Fluigent (FR)	Thermique	Microfluidique	0.04-1 ± 0.7% (eau)	Non
LD20-2600B	Sensirion (SU)	Thermique	Biomédical	0.8-17 ± 0.8% (eau)	Non
MFS 5 Flow Sensor	Elveflow (FR)	Thermique	Microfluidique	0.2-5 ± 5% (eau)	Non
PG-SLI-0025	PreciGenome (USA)	N/A	Microfluidique	0-1.5 ± 10% (eau)	Non
SonoTT	EmTec (FR)	ultrasons « transit-time »	Sang, dialyse	0-1000 ± 70mL/min (sang)	Oui
BioProTT	EmTec (FR)	ultrasons « transit-time »	Liquides incluant du sang	0-20 ± 2mL/min (eau)	Pas tout à fait
1PXN	Transonic (USA)	ultrasons « transit-time »	Sang, organes ex-vivo	5-20 ± 8% (N/A)	Oui

Nous pouvons tout d'abord remarquer que les débitmètres destinés au sang (Sonoflow, SonoTT, BioPrott, 1PXN) opèrent dans des gammes de débits élevées, qui correspondent à celles de la circulation extracorporelle. Ces débitmètres ne possèdent ainsi pas la sensibilité nécessaire pour un dispositif d'acoustophorèse hauts-débits. Plusieurs débitmètres thermiques (Mitos, Flow-rate Platform, LD20-2600B, MFS 5) sont capables

de mesurer des débits microfluidiques avec une précision élevée mais nous pouvons les éliminer pour les raisons évoquées plus haut. Le débitmètre COR de principe physique inconnu a également une précision élevée pour des bas débits mais celle-ci a été déterminée uniquement pour de l'eau. Idem pour le débitmètre PG-SLI dont la précision de 10% est de plus peu satisfaisante.

1.3.4 Références

Adams, Jonathan D., Christian L. Ebbesen, Rune Barnkob, Allen H. J. Yang, H. Tom Soh, and Henrik Bruus. 2012. "High-Throughput, Temperature-Controlled Microchannel Acoustophoresis Device Made with Rapid Prototyping." *Journal of Micromechanics and Microengineering* 22 (7): 075017.

Andersson, L. G., L. E. Bratteby, R. Ekroth, S. Hallhagen, P. O. Joachimsson, J. der Linden Van, and O. Wesslén. 1994. "Renal Function during Cardiopulmonary Bypass: Influence of Pump Flow and Systemic Blood Pressure." *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery : Official Journal of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery* 8 (11): 597–602.

Antfolk, Maria, and Thomas Laurell. 2017. "Continuous Flow Microfluidic Separation and Processing of Rare Cells and Bioparticles Found in Blood – A Review." *Analytica Chimica Acta* 965 (May): 9–35.

Behbahani, M., M. Behr, M. Hormes, U. Steinseifer, D. Arora, O. Coronado, and M. Pasquali. 2009. "A Review of Computational Fluid Dynamics Analysis of Blood Pumps." *European Journal of Applied Mathematics* 20 (4): 363–97.

Bohec, Pierre, Jérémie Gachelin, Véronique Ollivier, Thibaut Mutin, Xavier Télot, Benoît Ho-Tin-Noé, and Sandra Sanfilippo. 2017. “Acoustophoretic Purification of Platelets: Feasibility and Impact on Platelet Activation and Function.” *Platelets*, December, 1–7.

Chen, Yuchao, Mengxi Wu, Liqiang Ren, Jiayang Liu, Pamela H. Whitley, Lin Wang, and Tony Jun Huang. 2016. “High-Throughput Acoustic Separation of Platelets from Whole Blood.” *Lab on a Chip* 16 (18): 3466–72.

Chitale, Kedar C., Bart Lipkens, Walter Presz, and Olivier Desjardins. 2015. “Understanding the Fluid Dynamics Associated with Macro Scale Ultrasonic Separators.” *Proceedings of Meetings on Acoustics* 23 (1): 045004.

Christmann, H.A., D.R. Smith, B.L. Weaver, W.R. Betten, and R.A. Nazarian. 1990. “Real-Time DSP System for Ultrasonic Blood Flow Measurement.” In *IEEE International Symposium on Circuits and Systems*, 2045–48. New Orleans, LA, USA: IEEE.

Cobbold, R. S. C. 2006. *Foundations of Biomedical Ultrasound*. Oxford: Oxford University Press.

Cordell, A. Robert, and M. P. Spencer. 1960. “Electromagnetic Blood Flow Measurement in Extracorporeal Circuits: Its Application to Cardiopulmonary Bypass.” *Annals of Surgery* 151 (1): 71–74.

Craig Hartman, J., Douglas A. Olszanski, Thomas G. Hullinger, and Marshall N. Brunden. 1994. “In Vivo Validation of a Transit-Time Ultrasonic Volume Flow Meter.” *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 31 (3): 153–60.

Dantas, R. G., and E. T. Costa. 2000. “Ultrasonic Pulsed Doppler Blood Flowmeter for Use in Extracorporeal Circulation.” *Artificial Organs* 24 (3): 198–201.

Depner, T. A., S. Rizwan, and T. A. Stasi. 1990. "Pressure Effects on Roller Pump Blood Flow during Hemodialysis." *ASAIO Transactions* 36 (3): M456-459.

Dijkstra, M., M. J. de Boer, J. W. Berenschot, T. S. J. Lammerink, R. J. Wiegerink, and M. Elwenspoek. 2008. "Miniaturized Thermal Flow Sensor with Planar-Integrated Sensor Structures on Semicircular Surface Channels." *Sensors and Actuators A: Physical, Micromechanics Section of Sensors and Actuators (SAMM)*, based on contributions revised from the Technical Digest of the IEEE 20th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2007), 143 (1): 1–6.

Dutra, Brian, Maria Carmen Mora, Tyler I. Gerhardson, Brianna Sporbett, Alexandre Dufresne, Katharine R. Bittner, Carolanne Lovewell, *et al.* 2018. "A Novel Macroscale Acoustic Device for Blood Filtration." *Journal of Medical Devices* 12 (1): 0110081–87.

Evans, David H, and W. N. McDicken. 2000. *Doppler Ultrasound: Physics, Instrumentation and Signal Processing*, 2nd Edition. Hoboken: Wiley.

Higurashi, E., R. Sawada, and T. Ito. 2003. "An Integrated Laser Blood Flowmeter." *Journal of Lightwave Technology* 21 (3): 591–95.

Hoeningh, Nicholas. 1998. "Blood Flow During Hemodialysis." *Seminars in Dialysis* 11 (4): 237–41.

Hou, Han Wei, Ali Asgar S. Bhagat, Wong Cheng Lee, Sha Huang, Jongyoon Han, and Chwee Teck Lim. 2011. "Microfluidic Devices for Blood Fractionation." *Micromachines* 2 (3): 319–43.

Kuo, Jonathan T. W., Lawrence Yu, and Ellis Meng. 2012. "Micromachined Thermal Flow Sensors—A Review." *Micromachines* 3 (3): 550–73.

Lenshof, Andreas, Cecilia Magnusson, and Thomas Laurell. 2012. "Acoustofluidics 8: Applications of Acoustophoresis in Continuous Flow Microsystems." *Lab on a Chip* 12 (7): 1210–23.

Nair, Sarath S., V. Vinodkumar, V. Sreedevi, and D. S. Nagesh. 2015. "Rotating Permanent Magnet Excitation for Blood Flow Measurement." *Medical & Biological Engineering & Computing* 53 (11): 1187–99.

Nilsson, G. E., T. Tenland, and P. A. Oberg. 1980. "Evaluation of a Laser Doppler Flowmeter for Measurement of Tissue Blood Flow." *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* BME-27 (10): 597–604.

Norgia, M., A. Pesatori, and L. Rovati. 2010. "Low-Cost Optical Flowmeter With Analog Front-End Electronics for Blood Extracorporeal Circulators." *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement* 59 (5): 1233–39.

Sakota, Daisuke, Ryuki Sakamoto, Hideo Sobajima, Naoyuki Yokoyama, Satoshi Waguri, Katsuhiro Ohuchi, and Setsuo Takatani. 2008. "Mechanical Damage of Red Blood Cells by Rotary Blood Pumps: Selective Destruction of Aged Red Blood Cells and Subhemolytic Trauma." *Artificial Organs* 32 (10): 785–91.

Sampson, D., M. Papadimitriou, and A. E. Kulatilake. 1970. "Ultrasonic Blood Flow Measurement in Haemodialysis." *BMJ* 1 (5692): 340–41.

Satomura, Shigeo. 1957. "Ultrasonic Doppler Method for the Inspection of Cardiac Functions." *The Journal of the Acoustical Society of America* 29 (11): 1181–85.

Takamoto, M, H Ishikawa, K Shimizu, H Monji, and G Matsui. 2001. “New Measurement Method for Very Low Liquid Flow Rates Using Ultrasound.” *Flow Measurement and Instrumentation* 12 (August): 267–73.

J. Webster. 2000. *The Measurement, Instrumentation and Sensors Handbook*. Boca Raton: CRC Press LLC.

Wilson, Ana Maria Miranda Martins, Maria Angélica Sorgini Peterlini, and Mavilde da Luz Gonçalves Pedreira. 2016. “Infusion Pumps and Red Blood Cell Damage in Transfusion Therapy: An Integrative Revision of the Academic Literature 1.” *Revista Latino-Americana de Enfermagem* 24 (August).

Wyatt, D.G. 1982. “Blood Flow and Blood Velocity Measurement in Vivo by Electromagnetic Induction.” *Transactions of the Institute of Measurement and Control* 4 (2): 61–78.

Yu, Zeta Tak For, Koh Meng Aw Yong, and Jianping Fu. 2014. “Microfluidic Blood Cell Sorting: Now and Beyond.” *Small* 10 (9): 1687–1703.

Zhang, Qi, Wenzhou Ruan, Han Wang, Youzheng Zhou, Zheyao Wang, and Litan Liu. 2010. “A Self-Bended Piezoresistive Microcantilever Flow Sensor for Low Flow Rate Measurement.” *Sensors and Actuators A: Physical* 158 (2): 273–79.

1.4 Mesure de l'hématocrite « en ligne »

1.4.1 Nécessité pour l'acoustophorèse et le fractionnement microfluidique

Dans les études présentées en amont de ce paragraphe, l'efficacité de la séparation prenant part dans les canaux d'acoustophorèse n'est pas quantifiée durant la séparation même. En effet, dans l'ensemble de ces études, des échantillons sont recueillis à la sortie

des canaux d'acoustophorèse et analysés ensuite pour en déduire l'efficacité de la séparation. Par exemple, pour la production de concentré plaquettaire, les éventuels globules rouges résiduels présents parmi les plaquettes vont être détectés à posteriori par un automate d'analyses médicales.

Les globules rouges sont de manière globale au centre des techniques de fractionnement du sang par acoustophorèse et par microfluidique en général. Que ce soit à des fins de contrôle ou d'évaluation, recueillir des informations sur leur nombre sans nécessiter l'extraction d'un échantillon de sang serait d'une grande valeur ajoutée pour ces techniques. Plus précisément, la connaissance de l'hématocrite directement pendant un processus de fractionnement microfluidique ou par acoustophorèse permettrait de rendre les systèmes associés plus facilement contrôlables ainsi que plus fiables. Par la suite, nous dénommerons une telle méthode de mesure *in-vitro* de l'hématocrite, automatisable et ne nécessitant pas de prélèvement, comme une mesure « en ligne », par rapprochement avec le terme anglais de «in-line measurement ».

Dans cette partie, nous proposons de donner un aperçu des approches proposées pour mesurer l'hématocrite « en-ligne » après avoir passé en revue les méthodes conventionnelles utilisées en environnement clinique. Nous présenterons également deux techniques médicales autres que l'acoustophorèse où une telle mesure de l'hématocrite « en ligne » trouve des applications : l'hémodialyse et la circulation extracorporelle cardiopulmonaire.

1.4.2 Méthodes conventionnelles et limitations

En général, les mesures d'hématocrite *in-vitro* réalisées en clinique sont faites dans le cadre des bilans hématologiques, par exemple à la suite d'une prise de sang. Ces analyses sont le plus souvent effectuées à l'aide d'automates d'analyses médicales, qui fonctionnent selon divers principes physiques. Les deux modalités les plus couramment employées sont l'optique et la mesure d'impédance électrique. D'autres modalités peuvent être rencontrées, telles que la radiofréquence et la cytochimie (Chhabra 2018), mais celles-ci, plus rares, ne seront pas abordées dans ce manuscrit.

Le principe des automates optiques est de comparer la lumière transmise et/ ou diffusée au travers d'un échantillon de sang avec une mesure de référence (ou calibration). Diverses propriétés du sang peuvent ensuite être déduites de cette comparaison. La toute première étude proposant une telle approche fût publiée par George Olivier en 1896. Ici, l'observation de la lumière transmise se faisait à l'œil nu et permettait une estimation grossière du nombre de globules rouges. De manière générale, le principal problème d'une approche comparative brute est la sensibilité de la lumière aux variations de taille et de forme des globules rouges (Green et Wachsmann 2015). Depuis George Olivier, ce problème fût outrepassé dans les cytomètres modernes à l'aide de méthodes permettant de focaliser et d'isoler les globules rouges, en exploitant par exemple des effets hydrodynamiques (Heikali et Di Carlo 2010). En pratique, la focalisation permet d'utiliser l'optique pour compter individuellement les globules rouges tout en estimant leur volume et ceci à une haute cadence. L'hématocrite peut ensuite être déduit de la multiplication du nombre de globules rouges par leur volume moyen.

La technique fondatrice des méthodes électriques fût brevetée par Wallace Coulter en 1953. Elle est basée sur le fait que les cellules ont une impédance électrique faible comparée à

celle de la saline. Ainsi, des cellules en suspension dans de la saline peuvent être détectées individuellement en appliquant un champ électrique et en mesurant les baisses d'impédances prenant part à chaque passage d'une cellule : c'est l'effet Coulter, du nom de son inventeur (Green et Wachsmann 2015). Pour estimer l'hématocrite, cet effet et d'autres effets électriques analogues sont aussi utilisés en combinaison avec des dispositifs de focalisation (Heikali et Di Carlo 2010).

Ces deux modalités, optique et électriques, ont chacune leurs avantages et inconvénients, qui peuvent être en partie palliés en combinant les deux approches. Néanmoins, les automates d'analyses médicales ont pour défaut commun d'être chers et peu portables et donc difficiles d'accès (Heikali et Di Carlo 2010). Aussi, ils nécessitent en général de diluer le sang (Green et Wachsmann 2015) et ne peuvent pas être implémentés « en ligne » car bien trop encombrants. De plus, ils doivent être manipulés par un personnel qualifié et laissent une part importante à d'éventuelles erreurs manuelles, augmentant ainsi les risques de contamination (Harvey 2012). Lorsque l'accès à un automate d'analyse n'est pas possible, la mesure d'hématocrite peut se faire par centrifugation (Wennecke 2004). Mais cette méthode nécessite également l'extraction manuelle d'un échantillon de mesure.

1.4.3 Les techniques pour mesurer l'hématocrite "en ligne"

Comme précisé précédemment, nous désignons ici par méthode de mesure de l'hématocrite « en ligne » les méthodes ne nécessitant pas l'extraction manuelle d'un échantillon ou toute autre intervention humaine de manière générale. Les méthodes considérées sont de plus celles s'appliquant à du sang en écoulement de manière à ce qu'elles soient intégrables à des techniques de traitement du sang en conditions de flux.

Pour commencer, nous pouvons citer une série d'études publiées entre 1970 et 1983 (Johnson *et al.* 1973, Jendrucko *et al.* 1973, Lipowsky *et al.* 1980, Pries *et al.* 1983) proposant de mesurer l'hématocrite en utilisant l'absorbance du sang. Ces études visaient initialement à mesurer l'hématocrite dans les capillaires humains et ont été pour la plupart réalisées dans des tubes *in-vitro*. Une de leurs principales limitations était l'influence de l'aggrégation des globules rouges sur les propriétés optiques du sang (Lipowsky *et al.* 1980). Nous pouvons aussi citer des méthodes proposant quelques années plus tard de mesurer l'hématocrite de manière non invasive *in-vivo* par spectrométrie proche de l'infrarouge (Schmitt *et al.* 1992, Wu *et al.* 2000, Sakudo *et al.* 2009). De même, ces méthodes sont sensibles à des fluctuations dans les propriétés de diffusion du sang et doivent être corrigées en fonction pour être efficaces (Sakudo *et al.* 2009). Ceci est également vrai pour les approches utilisant la spectrométrie à basse cohérence (Iftimia *et al.* 2006, Xu et Chen 2008, Jedrzejewska-Szczerska *et al.* 2011).

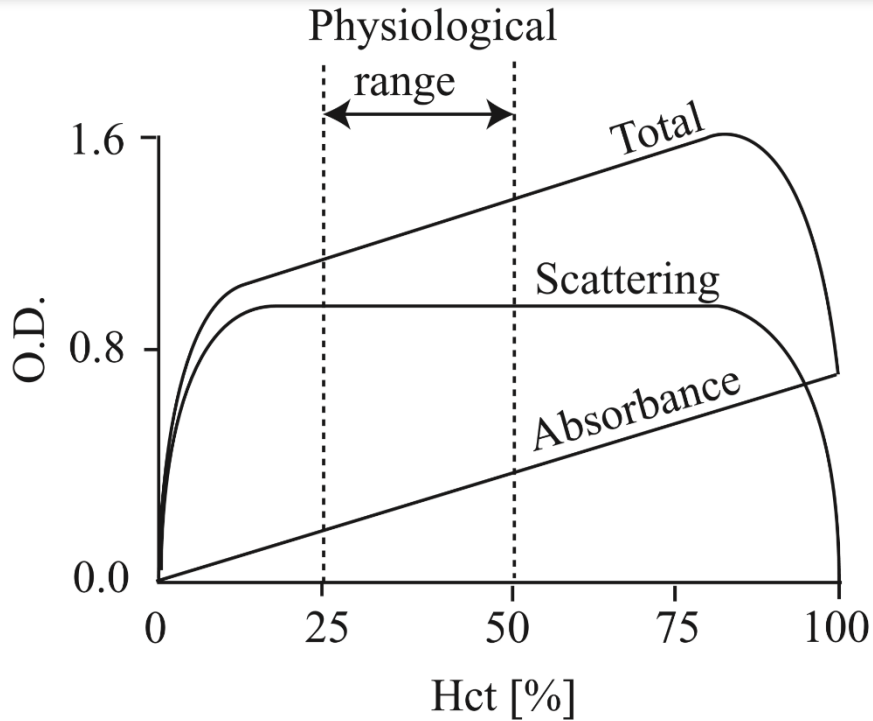


Figure 1. 11 – Evolution en fonction de l’hématocrite des composantes diffusées et absorbées de la densité optique (O.D.) dans le sang (Oshima et Sankai 2009).

Un autre écueil des méthodes optiques est la complexité de l’instrumentation employée et les calibrations précises qui y sont associées. Dans ce sens des études connexes ont présenté un système optique à la calibration simplifiée conçu pour mesurer l’hématocrite dans des tubes médicaux (Oshima *et al.* 2009, Ekuni *et al.* 2015). Mais, si ce système est précis et stable, il n’a cependant été démontré que pour des globules rouges suspendus dans de la saline, qui est un inhibiteur de l’agrégation. Un autre système optique au design simplifié et possédant une bonne précision a également fait l’objet d’une publication par Krystian *et al.* (2012). En revanche le système n’a pas été testé en condition d’écoulement et nécessite des temps d’acquisition entre 30 et 60 secondes. Aussi, Zeidan *et al.* (2016) ont proposé d’estimer l’hématocrite à partir des images d’un écoulement de sang en chambre stérile

réalisées par un dispositif optique de cytométrie en flux. Si la technique est précise, le système de mesure doit être calibré avec du sang à 100% d'hématocrite et est composé d'une chaîne d'acquisition relativement lourde à mettre en place.

Proche de l'effet Coulter, une autre modalité intéressante pour estimer l'hématocrite en ligne est d'utiliser l'influence directe de cette dernière sur les propriétés électriques du sang. La variation de ces propriétés électriques avec l'hématocrite peut en effet être mesurée par des électrodes placées directement dans la zone d'écoulement de manière analogue aux débitmètres électromagnétiques. Plusieurs études ont ainsi proposé de mesurer l'hématocrite en ligne via l'impédance (Tanaka *et al.* 1976, Cha *et al.* 1994, Maassrani *et al.* 1997, Trebbels *et al.* 2009), l'admittance (Yamakochi *et al.* 1980), la conductivité (Schifman *et al.* 1985, Ishihara *et al.* 1993) ainsi que la permittivité du sang (Treo *et al.* 2005). Ces méthodes ont l'avantage de nécessiter des temps d'acquisitions courts (Ishihara *et al.* 1993) et d'être facilement intégrables à moindre coût (Cha *et al.* 1994, Trebbels *et al.* 2009). Cependant, les propriétés électriques du sang ne sont pas seulement influencées par l'hématocrite mais aussi par la conductivité et l'osmolarité du plasma (Kim *et al.* 2012). Ainsi la plupart des méthodes électriques présentent des erreurs de mesures élevées lorsque ces deux quantités varient et ceci combien même dans des gammes physiologies (Jaffrin *et al.* 1999, Treo *et al.* 2005). Pour pallier à ce défaut, une méthode utilisant un paramètre électrique indépendant de la conductivité et de l'osmolarité du plasma fût proposé par Kim *et al.* en 2012. La méthode est très précise pour du sang statique (<1% d'erreur). En revanche des erreurs montant jusqu'à 9% furent reportées en condition d'écoulement (Kim *et al.* 2014).

Les ultrasons ont été étudiés de manière plus sporadique pour mesurer l'hématocrite en ligne. Nous pouvons tout d'abord citer Tsui *et al.* (2005) qui ont montré que le paramètre de Nakagami (une quantité liée à la distribution statistique du même nom) du signal ultrasonore rétrodiffusé était corrélé à l'hématocrite, mais néanmoins de manière peu significative et non bijective. Le système ultrasonore le plus développé pour mesurer l'hématocrite en écoulement a été présenté dans une série d'articles de Secomski *et al.* (2001, 2003, 2005, Figure 1. 12) et utilise l'augmentation de l'atténuation ultrasonore du sang avec l'hématocrite. Les auteurs ont démontré que cette approche permettait de mesurer l'hématocrite dans une artère brachiale *in-vivo* avec une précision satisfaisante de $\pm 5\% \text{Hct}$. Par contre, la méthode n'a pas été optimisée pour une utilisation *in-vitro* et emploie un système Doppler pulsé relativement complexe (« multi-gated »). Aussi, les auteurs n'ont pas considéré le fait que l'atténuation des ultrasons dans le sang dépend du taux de cisaillement et donc du débit (Huang *et al.* 2011)

Enfin, nous pouvons citer une méthode présentée récemment par Petersson *et al.* (2018) qui propose d'utiliser l'acoustophorèse pour estimer l'hématocrite. En bref, un dispositif d'acoustophorèse est utilisé pour focaliser les globules rouges au centre d'un canal microfluidique. Une image de la bande formée par les globules rouges ainsi focalisés est ensuite acquise par un microscope. L'épaisseur de la bande mesurée à partir de l'image est alors directement corrélée à l'hématocrite.

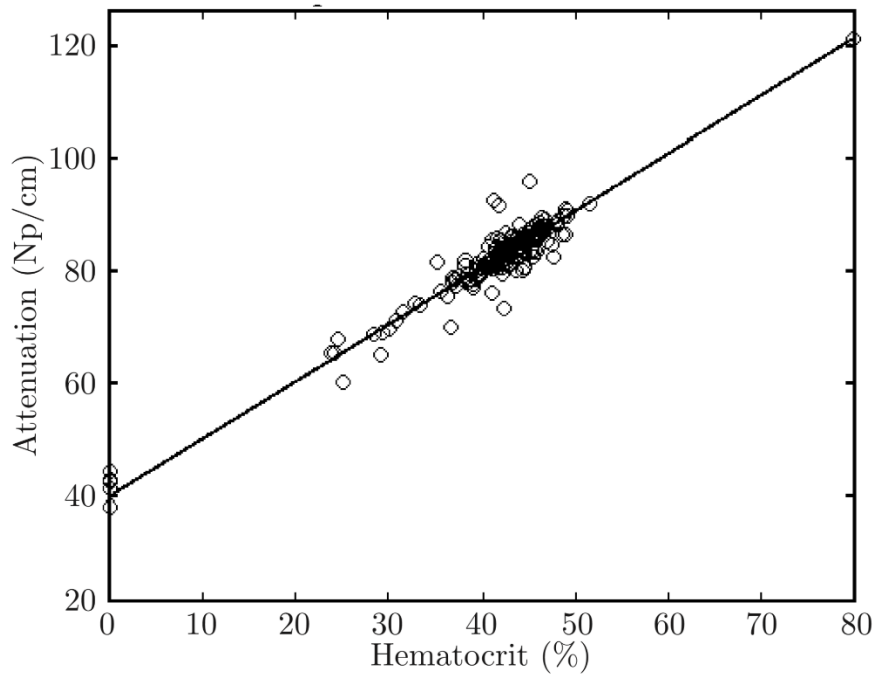


Figure 1. 12 – Variations de l’atténuation ultrasonore dans le sang avec l’hématocrite (Secomski *et al.* 2005)

1.4.4 Hématocrite et hémodialyse

L’hémodialyse est une technique d’épuration du sang utilisée pour éliminer les toxines (comme l’urée) et les excédents d’eau dans la circulation des patients souffrant d’insuffisance rénale. La technique consiste en la mise en place d’un circuit extracorporel permettant de filtrer le sang du patient dans un compartiment *in-vitro* appelé le dialyseur. Schématiquement, un dialyseur est une membrane semi-perméable permettant d’extraire par diffusion les molécules indésirables du sang vers une solution appelée le dialysat. Par un processus inverse, le dialyseur transfère également un soluté du dialysat vers le sang, en général du bicarbonate (Javed *et al.* 2011). Après passage dans le dialyseur, le sang est directement réinjecté dans le patient par le circuit extracorporel. En général, le débit du sang est prescrit entre 200 et 400 mL/min et le débit du dialysat à deux fois le débit de sang

atteint en pratique (Himmelfard et Ikizler 2010). En 2010, l'hémodialyse avait permis depuis sa mise en place en clinique la survie de plus d'un million de patients atteints d'insuffisance rénale (Himmelfard et Ikizler 2010).

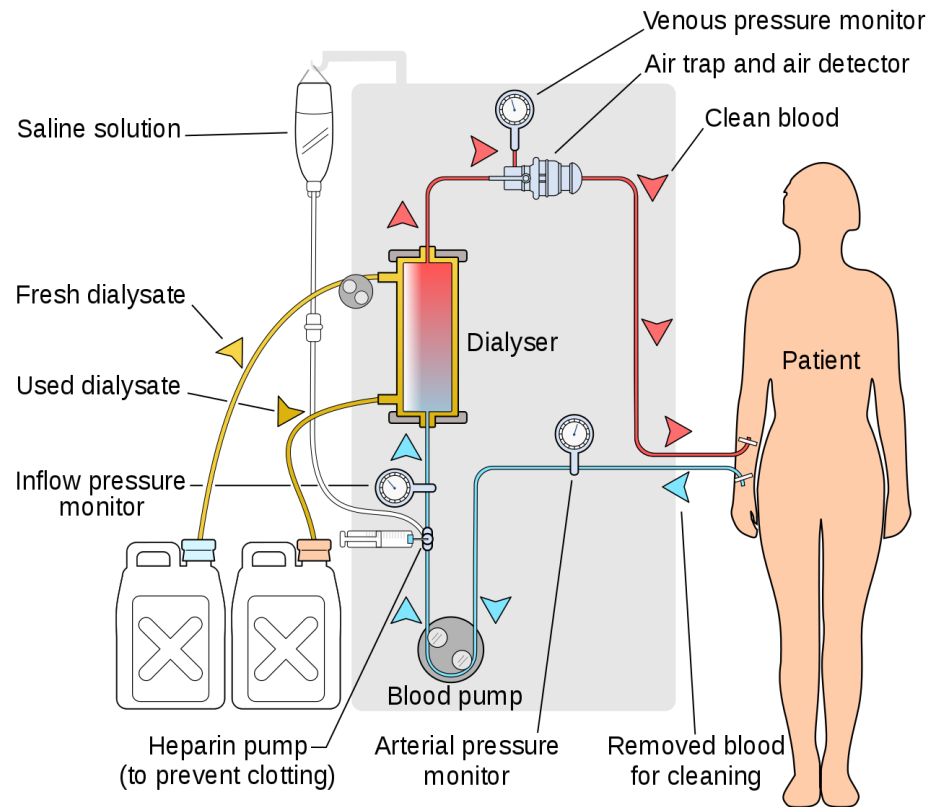


Figure 1. 9 – Schéma simplifié d'un appareil d'hémodialyse. Le sang est pompé à l'extérieur du corps puis filtré de ses toxines et de son excédent d'eau au travers d'une membrane semi-perméable appelée le dialyseur. Le sang est ensuite réinjecté dans le patient. L'ensemble de l'opération se fait en circuit fermé (wikipedia.org).

Si les décès dus à des hémodialyses sont maintenant rares (Himmelfard et Ikizler 2010), le procédé n'est pas sans effets secondaires. Notamment, de l'hypotension durant l'hémodialyse est constatée dans environ 20% à 30% des cas (Selby et McIntyre 2006). En premier lieu, l'hypotension cause des symptômes mineurs tels que des crampes, de la nausée et des vomissements. De l'hypotension récurrente peut néanmoins contraindre le

patient à interrompre régulièrement ses sessions d'hémodialyse. Un des risques de l'arrêt de ces sessions est de créer une surcharge indésirable de fluide dans le sang non éliminée par les reins. Le processus est alors inversé et le patient risque de développer à terme une hypertension chronique. Cette hypertension chronique peut potentiellement amener des complications sensiblement plus graves, dont des accidents cardiovasculaires (Damasiewicz et Polkinghorne 2011).

Un des facteurs concomitants à l'apparition d'hypotension lors de l'hémodialyse est la baisse de volémie inhérente au processus de dialyse (Javed *et al.* 2011). Ainsi, il a été proposé de prédire l'hypotension en contrôlant de manière continue la volémie durant l'hémodialyse (De Vries *et al.* 1993). Cependant, l'efficacité du contrôle continu de la volémie pour prédire l'hypotension et la validité des capteurs associés ont été plusieurs fois remises en question par la communauté médicale (Reddan *et al.* 2005, Dasselaar *et al.* 2005, Locatelli *et al.* 2005, Dasselaar *et al.* 2007). Néanmoins, le contrôle a été reconnu comme une aide facilitant la compréhension de l'apparition de l'hypotension (Dasselaar *et al.* 2005) ainsi que comme une approche valide pour réduire les symptômes de cette dernière (Ward et Ronco 2009). Lorsque combiné à des approches multi-variable et à des systèmes de rétroaction biologique, il a également été admis que le contrôle de la volémie pouvait aider à prédire voir à réduire l'apparition d'hypotension (Locatelli *et al.* 2005).

Sous l'hypothèse que le nombre et le volume moyen des globules rouges restent constants durant l'hémodialyse, la variation de la volémie est inversement proportionnelle à la variation de l'hématocrite. Ainsi, un certain nombre d'études ont investigué le contrôle continu de la volémie via l'hématocrite. Pour ce faire, le capteur optique CRIT-Line (Fresenius Medical Care, Etats-Unis) a été largement utilisé (Steuer *et al.* 1994, Steuer *et*

al.1998, Michael *et al.* 2004, Schroeder *et al.* 2004, Rodriguez *et al.* 2005, Patel *et al.* 2007). Le capteur CRIT-Line a une précision donnée par son constructeur de 0.1% Hct (Rodriguez *et al.* 2005) et a été implémenté dans plusieurs unités cliniques américaines au début des années 2010 (Balter *et al.* 2015). Ce capteur nécessite l'utilisation d'une chambre de mesure jetable, qui se connecte aux tuyaux du circuit d'hémodialyse. Nous pouvons également citer un autre capteur optique développé par Yoshida *et al.* (2010). Ce capteur a une précision démontrée à $\pm 2\%$ Hct et peut s'utiliser directement sur le tube d'hémodialyse contrairement au capteur CRIT-Line. Pour finir, nous pouvons mentionner les études utilisant des capteurs optiques d'hémoglobine (Santoro *et al.* 1998) ou ultrasonores (Johner *et al.* 1998) afin d'estimer de même la volémie.

1.4.5 Hématocrite et circulation extracorporelle cardio-pulmonaire

La circulation extracorporelle cardio-pulmonaire (CECP) est une technique chirurgicale visant à reproduire les fonctions du cœur et des poumons durant des opérations où ces derniers sont immobilisés (Sarkar et Prabhu 2017). En bref, un circuit *in-vitro* permettant de dévier le sang dans un oxygénateur est mis en place. Dans l'oxygénateur, le sang va s'enrichir en oxygène et perdre son gaz carbonique, comme après un passage dans les poumons. Le sang va ensuite être réinjecté dans le patient en utilisant une pompe. Une hémodilution du sang à des hématocrites entre 25% et 30% est faite au début de l'intervention en mélangeant le sang circulant à un liquide « d'amorçage ». L'hémodilution permet notamment de diminuer le besoin en transfusion de sang allogénique (c'est-à-dire d'un donneur externe) durant l'opération (Utley 1992). Elle permet aussi de réduire la viscosité du sang, qui augmente à cause de la basse température requise pendant

l'intervention. En réduisant la viscosité, l'hémodilution facilite la circulation du sang et son retour veineux au sein du patient (Ranucci *et al.* 2006).

L'hémodilution n'est pas sans risque et une dilution trop forte peut potentiellement entraver la délivrance d'oxygène au patient durant la CECP (Kawashima *et al.* 1974). Il a été également montré qu'une hémodilution trop importante était liée à des complications post-opératoires (Swaminathan *et al.* 2003, Karkouti *et al.* 2005). Dans ce sens, l'utilité de contrôler de manière continue l'hématocrite ainsi que la saturation du sang en oxygène durant la CECP a été démontrée (Osawa *et al.* 2004).

Dans les années 90, plusieurs études ont évalué des capteurs optiques conçus pour mesurer continuellement l'hématocrite durant la CECP (Bennett *et al.* 1993, Brown *et al.* 1994, Niles *et al.* 1995, Yaskulka *et al.* 1995, Walton *et al.* 1999). Souvent, ces capteurs étaient également capables de mesurer la saturation du sang en oxygène (Bennett *et al.* 1993, Brown *et al.* 1994, Yaskulka *et al.* 1995, Walton *et al.* 1999). Pour la mesure de l'hématocrite, les résultats furent variables. Par exemple, pour le capteur CDI 100 (Terumo, Japon, maintenant commercialisé sous le modèle CDI 550), Walton *et al.* (1999) et Yaskulka *et al.* (1995) ont reporté des erreurs inférieures à $\pm 5\%$ Hct pour des coefficients de détermination supérieurs à 0,9, sur une gamme d'hématocrite non précisée. En revanche, Brown *et al.* (1994) ainsi que Niles *et al.* (1995) ont observé des erreurs similaires mais pour des coefficients de détermination inférieurs à 0,72 sur une gamme d'hématocrite entre 10 et 30%. Egalement, il a été montré que le CDI 100 nécessitait des recalibrations régulières pour être efficace (Walton *et al.* 1999). De même, la précision du capteur Cobe Hematocrit (commercialisation interrompue) pour un hématocrite entre 15 et 30% fut évaluée comme excellente par Niles *et al.* (1995) avec une erreur de $-0.5 \pm 1\%$ Hct et un

coefficient de détermination de 0,99. Mais Brown *et al.* (1994) estimèrent le coefficient de détermination à une valeur de seulement 0,31 pour un hématoците entre 10% et 30%.

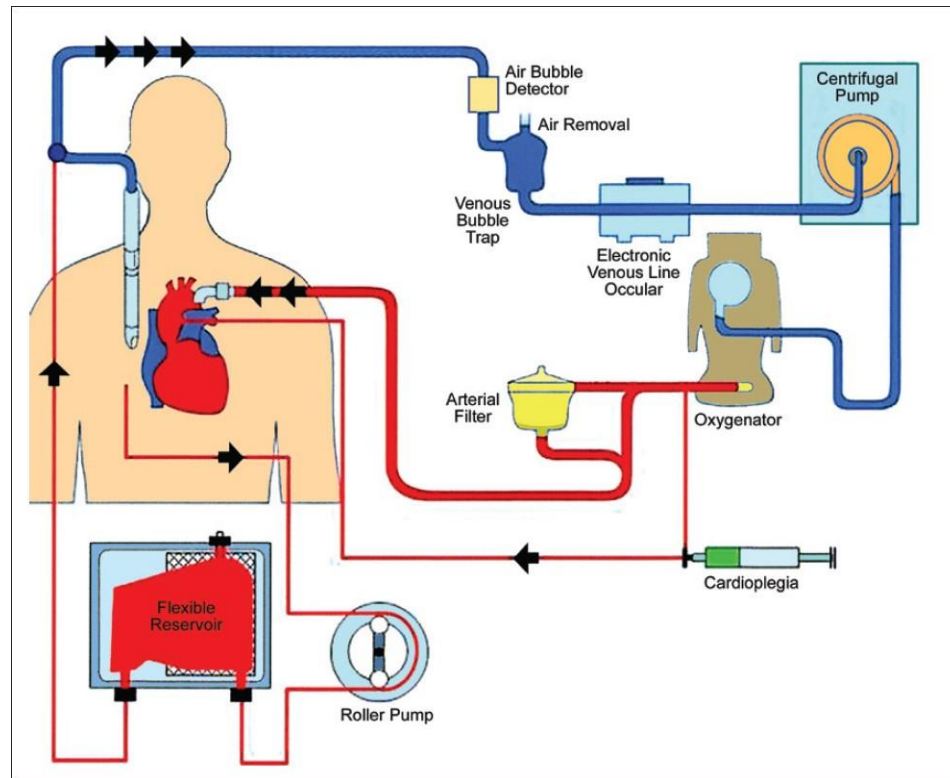


Figure 1. 10 – Schéma simplifié d'une circulation extracorporelle cardiopulmonaire. Le sang est pompé hors du patient pour être oxygéné avant réinjection. Tout comme l'hémodialyse, l'ensemble de l'opération est réalisée en circuit fermé (aeronline.org).

Quelques années plus tard, de nouveaux capteurs pour mesurer l'hématocrite en continu durant la CECP ont été proposés. Nous pouvons citer le capteur optique de Meinke *et al.* (2008) démontrant une erreur de mesure de 2.2% Hct pour un hématoците entre 15% et 31% (coefficient de détermination non précisé). Aussi, la précision de la sonde optique BMU40 (MAQUET, Allemagne) a été évaluée par Grosse *et al.* (2010) à moins de $\pm 2\%$ Hct pour un hématoците jusqu'à 45% et avec un coefficient de détermination d'environ 0,9. Les performances de cette sonde ainsi que de quatre autres capteurs optiques ont été

évaluées par Bohn *et al.* (2012) : le CDI 500 (Terumo, Etats-Unis) avec une précision de $\pm 3.68\%$ Hct, le M3 (Spectrum Medical, Etats-Unis) avec une précision de $\pm 4.27\%$ Hct, le B-Care5 (LivaNova, Royaume-Uni) avec une précision de $\pm 4.11\%$ Hct, le BioTrend (Medtronic, Irlande) avec une précision de $\pm 3.66\%$ Hct et le BMU40 donc avec une précision de $\pm 2.48\%$ Hct légèrement moins bonne que celle reportée par Grosse *et al.* (2010). Un des inconvénients majeurs des capteurs optiques industriels est qu'ils nécessitent pour la plupart d'être calibrés au début de chaque CECP à partir d'un échantillon de sang. Dans ce sens, Netz *et al.* (2015) ont proposé un capteur d'hématocrite se calibrant sans sang et présentant une précision de $\pm 1.2\%$ Hct jusqu'à un hématocrite de 40%. Néanmoins le capteur n'a pas encore été testé en conditions cliniques.

1.4.6 Références

Balter, Paul, Mikhail Artemyev, and Paul Zabetakis. 2015. "Methods and Challenges for the Practical Application of Crit-Line™ Monitor Utilization in Patients on Hemodialysis." *Blood Purification* 39 (1–3): 21–24.

Bennett, D., J. Burnside, J. Langwell, and P. D. Beckley. 1993. "Clinical Comparisons of Continuous Venous Oxygen Saturation and Hematocrit Monitors in Pediatric Surgery." *The Journal of Extra-Corporeal Technology* 25 (4): 140–44.

Bohn, S., Frank Harig, Gerd Haimerl, Frank Münch, and Michael Weyand. 2012. "In Vitro Comparison of Various Blood Parameter In-Line Monitoring Systems." *Kardiotechnik* 21 (February): 10–17.

Brown, M. E., J. D. Rawleigh, and J. M. Gallagher. 1994. "In Vitro Evaluation of Continuous Mixed Venous Oxygen Saturation and Hematocrit Monitors." *The Journal of Extra-Corporeal Technology* 26 (4): 189–93.

Cha, K., R. G. Faris, E. F. Brown, and D. W. Wilmore. 1994. "An Electronic Method for Rapid Measurement of Haematocrit in Blood Samples." *Physiological Measurement* 15 (2): 129–137.

Chhabra, Gaurav. 2018. "Automated Hematology Analyzers: Recent Trends and Applications." *Journal of Laboratory Physicians* 10 (1): 15–16.

Damasiewicz, Matthew J., and Kevan R. Polkinghorne. 2011. "Intra-Dialytic Hypotension and Blood Volume and Blood Temperature Monitoring." *Nephrology* 16 (1): 13–18.

Dasselaar, Judith J., Roel M. Huisman, Paul E. DE Jong, and Casper F. M. Franssen. 2007. "Relative Blood Volume Measurements during Hemodialysis: Comparisons between Three Noninvasive Devices." *Hemodialysis International. International Symposium on Home Hemodialysis* 11 (4): 448–55.

Dasselaar, Judith J., Roel M. Huisman, Paul E. de Jong, and Casper F. M. Franssen. 2005. "Measurement of Relative Blood Volume Changes during Haemodialysis: Merits and Limitations." *Nephrology Dialysis Transplantation* 20 (10): 2043–49.

Ekuni, Shota, and Yoshiyuki Sankai. 2015. "Non-Invasive Measurement Method of Blood Hematocrit for Management of Extracorporeal Circulation." 2014 IEEE/SICE International Symposium on System Integration, SII 2014, January, 76–81.

Green, Ralph, and Sebastian Wachsmann-Hogiu. 2015. "Development, History, and Future of Automated Cell Counters." *Clinics in Laboratory Medicine* 35 (March): 1–10.

Grosse, F. Oliver, David Holzhey, Volkmar Falk, Jan Schaarschmidt, Klaus Kraemer, and Friedrich W. Mohr. 2010. "In Vitro Comparison of the New In-Line Monitor BMU 40 versus a Conventional Laboratory Analyzer." *The Journal of Extra-Corporeal Technology* 42 (1): 61–70.

Harvey, John W. 2012. "Chapter 2 - Hematology Procedures." In *Veterinary Hematology*, edited by John W. Harvey, 11–32. Saint Louis: W.B. Saunders.

Heikali, Daniel, and Dino Di Carlo. 2010. "A Niche for Microfluidics in Portable Hematology Analyzers." *JALA: Journal of the Association for Laboratory Automation* 15 (4): 319–28.

Himmelfarb, Jonathan, and T. Alp Ikizler. 2010. "Hemodialysis." *New England Journal of Medicine* 363 (19): 1833–45.

Huang, Chih-Chung, and Yu-Chang Chang. 2011. "Ultrasonic Attenuation and Backscatter from Flowing Whole Blood Are Dependent on Shear Rate and Hematocrit between 10 and 50 MHz." *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 58 (2):

Iftimia, Nicusor V., Daniel X. Hammer, Chad E. Bigelow, David I. Rosen, Teoman Ustun, Anthony A. Ferrante, Danthu Vu, and R. Daniel Ferguson. 2006. "Toward Noninvasive Measurement of Blood Hematocrit Using Spectral Domain Low Coherence Interferometry and Retinal Tracking." *Optics Express* 14 (8): 3377–88.

Ishihara, Toshikazu, Isemi Igarashi, Tomoyuki Kitano, Takahiro Shinzato, and Kenji Maeda. 1993. "Continuous Hematocrit Monitoring Method in an Extracorporeal Circulation System and Its Application for Automatic Control of Blood Volume during Artificial Kidney Treatment." *Artificial Organs* 17 (8): 708–16.

- Jaffrin, M. Y., and C. Fournier. 1999. "Comparison of Optical, Electrical, and Centrifugation Techniques for Haematocrit Monitoring of Dialysed Patients." *Medical & Biological Engineering & Computing* 37 (4): 433–39.
- Javed, Faizan, Andrey V. Savkin, Gregory S. H. Chan, James D. Mackie, and Nigel H. Lovell. 2011. "Recent Advances in the Monitoring and Control of Haemodynamic Variables during Haemodialysis: A Review." *Physiological Measurement* 33 (1): R1–R31.
- Jedrzejewska-Szczerska, M., and M. Gnyba. 2011. "Optical Investigation of Hematocrit Level in Human Blood." *Acta Physica Polonica A* 120 (4): 642–46.
- Jendrucko, R.J., and J.S. Lee. 1973. "The Measurement of Hematocrit of Blood Flowing in Glass Capillaries by Microphotometry." *Microvascular Research* 6 (3): 316–31.
- Johner, C., P. W. Chamney, D. Schneditz, and M. Krämer. 1998. "Evaluation of an Ultrasonic Blood Volume Monitor." *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 13 (8): 2098–2103.
- Johnson, Paul C., David L. Hudnall, and Joe H. Dial. 1973. "Measurement of Capillary Hematocrit by Photometric Techniques." *Microvascular Research* 5 (3): 351–56.
- Karkouti, K., W. S. Beattie, D. N. Wijeyesundera, V. Rao, C. Chan, K. M. Dattilo, G. Djaiani, J. Ivanov, J. Karski, and T. E. David. 2005. "Hemodilution during Cardiopulmonary Bypass Is an Independent Risk Factor for Acute Renal Failure in Adult Cardiac Surgery." *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 129 (2): 391–400.
- Kawashima, Yasunaru, Zengo Yamamoto, and Hisao Manabe. 1974. "Safe Limits of Hemodilution in Cardiopulmonary Bypass." *Surgery* 76 (3): 391–97.

Kim, Myounggon, Ayoung Kim, Sohee Kim, and Sung Yang. 2012. "Improvement of Electrical Blood Hematocrit Measurements under Various Plasma Conditions Using a Novel Hematocrit Estimation Parameter." *Biosensors and Bioelectronics* 35 (1): 416–20.

Kim, Myounggon, and Sung Yang. 2014. "Improvement of the Accuracy of Continuous Hematocrit Measurement under Various Blood Flow Conditions." *Applied Physics Letters* 104 (15): 153508.

Krystian, Ernest, Małgorzata Jędrzejewska-Szczerska, and Michał Sobaszek. 2012. "Spectroscopic and Wireless Sensor of Hematocrit Level." *Procedia Engineering* 47: 156–59.

Lipowsky, Herbert H., Shunichi Usami, Shu Chien, and Roland N. Pittman. 1980. "Hematocrit Determination in Small Bore Tubes from Optical Density Measurements under White Light Illumination." *Microvascular Research* 20 (1): 51–70.

Locatelli, Francesco, Umberto Buoncristiani, Bernard Canaud, Hans Köhler, Thierry Petitclerc, and Pietro Zucchelli. 2005. "Haemodialysis with On-Line Monitoring Equipment: Tools or Toys?" *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 20 (1): 22–33.

Maasrani, M., M. Y. Jaffrin, and B. Boudailliez. 1997. "Continuous Measurements by Impedance of Haematocrit and Plasma Volume Variations during Dialysis." *Medical & Biological Engineering & Computing* 35 (3): 167–71.

Meinke, Martina, Enno Ott, Ingo Gersonde, Jürgen Helfmann, Hansjörg Albrecht, Gerhard Müller, Andreas Hahn, Michael Kopitz, and Roland Hetzer. 2008. "Clinical Feasibility Tests on a Novel Optical On-Line Blood Monitoring Sensor for Cardiopulmonary Systems." *Medical Laser Application* 22 (January): 248–55.

Michael, Mini, Eileen D. Brewer, and Stuart L. Goldstein. 2004. "Blood Volume Monitoring to Achieve Target Weight in Pediatric Hemodialysis Patients." *Pediatric Nephrology* (Berlin, Germany) 19 (4): 432–37.

Netz, Uwe, Moritz Friebel, and Jürgen Helfmann. 2015. "In-Line Optical Monitoring of Oxygen Saturation and Hematocrit for Cardiopulmonary Bypass: Adjustment-Free and Bloodless Calibration." *Photonics & Lasers in Medicine* 4 (May).

Niles, Scott, Robert Cronbaugh, James Engle, James Ploessl, and Robin Sutton. 1995. "Evaluation of Five In-Line Hematocrit Monitors" 27 (1): 5.

Osawa, Hiroshi, Shinpei Yoshii, Samuel J. K. Abraham, Shigeru Hosaka, Shoji Suzuki, Koji Ogata, Okihiko Akashi, Hiroji Higuchi, and Yusuke Tada. 2004. "Critical Values of Hematocrit and Mixed Venous Oxygen Saturation as Parameters for a Safe Cardiopulmonary Bypass." *The Japanese Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery: Official Publication of the Japanese Association for Thoracic Surgery*, 52 (2): 49–56.

Oshima, Shiori, and Yoshiyuki Sankai. 2009. "Optical Measurement of Blood Hematocrit on Medical Tubing with Dual Wavelength and Detector Model." *Conference Proceedings : Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Conference 2009* (September): 5891–96.

Patel, Hiren P., Stuart L. Goldstein, John D. Mahan, Beth Smith, Cheryl B. Fried, Helen Currier, and Joseph T. Flynn. 2007. "A Standard, Noninvasive Monitoring of Hematocrit Algorithm Improves Blood Pressure Control in Pediatric Hemodialysis Patients." *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 2 (2): 252–57.

Petersson, Klara, Ola Jakobsson, Pelle Ohlsson, Per Augustsson, Stefan Scheduling, Johan Malm, and Thomas Laurell. 2018. "Acoustofluidic Hematocrit Determination." *Analytica Chimica Acta* 1000 (February): 199–204.

Pries, A. R., G. Kanzow, and P. Gaetgens. 1983. "Microphotometric Determination of Hematocrit in Small Vessels." *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 245 (1): H167–77.

Ranucci, Marco, Bonizella Biagioli, Sabino Scolletta, Giovanni Grillone, Anna Cazzaniga, Iolter Cattabriga, Giuseppe Isgro, and Pierpaolo Giomarelli. 2006. "Lowest Hematocrit on Cardiopulmonary Bypass Impairs the Outcome in Coronary Surgery: An Italian Multicenter Study from the National Cardioanesthesia Database." *Texas Heart Institute Journal / from the Texas Heart Institute of St. Luke's Episcopal Hospital, Texas Children's Hospital* 33 (February): 300–305.

Reddan, Donal N., Lynda Anne Szczech, Vic Hasselblad, Edmund G. Lowrie, Robert M. Lindsay, Jonathan Himmelfarb, Robert D. Toto, *et al.* 2005. "Intradialytic Blood Volume Monitoring in Ambulatory Hemodialysis Patients: A Randomized Trial." *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 16 (7): 2162–69.

Rodriguez, Hector J., Regina Domenici, Anne Diroll, and Irina Goykhman. 2005. "Assessment of Dry Weight by Monitoring Changes in Blood Volume during Hemodialysis Using Crit-Line." *Kidney International* 68 (2): 854–61.

Sakudo, Akikazu, Yukiko Hakariya Kato, Hirohiko Kuratsune, and Kazuyoshi Ikuta. 2009. "Non-Invasive Prediction of Hematocrit Levels by Portable Visible and near-Infrared Spectrophotometer." *Clinica Chimica Acta* 408 (1): 123–27.

Santoro, A., E. Mancini, F. Paolini, G. Cavicchioli, A. Bosetto, and P. Zucchelli. 1998. "Blood Volume Regulation during Hemodialysis." *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation* 32 (5): 739–48.

Sarkar, Manjula, and Vishal Prabhu. 2017. "Basics of Cardiopulmonary Bypass." *Indian Journal of Anaesthesia* 61 (9): 760–67.

Schifman, R. B., S. L. Rivers, and M. Delduca. 1985. "Predonation Hematocrit Measurement by Whole Blood Electrical Conductivity Assay." *Transfusion* 25 (3): 251–53.

Schmitt, Joseph M., Guan-Xiong Zhou, and Justin Miller. 1992. "Measurement of Blood Hematocrit by Dual-Wavelength near-IR Photoplethysmography." In *Physiological Monitoring and Early Detection Diagnostic Methods*, 1641:150–61. International Society for Optics and Photonics.

Schroeder, Kevin L., Judith E. Sallustio, and Edward A. Ross. 2004. "Continuous Haematocrit Monitoring during Intradialytic Hypotension: Precipitous Decline in Plasma Refill Rates." *Nephrology Dialysis Transplantation* 19 (3): 652–56.

Secomski, W, A Nowicki, F Guidi, P Tortoli, and P A Lewin. 2005. "Non-Invasive Measurement of Blood Hematocrit in Artery," *Bulletin of the Polish Academy of Sciences, Technical Sciences* 53(3).

Secomski, W., A. Nowicki, and P. Tortoli. 2001. "Estimation of Hematocrit by Means of Attenuation Measurement of Ultrasonic Wave in Human Blood." In *2001 IEEE Ultrasonics Symposium. Proceedings. An International Symposium (Cat. No.01CH37263)*, 2:1277–80. Atlanta, GA, USA: IEEE.

Secomski, Wojciech, Andrzej Nowicki, Francesco Guidi, Piero Tortoli, and Peter A. Lewin. 2003. "Noninvasive in Vivo Measurements of Hematocrit." *Journal of Ultrasound in Medicine: Official Journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 22 (4): 375–84.

Selby, Nicholas M., and Christopher W. McIntyre. 2006. "A Systematic Review of the Clinical Effects of Reducing Dialysate Fluid Temperature." *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 21 (7): 1883–98.

Steuer, R. R., M. J. Germain, J. K. Leypoldt, and A. K. Cheung. 1998. "Enhanced Fluid Removal Guided by Blood Volume Monitoring during Chronic Hemodialysis." *Artificial Organs* 22 (8): 627–32.

Steuer, R. R., J. K. Leypoldt, A. K. Cheung, D. H. Harris, and J. M. Conis. 1994. "Hematocrit as an Indicator of Blood Volume and a Predictor of Intradialytic Morbid Events." *ASAIO Journal (American Society for Artificial Internal Organs : 1992)* 40 (3): M691-6.

Swaminathan, Madhav, Barbara G. Phillips-Bute, Peter J. Conlon, Peter K. Smith, Mark F. Newman, and Mark Stafford-Smith. 2003. "The Association of Lowest Hematocrit during Cardiopulmonary Bypass with Acute Renal Injury after Coronary Artery Bypass Surgery." *The Annals of Thoracic Surgery* 76 (3): 784–91; discussion 792.

Tamaka, Y, T Morimoto, H Watari, and M Miyazaki. 1976. "Continuous Monitoring of Circulating Blood Hematocrit." *The Japanese Journal of Physiology* 26 (4): 345–53.

Trebbels, Dennis, Roland Zengerle, and David Hradetzky. 2009. "Hematocrit Measurement - A High Precision on-Line Measurement System Based on Impedance Spectroscopy for Use in Hemodialysis Machines." In *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering*,

September 7 - 12, 2009, Munich, Germany, edited by Olaf Dössel and Wolfgang C. Schlegel, 247–50.

Treo, E. F., C. J. Felice, M. C. Tirado, M. E. Valentinuzzi, and D. O. Cervantes. 2005a. “Hematocrit Measurement by Dielectric Spectroscopy.” *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 52 (1): 124–27.

Treo, E.F., C.J. Felice, M.C. Tirado, M.E. Valentinuzzi, and D.O. Cervantes. 2005b. “Comparative Analysis of Hematocrit Measurements by Dielectric and Impedance Techniques.” *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 52 (3): 549–52.

Tsui, Po Hsiang, Chih-Chung Huang, and Shyh-Hau Wang. 2005. “A Feasibility Study on the Determination of Blood Hematocrit with Nakagami Parameter Calculated from Backscattered Signals.” In *2005 IEEE Ultrasonics Symposium*, 1683–86.

Utley, Joe R. 1992. “Pathophysiology of Cardiopulmonary Bypass: A Current Review.” *The AustralAsian Journal of Cardiac and Thoracic Surgery* 1 (2): 46–52.

Walton, Howard G, David Boucher, and Dan Linne. 1999. “Clinical Evaluation of the CDI-100 In-Line Hematocrit/ Saturation Monitor” 31 (2): 4.

Ward, Richard A., and Claudio Ronco. 2009. “Improvements in Technology: A Path to Safer and More Effective Hemodialysis.” *Blood Purification* 27 (1): 6–10.

Wennecke, Gitte. 2004. “Hematocrit - a Review of Different Analytical Methods,”

Wu, Xiaomao, Shu-jen Yeh, Tzyy-Wen Jeng, and Omar S. Khalil. 2000. “Noninvasive Determination of Hemoglobin and Hematocrit Using a Temperature-Controlled Localized Reflectance Tissue Photometer.” *Analytical Biochemistry* 287 (2): 284–93.

Xu, Xiangqun, and Zhongping Chen. 2008. "Evaluation of Hematocrit Measurement Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography." In 2008 International Conference on BioMedical Engineering and Informatics, 2:615–18.

Xu, Xiangqun, Lingfeng Yu, and Zhongping Chen. 2008. "Effect of Erythrocyte Aggregation on Hematocrit Measurement Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography." IEEE Transactions on Biomedical Engineering 55 (12): 2753–58.

Yamakoshi, Ken-Ichi, Hideaki Shimazu, Tatsuo Togawa, Masakazu Fukuoka, and Hiroshi Ito. 1980. "Noninvasive Measurement of Hematocrit by Electrical Admittance Plethysmography Technique." IEEE Transactions on Biomedical Engineering BME-27 (3): 156–61.

Yaskulka, S. M., J. Burnside, D. Bennett, V. Olshove, and J. Langwell. 1995. "Accuracy of In-Line Venous Saturation and Hematocrit Monitors in Pediatric Perfusion." The Journal of Extra-Corporeal Technology 27 (3): 132–36.

Yoshida, Izumi, Katsunobu Ando, Yasuhiro Ando, Susumu Ookawara, Masayuki Suzuki, Hiroaki Furuya, Osamu Iimura, *et al.* 2010. "A New Device to Monitor Blood Volume in Hemodialysis Patients." Therapeutic Apheresis and Dialysis: Official Peer-Reviewed Journal of the International Society for Apheresis, the Japanese Society for Apheresis, the Japanese Society for Dialysis Therapy 14 (6): 560–65.

Zeidan, Adel, Lior Golan, and Dvir Yelin. 2016. "In Vitro Hematocrit Measurement Using Spectrally Encoded Flow Cytometry." Biomedical Optics Express 7 (10): 4327–34.

1.5 Présentation de la méthode Doppler continu

1.5.1 Historique

Comme il a été déjà mentionné, les ultrasons sont une modalité particulièrement intéressante pour les applications médicales. En effet, le coût et la complexité des systèmes d'acquisition ultrasonores sont faibles et l'onde acoustique peut se propager dans les milieux optiquement opaques et/ ou complexe sans perdre sa cohérence. En particulier, l'échographie est devenue une modalité largement utilisée par les médecins afin d'imager le corps humain. Bien que dans de nombreux cas les images fournies par les IRM restent la référence qualitative, de nombreuses méthodes d'imageries ultrasonores extrêmement prometteuses sont actuellement en pleine explosion. Nous pouvons par exemple citer l'imagerie ultrarapide et fonctionnelle ainsi que la microscopie par localisation ultrasonore (Macé *et al.* 2011, Tanter et Fink 2014, Errico *et al.* 2015).

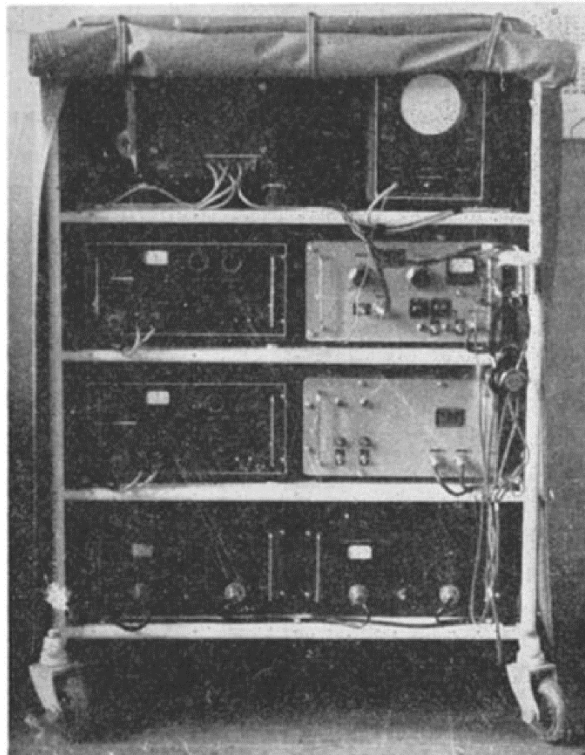


Figure 1. 13 – Photographie du système Doppler de Satomura en 1957.

Parmi les différents modes de l'échographie se trouve l'échographie Doppler. L'échographie Doppler consiste à utiliser le signal Doppler ultrasonore pour mesurer le débit ou la vitesse du sang s'écoulant *in-vivo*. Cette technique utilise le célèbre effet Doppler où un décalage fréquentiel du signal ultrasonore est induit par le mouvement des globules rouges de manière proportionnelle à leur vitesse. La première étude portant sur le sujet fût l'œuvre de Shigeo Satomura en 1957 (Figure 1. 13) qui proposa d'évaluer les fonctions cardiaques d'un sujet humain à l'aide du signal Doppler ultrasonore du cœur. Ce signal était enregistré sur papier à l'aide d'un oscillographe. Par la suite, l'échographie Doppler se développa en deux grandes techniques distinctes, le Doppler pulsé (Pulsed Wave Doppler, Baker 1970) et le Doppler continu (Continuous Wave Doppler, Franklin *et al.* 1961). Comme suggéré par leurs noms, la différence fondamentale entre ces deux techniques réside dans leurs manières d'émettre et de recevoir le signal ultrasonore. Plus précisément la technique Doppler pulsé telle que conçue initialement utilise un seul transducteur émettant et recevant les échos ultrasonores de manière alternée. La technique Doppler continu utilise en revanche deux transducteurs, un en émission et l'autre en réception, pour émettre et recevoir en continu le signal ultrasonore. Le Doppler pulsé a pour avantage d'avoir une résolution spatiale alors que le Doppler continu permet d'obtenir un haut rapport signal sur bruit avec une faible complexité technique (Evans et McDicken 2003). Au-delà de ces deux approches, un nombre extrêmement élevé d'études ont été réalisées sur l'échographie Doppler. Celles-ci ont menées au fil des années au développement d'un large panel de méthodes d'imagerie. Une présentation de ces méthodes est hors du cadre de ce manuscrit. Nous pouvons toutefois noter que si la technique Doppler pulsé est toujours au cœur des avancées les plus pointues de l'imagerie

ultrasonore (Provost *et al.* 2015, Demené *et al.* 2017), la technique Doppler continu est en revanche dorénavant peu utilisée.

La technique Doppler continu permet donc d'avoir accès à la vitesse d'un écoulement de sang à l'aide d'un système d'acquisition simple. Elle possède aussi une sensibilité élevée ainsi que tous les autres avantages des ultrasons cités plus haut. Aussi, plusieurs grandeurs acoustiques sont corrélées aux états physiques et biologiques du sang, comme nous l'avons entrevu précédemment. Pour ces raisons, la technique Doppler continu est une approche particulièrement intéressante pour caractériser l'écoulement de sang *in-vitro*. En particulier, la haute sensibilité de la technique paraît idéale pour mesurer les bas débits utilisés en acoustophorèse ainsi que dans les méthodes de fractionnement du sang microfluidiques. Nous pouvons dans ce sens évoquer l'étude de Christopher *et al.* (1996, Figure 1. 14) qui proposa de mesurer des vitesses de l'ordre du millimètre par seconde dans la microcirculation à l'aide d'un système de Doppler continu.

Dans la suite de cette sous-partie, nous présentons les principes physiques généraux de la technique Doppler continu. Nous expliquons également comment estimer le contenu spectral du signal Doppler et évoquons pour finir quelques artefacts de mesure intrinsèquement présents dans ce dernier.

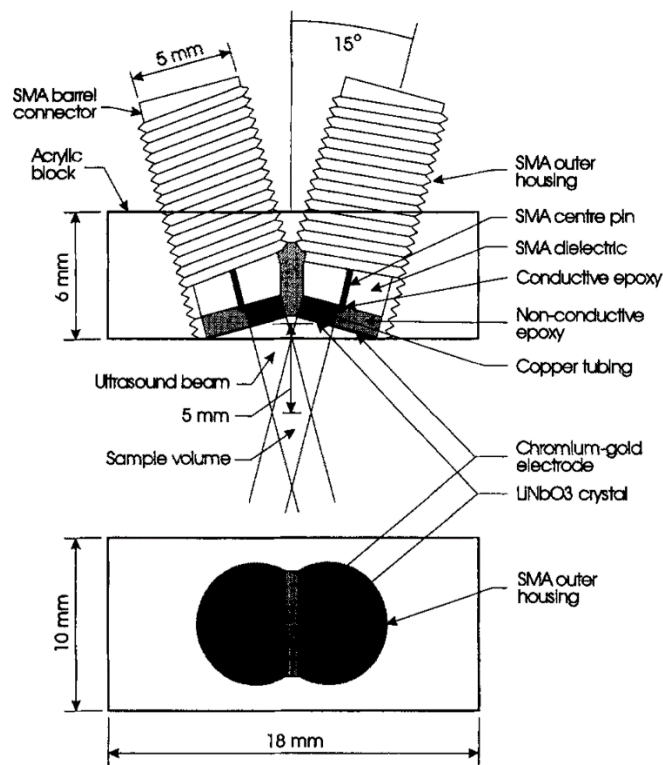


Figure 1. 14 – Schéma de la sonde Doppler continu utilisée par Christopher *et al.* (1996).

1.5.2 Principes physiques et traitement du signal

D'un point de vue formel, l'effet Doppler est facilement démontrable en considérant les changements successifs de référentiels intervenant lors de la rétrodiffusion d'une onde monochromatique par un diffuseur ponctuel en mouvement rectiligne uniforme. Une telle démonstration est donnée par Cobbold dans son livre « Foundations of Biomedical ultrasound » (Cobbold 2006).

En résumé, on peut rapidement démontrer l'égalité (1) en utilisant une transformée de Galilée entre les coordonnées du référentiel du laboratoire et celles du référentiel du

diffuseur. Le diffuseur s'éloigne à une vitesse v de l'émetteur de l'onde qui est fixe dans le référentiel du laboratoire.

$$f' = f - \frac{v \cdot k_t}{2\pi} \quad (1)$$

Où k_t est le nombre d'onde de l'onde transmise, f sa fréquence pour un observateur situé dans le référentiel du laboratoire et f' sa fréquence pour un observateur situé dans le référentiel du diffuseur.

Cette équation met en évidence de manière simple l'effet Doppler : un récepteur dans le référentiel du diffuseur percevra l'onde avec une diminution de sa fréquence proportionnelle à la vitesse v du diffuseur dans le référentiel du laboratoire soit une diminution de $-\frac{v \cdot k_t}{2\pi}$ Hz.

On considère maintenant que la rétrodiffusion de l'onde par le diffuseur est assimilable à l'émission d'une onde de fréquence f' par un point source. On peut alors montrer de la même manière qu'un récepteur fixe dans le référentiel du laboratoire percevra l'onde rétrodiffusée avec une fréquence f'' telle que :

$$f'' = f' + \frac{v \cdot k_r}{2\pi} \quad (2)$$

Où k_r est le nombre d'onde de l'onde rétrodiffusée.

En combinant les équations (1) et (2) il vient alors qu'un récepteur fixe dans le référentiel du laboratoire percevra l'onde rétrodiffusée avec une fréquence décalée de la fréquence Doppler f_D ayant pour expression :

$$f_D = -\frac{2|v|f_0 \cos\theta}{c} \quad (3)$$

Où θ est l'angle Doppler entre les nombres d'onde et le récepteur et f_0 la fréquence d'émission de l'onde. Il est à noter que le signe négatif devant l'expression est dû au fait que dans cet exemple le diffuseur s'éloigne de la sonde. Si la formule est dérivée dans le cas où le diffuseur se rapproche, l'expression devient positive.

Dans le cas d'une sonde de Doppler continu, le récepteur et l'émetteur sont deux éléments distincts et sont disposés dans la sonde à un angle φ l'un de l'autre (voir la Figure 1. 14 où cet angle est égal à 30°). On peut alors montrer (Cobbold 2006) que l'équation (3) devient :

$$f_D = -\frac{2|v|f_0 \cos\theta \cos\frac{\varphi}{2}}{c} \quad (4)$$

Supposons maintenant que notre diffuseur soit en mouvement rectiligne uniforme dans un tuyau. Le tuyau et la sonde Doppler continu sont plongés dans de l'eau. De manière intuitive, le signal ultrasonore reçu par le récepteur de la sonde ne sera alors pas uniquement dû à la rétrodiffusion du diffuseur mais aussi aux réflexions causées par les interfaces eau/tuyau. Si l'on s'intéresse seulement au signal total reçu tout en passant sous silence les effets physiques intervenant avant sa réception, celui-ci peut être modélisé très simplement comme suit :

$$S(t) = A_0 \cos(2\pi f_0 t + \varphi_0) + A_D \cos(2\pi [f_0 - f_D] t + \varphi_D) \quad (5)$$

Ici, le signal reçu est la somme d'un signal « porteur » d'amplitude A_0 , de fréquence f_0 et de phase φ_0 et d'un signal rétrodiffusé d'amplitude A_D , de fréquence $f_0 - f_D$ où f_D est le

décalage Doppler et de phase φ_D . Le signal porteur modélise les réflexions aux interfaces et le second correspond au signal rétrodiffusé présentant donc le décalage Doppler. On a $A_D \ll A_0$, le signal du diffuseur présentant une amplitude bien moindre que celle des interfaces.

En pratique, il serait peu optimal d'estimer le décalage fréquentiel Doppler en effectuant une analyse spectrale directe de $S(t)$ car ce décalage sera probablement couvert par la largeur spectrale du signal porteur. Il faut donc démoduler le signal Doppler du signal total pour pouvoir l'exploiter. La technique la plus populaire de démodulation est la démodulation par quadrature.

La démodulation par quadrature consiste à multiplier le signal $S(t)$ par un signal périodique de même fréquence ainsi qu'en parallèle par un autre signal périodique de même fréquence mais décalé d'une phase de $\frac{\pi}{2}$ soit analytiquement par les expressions $\cos(2\pi f_0 t)$ et $\sin(2\pi f_0 t)$. Ces deux multiplications permettent d'obtenir deux signaux distincts : les signaux I et Q . Le signal I est le composant « en phase » de $S(t)$ alors que le signal Q est le composant « en quadrature ». En pratique, l'opération peut être réalisée avec une simple carte analogique ou bien alors par des calculs numériques. L'exemple suivant, également donné par Cobbold (2006), illustre de manière analytique comment les signaux I et Q permettent d'isoler le signal Doppler. Les expressions des signaux I et Q obtenus après multiplication de $S(t)$ par $\cos(2\pi f_0 t)$ et $\sin(f_0 t)$ sont :

$$I(t) = A_0\{\cos(4\pi f_0 t + \varphi_0) + \cos\varphi_0\}A_D\{\cos(2\pi f_D t - \varphi_D) + \cos(2\pi[2f_0 - f_D]t + \varphi_D)\}$$

$$Q(t) = A_0\{\sin(4\pi f_0 t + \varphi_0) - \sin\varphi_0\} + A_D\{\sin(2\pi f_D t - \varphi_D) + \sin(2\pi[2f_0 - f_D]t + \varphi_D)\}$$

(6)

Supposons maintenant que l'on utilise un filtre passe-bande pour supprimer les composantes continues $\cos\varphi_0$ et $\sin\varphi_0$ ainsi que les composantes hautes fréquences en $4\pi f_0$. On arrive alors aux expressions suivantes :

$$I(t) = A_D \cos(2\pi f_D t - \varphi_D)$$

$$Q(t) = A_D \sin(2\pi f_D t - \varphi_D) \quad (7)$$

Basé sur l'équation (7), le signal Doppler peut alors être exprimé sous sa forme dite complexe ou en quadrature $D(t)$:

$$D(t) = I(t) + iQ(t) \quad (8)$$

En réalité, un écoulement comportant des diffuseurs dont on cherche à estimer la vitesse via l'effet Doppler ne comporte jamais une seule vitesse mais une distribution ordonnée de plusieurs vitesses. Quand on parle d'estimer la vitesse de l'écoulement, on fait ainsi en réalité référence à par exemple sa vitesse moyenne ou sa vitesse maximum. Ainsi, dans le cas du sang, lorsque le faisceau ultrasonore est rétrodiffusé par les globules rouges, il n'en ressortira non pas une seule fréquence Doppler mais une distribution de fréquences Doppler où chaque fréquence correspondra à une vitesse donnée suivant l'équation (4) (Brody et Meindl 1974, Angelsen 1980). Il est à noter qu'il est courant de rencontrer *in vivo* des écoulements de sang possédant des fréquences Doppler positives et négatives dû à des hétérogénéités du sens de l'écoulement. On se placera dans le reste du manuscrit dans un cas où tous les écoulements de sang considérés sont laminaires, stables et n'ont lieu que dans une seule direction, direction étant celle imposée par le gradient de pression à

l'intérieur du tube. L'écoulement de sang est de plus considéré comme incompressible et les effets non Newtoniens sont pour le moment négligés. L'écoulement de sang suit donc la loi de Poiseuille et le profil des vitesses du sang est parabolique et s'écrit de la manière suivante :

$$v(r) = v_{max} \left(1 - \frac{r^2}{R^2} \right) \quad (9)$$

Où v_{max} est la vitesse maximum du sang au centre du tube pour $r = 0$ et R est le rayon du tube.

Reprenons maintenant l'exemple précédent où le signal reçu total est modélisé par une somme de cosinus. On peut continuer de suivre le même raisonnement et ajouter un cosinus pour chaque fréquence Doppler correspondant à une vitesse $v(r)$. Si en plus on suppose que les signaux rétrodiffusés par les globules rouges ont une amplitude et une phase aléatoires, notre signal reçu total prend alors la forme suivante :

$$S(t) = A_0 \cos(2\pi f_0 t + \varphi_0) + \sum_{m=1}^M A_m \cos(2\pi [f_0 - f_m] t + \varphi_m) \quad (10)$$

Avec A_0 l'amplitude du signal porteur, f_0 sa fréquence et φ_0 sa phase. Le profil des vitesses $v(r)$ a été discrétisé en M vitesses et f_m , A_m ainsi que φ_m sont les M fréquences Doppler, amplitudes et phases y correspondant.

Une telle approche a notamment été utilisée pour l'étude de la statistique du signal Doppler ultrasonore par Mo et Cobbold (1986, 1989). Cette approche suppose en substance que l'écoulement de sang consiste en une collection de diffuseurs ponctuels indépendants

occupant une position spatiale aléatoire. Comme nous le verrons plus loin, cette hypothèse est fautive dans le cas du sang à un hématoците physiologique. Toutefois, elle permet d'utiliser des modèles simples afin de mieux comprendre et approximer le contenu spectral du signal Doppler.

Pour un écoulement de sang laminaire, Mo et Cobbold (1986, 1989) ont montré que le signal Doppler peut être considéré comme un processus aléatoire stationnaire au sens large, sur un intervalle de temps où le profil des vitesses reste quasi-constant. C'est-à-dire que, pour un écoulement de sang laminaire et stable, les caractéristiques statistiques du signal Doppler que sont sa moyenne et sa fonction d'autocorrélation peuvent être considérées comme indépendantes du temps. Mieux encore, les mêmes auteurs ont aussi démontré que le signal Doppler est un processus Gaussien de moyenne nulle, qui peut être en conséquence entièrement caractérisé par sa fonction d'autocorrélation $\mathcal{R}_x(\tau)$ (Mo et Cobbold 1986) :

$$\mathcal{R}(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} S(t)S^*(t - \tau)dt \quad (11)$$

Avec $S^*(t)$ qui est le complexe conjugué de $S(t)$.

Or, il est connu via le théorème de Wiener-Khintchine que la fonction d'autocorrélation d'un processus aléatoire stationnaire au sens large est la transformée de Fourier inverse de sa densité spectrale de puissance $S(f)$:

$$\mathcal{R}(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} S(f)e^{i2\pi f\tau} df \quad (12)$$

La densité spectrale de puissance $S(f)$ du signal Doppler $S(t)$ est définie comme suit :

$$S(f) = \lim_{T \rightarrow \infty} E \left[\frac{|X(f)|^2}{T} \right] \quad (13)$$

Où E est l'espérance mathématique, $X(f)$ la transformée de Fourier de $S(t)$ et T le temps sur lequel on estime cette dernière.

La densité spectrale de puissance peut être vue comme une estimation de la répartition fréquentielle de la puissance d'un signal. Dans le cas d'une onde ultrasonore captée par un transducteur et convertie en un signal électrique, l'unité de la densité spectrale de puissance est donc le Volt au carré par Hertz : $V^2 \cdot Hz^{-1}$.

En pratique, on travaille bien sûr avec des signaux que l'on estime sur des temps finis et on approxime donc $S(f)$ comme étant directement égale à $\frac{|X(f)|^2}{T}$ sur le temps d'acquisition T . Le problème de cette estimation de $S(f)$, appelée périodogramme, est qu'il peut être démontré mathématiquement qu'elle est biaisée. Une façon de s'affranchir de ce biais est de découper le signal $S(t)$ en N segments de durées égales se superposant partiellement les uns avec les autres. La densité spectrale de puissance $S(f)$ est alors estimée comme la moyenne du carré du module de la transformée de Fourier de chaque segment. Cette méthode est dénommée méthode de Welch, du nom de l'auteur de l'article original la présentant (Welch 1967, Figure 1. 15). Il peut être démontré mathématiquement qu'elle n'est pas biaisée donc, contrairement au périodogramme. De par le processus de moyenne, la méthode de Welch permet également de diminuer le bruit dans l'estimation de $S(f)$, toutefois au prix d'une résolution fréquentielle moins élevée.

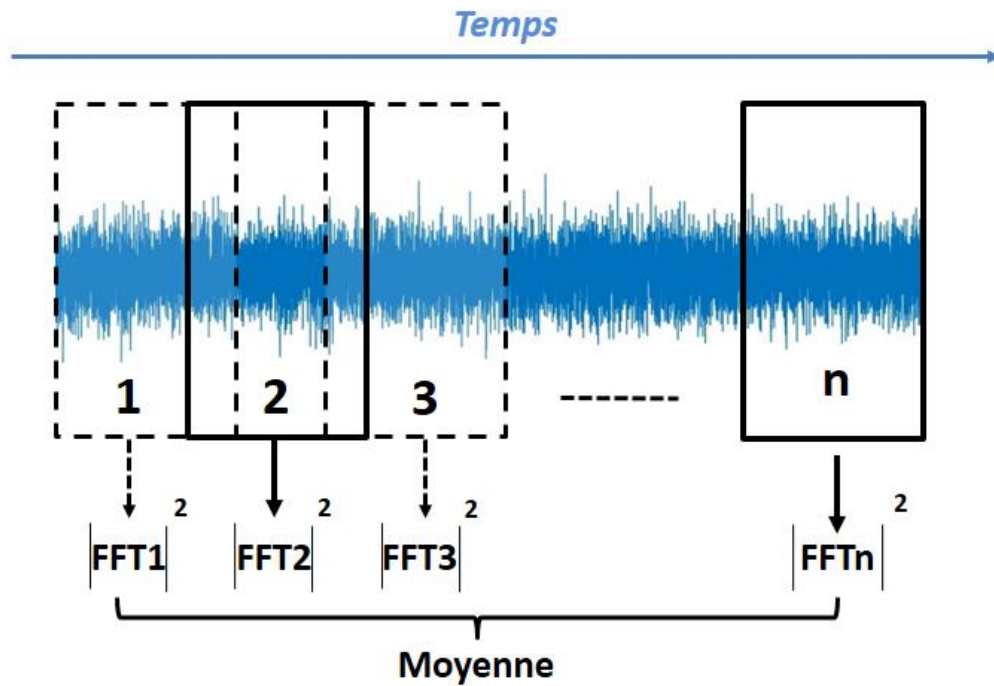


Figure 1. 15 – Illustration de la méthode de Welch. Le carré du module de la transformée de Fourier rapide (FFT) est calculé puis moyenné sur n segments temporels se chevauchant.

Pour résumé, le signal Doppler du sang est un processus statistique qui, dans le cas d'un profil des vitesses quasi-constant, peut ˆtre entièrement caractérisé par sa fonction d'autocorrélation et donc par sa densité spectrale de puissance. Cette densité spectrale de puissance peut ˆtre estimée de manière non biaisée en utilisant la méthode de Welch. Cette méthode consiste à estimer la densité spectrale de puissance d'un signal temporel comme la moyenne du carré du module des transformées de Fourier de plusieurs segments de durées égales partiellement superposés et extraits de ce signal.

Reprenons maintenant l'équation (10) :

$$S(t) = A_0 \cos(2\pi f_0 t + \varphi_0) + \sum_{m=1}^M A_m \cos(2\pi [f_0 - f_m] t + \varphi_m) \quad (10)$$

On fait l'hypothèse simplificatrice que les A_m et φ_m sont distribués suivant une loi uniforme continue, respectivement entre 0 et $1mV$ et 0 et 2π . On suppose également que la fréquence Doppler maximum est de 250Hz et que la densité spectrale de puissance est estimée avec la méthode de Welch sur un signal temporel de 3s découpé en 3 segments non superposés. La densité spectrale de puissance de $S(t)$ après échantillonnage et démodulation en quadrature aura alors l'allure montrée par la Figure 1. 16 :

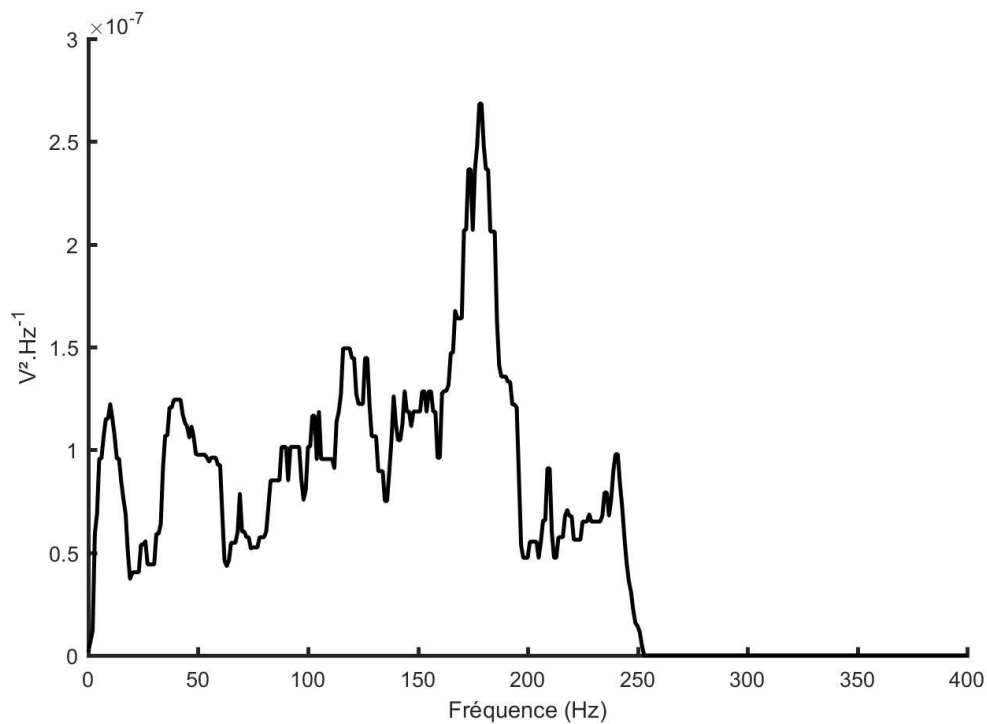


Figure 1. 16 – Densité spectrale de puissance d'un signal Doppler modélisé à partir de l'équation (10).

Nous avons avec la Figure 1. 16 un premier aperçu de l'allure attendue de nos spectres Doppler expérimentaux. Nous pouvons notamment observer le « speckle » (tavelure en

français), qui est le terme désignant les fluctuations aléatoires présentes dans le spectre. D'un point de vue traitement du signal, le speckle provient de la somme des cosinus aux amplitudes et phases aléatoires dans l'expression de $S(t)$. D'un point de vue de la physique, il est dû au fait que les ultrasons à des fréquences médicales ne peuvent pas localiser individuellement les globules rouges car ces derniers sont très petits devant la longueur d'onde (Cloutier 1997).

Pour finir, l'équation (10) fait une simplification forte sur le signal Doppler en négligeant l'influence de son temps d'acquisition. En effet, si l'on prend un globule rouge isolé, la largeur spectrale du signal ultrasonore rétrodiffusé correspondant va être une fonction du temps que passe ce globule rouge dans le faisceau ultrasonore. Cette largeur spectrale va donc être une fonction des dimensions du faisceau ultrasonore ainsi que de la vitesse du globule rouge. Ainsi, le spectre Doppler réel d'un écoulement de sang présentera un étalement spectral (plus connu sous son équivalent anglais de « spectral broadening »), qui viendra notamment altérer la position de la fréquence Doppler maximale dans le spectre. Cet effet est décrit plus en détail et modélisé dans un article de Guidi *et al.* (2000).

1.5.3 Références

Angelsen, Bjorn A. J. 1980. "A Theoretical Study of the Scattering of Ultrasound from Blood." IEEE Transactions on Biomedical Engineering BME-27 (2): 61–67.

Baker, D.W. 1970. "Pulsed Ultrasonic Doppler Blood-Flow Sensing." IEEE Transactions on Sonics and Ultrasonics 17 (3): 170–84. <https://doi.org/10.1109/T-SU.1970.29558>.

Brody, W. R., and J. D. Meindl. 1974. "Theoretical Analysis of the CW Doppler Ultrasonic Flowmeter." IEEE Transactions on Biomedical Engineering BME-21 (3): 183–92.

- Christopher, D. A., P. N. Burns, J. Armstrong, and F. S. Foster. 1996. "A High-Frequency Continuous-Wave Doppler Ultrasound System for the Detection of Blood Flow in the Microcirculation." *Ultrasound in Medicine & Biology* 22 (9): 1191–1203.
- Cloutier, Guy, and Zhao Qin. 1997. "Ultrasound Backscattering from Non-Aggregating and Aggregating Erythrocytes—A Review." *Biorheology* 34 (6): 443–70.
- Cobbold, R. S. C. 2006. *Foundations of Biomedical Ultrasound* - Richard S. C. Cobbold. Oxford: Oxford University Press.
- Couture, Olivier, Vincent Hingot, Baptiste Heiles, Pauline Muleki Seya, and Mickaël Tanter. 2018. "Ultrasound Localization Microscopy and Super-Resolution: A State of the Art." *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* PP (June): 1–1.
- Demene, Charlie, Jérôme Baranger, Miguel Bernal, Catherine Delanoe, Stéphane Auvin, Valérie Biran, Marianne Alison, *et al.* 2017. "Functional Ultrasound Imaging of Brain Activity in Human Newborns." *Science Translational Medicine* 9 (411).
- Errico, Claudia, Juliette Pierre, Sophie Pezet, Yann Desailly, Zsolt Lenkei, Olivier Couture, and Mickael Tanter. 2015. "Ultrafast Ultrasound Localization Microscopy for Deep Super-Resolution Vascular Imaging." *Nature* 527 (7579): 499–502.
- Evans, David H, and W. N. McDicken. 2000. *Doppler Ultrasound: Physics, Instrumentation and Signal Processing*, 2nd Edition. Hoboken: Wiley.
- Franklin, D. L., W. Schlegel, and R. F. Rushmer. 1961. "Blood Flow Measured by Doppler Frequency Shift of Back-Scattered Ultrasound." *Science (New York, N.Y.)* 134 (3478): 564–65.

Guidi, Gabriele, Cinzia Licciardello, and Simone Falteri. 2000. "Intrinsic Spectral Broadening (ISB) in Ultrasound Doppler as a Combination of Transit Time and Local Geometrical Broadening." *Ultrasound in Medicine & Biology* 26 (5): 853–62.

Macé, Emilie, Gabriel Montaldo, Ivan Cohen, Michel Baulac, Mathias Fink, and Mickael Tanter. 2011. "Functional Ultrasound Imaging of the Brain." *Nature Methods* 8 (8): 662–64.

Mo, L. Y., and R. S. Cobbold. 1986. "A Stochastic Model of the Backscattered Doppler Ultrasound from Blood." *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* 33 (1): 20–27.

Mo, Larry Y.L., and R.S.C. Cobbold. 1986. "'Speckle' in Continuous Wave Doppler Ultrasound Spectra: A Simulation Study." *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 33 (6): 747–53.

Mo, L.Y.L., and R.S.C. Cobbold. 1989. "A Nonstationary Signal Simulation Model for Continuous Wave and Pulsed Doppler Ultrasound." *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 36 (5): 522–30.

Provost, Jean, Clement Papadacci, Charlie Demene, Jean-Luc Gennisson, Mickael Tanter, and Mathieu Pernot. 2015. "3-D Ultrafast Doppler Imaging Applied to the Noninvasive Mapping of Blood Vessels in Vivo." *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 62 (8): 1467–72.

Satomura, Shigeo. 1957. "Ultrasonic Doppler Method for the Inspection of Cardiac Functions." *The Journal of the Acoustical Society of America* 29 (11): 1181–85.

Tanter, Mickael, and Mathias Fink. 2014. "Ultrafast Imaging in Biomedical Ultrasound." *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 61 (1): 102–19.

Welch, P. 1967. "The Use of Fast Fourier Transform for the Estimation of Power Spectra: A Method Based on Time Averaging over Short, Modified Periodograms." IEEE Transactions on Audio and Electroacoustics 15 (2): 70–73.

1.6 Caractérisation ultrasonore du sang

Dans cette sous-partie, nous désignons par caractérisation du sang les procédés cherchant à qualifier, quantifier et comprendre les processus physiques et/ ou biologique y prenant place ou encore à estimer ses propriétés intrinsèques. De par le fait qu'ils sont non-invasifs et qu'ils peuvent pénétrer en profondeur dans des matériaux ou tissus biologiques opaques, les ultrasons ont largement été investigués dans ce but. Dans un premier temps, nous proposons de faire un bref état de l'art non exhaustif des études se rapportant à la caractérisation ultrasonore du sang. Nous approfondirons dans un deuxième temps le cas particulier de la caractérisation du sang par rétrodiffusion ultrasonore.

Remarque : Nous n'incluons pas dans cette sous-partie la mesure ultrasonore du débit du sang déjà abordée précédemment.

1.6.1 Un bref état de l'art

En 1951, Yesner *et al.* ont été les premiers à proposer de mesurer par ultrasons les changements de viscosité intervenant lors de la coagulation sanguine. Une étude de Peters *et al.* Repris ensuite cette idée en 1964 en corrélant cette fois-ci les résultats obtenus avec des mesures de viscosité par thromboélastographie. Quelques années plus tard, Jacobs *et al.* (1976) et Gybrauskas *et al.* (1978) ont ensuite proposé de corrélérer vitesse du son dans le sang et coagulation, respectivement en utilisant un spectrographe et un interféromètre ultrasonores. Peu après, en 1979, Shung *et al.* publièrent une étude proposant d'évaluer

l'agrégation des globules rouges par rétrodiffusion à l'aide d'un simple transducteur ultrasonore.

Par la suite, une seconde étude de Shung *et al.* (1984) proposa une approche plus complète pour caractériser la coagulation. Plus précisément, il fut démontré dans l'étude que la vitesse des ultrasons, leur atténuation ainsi que leur puissance rétrodiffusée augmentaient toutes trois lors du processus. Cette approche utilisant plusieurs grandeurs acoustiques pour caractériser la coagulation se retrouva plus tard dans une série d'articles publiés entre 2000 et 2010 (Ossant *et al.* 2004, Huang *et al.* 2005a et 2005b, Huang *et al.* 2007, Huang *et al.* 2007, Libgot-Callé *et al.* 2008, Callé *et al.* 2009). Un résumé de ces études ainsi que d'autres méthodes proposées pour étudier la coagulation par ultrasons (comme par exemple l'élastographie ou le paramètre de Nakagami) peuvent être trouvés dans une revue de Huang *et al.* publiée en 2011.

Également dans les années 80, des études de Sigel *et al.* (1983) et de Yuan et Shung (1988a) observèrent que la puissance rétrodiffusée ultrasonore augmentait lorsqu'une agrégation des globules rouges était induite par une diminution du taux de cisaillement. Cette idée fût prolongée par la suite dans plusieurs publications étudiant l'agrégation au travers de la relation entre signal Doppler et taux de cisaillement (Cloutier et Shung 1993, Cloutier *et al.* 1996, Figure 1. 17). Un historique plus poussé des études menées jusqu'en 1997 sur le lien entre agrégation et ultrasons rétrodiffusés peut être lu dans une revue écrite par Cloutier et Quin (1997). Quelques années plus tard, une meilleure compréhension physique des liens entre agrégation et rétrodiffusion ultrasonore fut développée (Fontaine *et al.* 2002, 2003 et Savéry *et al.* 2001, 2005, 2007). Ont ensuite émergé plusieurs études proposant de caractériser l'agrégation en faisant correspondre des modèles théoriques de la puissance

ultrasonore rétrodiffusée avec des mesures expérimentales. Nous pouvons en tant qu'illustration citer les articles de Yu *et al.* (2007, 2009), Franceschini *et al.* (2009, 2010, 2011, 2013) et de De Monchy *et al.* (2016, 2018). Une revue écrite par Franceschini et Cloutier en 2013 présente plus en détails les différents modèles physiques développés et utilisés dans ces études.

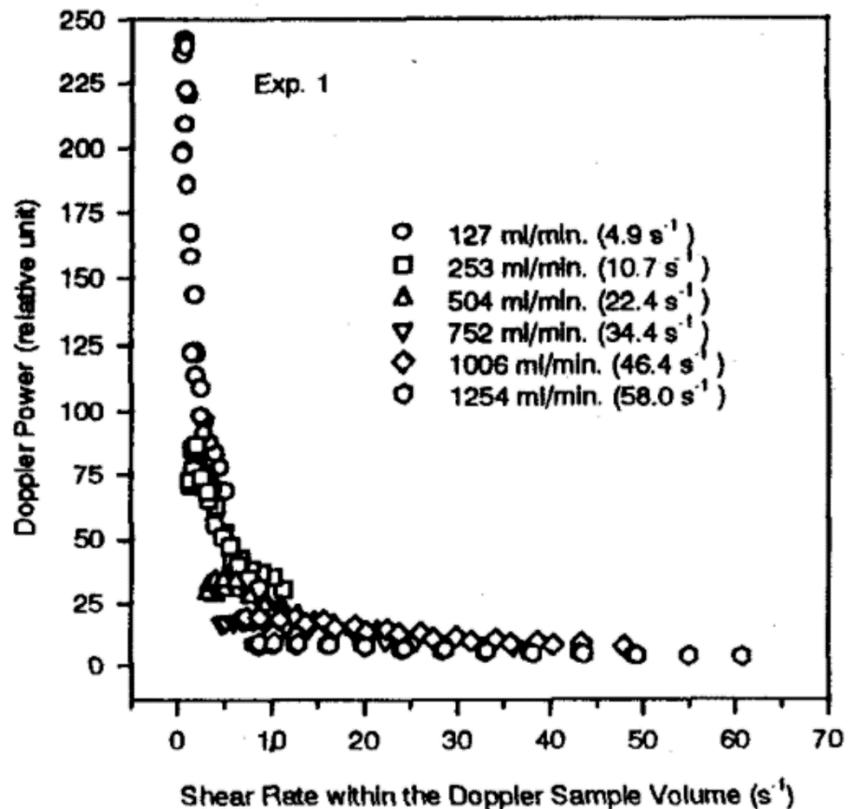


Figure 1. 17 – Evolution de la puissance du spectre Doppler ultrasonore avec le taux de cisaillement dans le sang pour plusieurs débits (Cloutier *et al.* 1996).

Pour finir, nous pouvons également faire référence à quelques études proposant de caractériser la coagulation du plasma sanguin seul (Machado *et al.* 1991, Calor-Filho et Machado 2006) ou encore les paramètres d'hémostase de manière générale (Viola *et al.*

2009). Aussi, nous pouvons citer une étude de Cloutier *et al.* (1996) proposant de caractériser les turbulences de l'écoulement de sang à partir du spectre Doppler.

1.6.2 *Rétrodiffusion des ultrasons par le sang*

Nous avons employé précédemment le terme de « puissance rétrodiffusée » pour décrire les expériences cherchant à quantifier la rétrodiffusion des ultrasons dans le sang. Nous allons maintenant en donner une définition plus formelle. Intéressons-nous tout d'abord à la section transverse de diffusion (plus souvent rencontrée sous sa version anglaise de « scattering cross-section »). Sa définition pour une onde plane incidente ultrasonore est donnée par Cobbold (2006) :

« Physiquement, la section transverse de diffusion est l'aire du front d'onde incident qui contient une quantité de puissance incidente égale à la puissance diffusée par le diffuseur. »

Une définition analogue de la section transverse de diffusion notée σ_s peut alors être donnée par :

$$\sigma_s = \frac{\text{Moyenne temporelle de la puissance diffusée totale}}{\text{Moyenne temporelle de l'intensité incidente}}$$

On voit notamment avec cette définition que l'unité de σ_s est égale à du Watt sur du Watt/mètre carré et donc à du mètre carré, d'où son appellation de section. La section transverse de rétrodiffusion σ_b (« backscattering cross-section) est ensuite donnée par la valeur de σ_s prise uniquement dans la direction opposée à l'émission.

Si le diffuseur est un globule rouge isolé, la connaissance de la section transverse de rétrodiffusion devrait donc permettre de quantifier la puissance ultrasonore rétrodiffusée par celui-ci. Mais qu'en est-il du sang qui est une collection d'un très grand nombre de globules rouges ? Le coefficient de rétrodiffusion du sang σ_{BSC} (« backscattering coefficient ») est défini comme la section transverse de rétrodiffusion σ_s rapportée à un élément de volume contenant un nombre représentatif de globules rouge (Cobbold 2006). Quelle est alors l'expression de σ_{BSC} et quels paramètres physiques fait-elle intervenir ?

L'expression de la section transverse de rétrodiffusion est la suivante pour un globule rouge assimilé à un diffuseur ponctuel en diffusion de Rayleigh (Cloutier et Quin 1997, Cobbold 2006) :

$$\sigma_s = V_{RBC}^2 \pi^2 \left(\frac{f}{c}\right)^4 \left[\frac{\kappa_{RBC} - \kappa_P}{\kappa_P} + \frac{\rho_P - \rho_{RBC}}{\rho_{RBC}} \right]^2 \quad (14)$$

Où V_{RBC} est le volume du globule rouge, f la fréquence de l'onde incidente et c la vitesse du son dans le sang. Le terme entre crochet représente la rupture d'impédance acoustique entre le plasma sanguin et le globule rouge. κ_{RBC} et ρ_{RBC} sont la compressibilité et la densité du globule rouge et κ_P et ρ_P sont les expressions analogues pour le plasma. On voit notamment dans cette expression que la section transverse de rétrodiffusion augmente avec la puissance 4 de la fréquence d'émission, ce qui est un résultat inhérent à la diffusion de Rayleigh où les globules rouges sont petits devant la longueur d'onde. Plus généralement, Yuan et Shung (1988b) ont confirmé expérimentalement que cette dépendance fréquentielle est vraie pour le coefficient de rétrodiffusion du sang non agrégé en écoulement et ceci à des fréquences allant jusqu'à 30MHz.

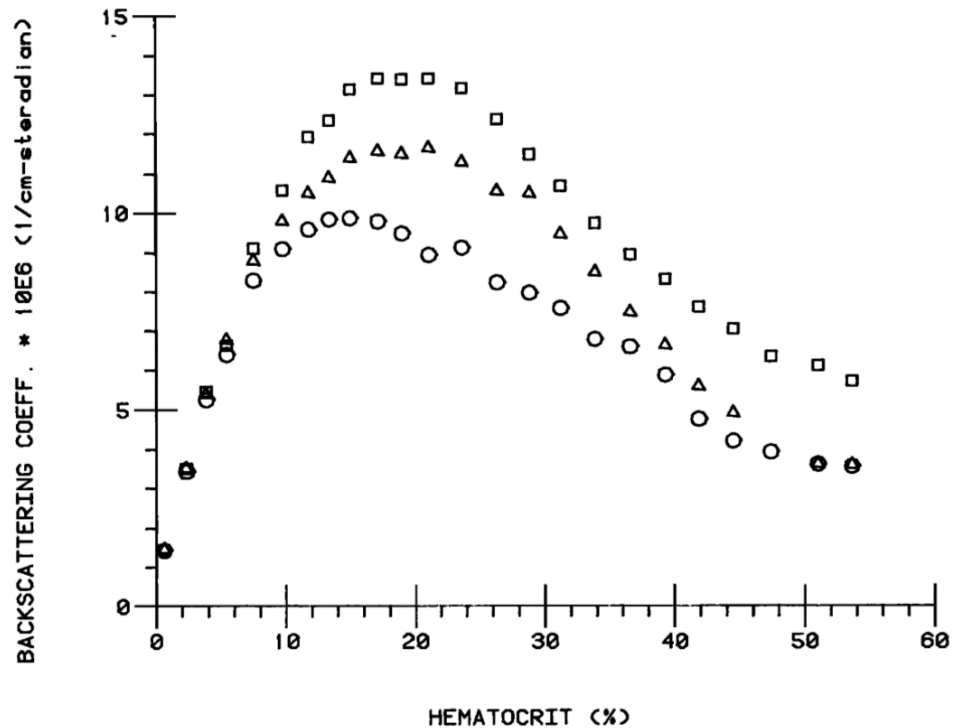


Figure 1. 18 – Mesure du coefficient de rétrodiffusion ultrasonore en fonction de l’hématocrite pour du sang bovin stationnaire (triangles), en écoulement uniforme (cercles) et en écoulement turbulent (carrés) (Shung *et al.* 1984).

Lorsque l’on vient considérer le coefficient de rétrodiffusion du sang et non plus seulement la section transverse de diffusion, l’hématocrite est un paramètre dont l’intervention semble assez naturelle. Une étude de Shung *et al.* (1976) a ainsi démontré expérimentalement que la relation entre le coefficient de rétrodiffusion du sang et l’hématocrite n’est pas linéaire. Plus précisément, le coefficient de rétrodiffusion augmente avec l’hématocrite jusqu’à une certaine valeur crête puis décroît ensuite. Dans cette étude, la valeur crête fût identifiée à un hématocrite d’environ 26%. Puis, une seconde étude également menée par Shung *et al.* (1984, Figure 1. 18) montra que le pic se situait aux alentours de 13% pour du sang bovin en écoulement non agrégé. Cette étude montra de plus que cette valeur est vraie pour un

écoulement laminaire uniforme mais que la présence de turbulences peut causer un décalage du pic vers de plus hauts hémocrites.

Une telle relation entre hémocrite et coefficient de rétrodiffusion ne peut s'expliquer par un modèle sommant simplement la contribution de chaque globule rouge pour estimer la rétrodiffusion totale. Pour expliquer et modéliser la non-linéarité présente, un paramètre appelé le « packing factor » fût abondamment utilisé. Ce paramètre, initialement dérivé par Twersky (1987), permet de modéliser la diffusion de diffuseurs corrélés spatialement. Dans le cas du sang, cette corrélation spatiale provient de la densité élevée des globules rouges. Ceux-ci ne peuvent effectivement plus être considérés comme des diffuseurs à la position spatiale aléatoire au-delà d'un certain hémocrite. La corrélation spatiale va notamment entraîner des interférences destructives lors de la rétrodiffusion de l'onde par les globules rouges. Ces interférences vont alors provoquer la diminution du coefficient de rétrodiffusion pour un hémocrite au-delà d'environ 13%, qui est la valeur crête évoquée au paragraphe précédent. La forme la plus générale du packing factor s'écrit de la manière suivante (Bascom et Cobbold 1995) :

$$W(H) = \frac{(1 - H)^{m+1}}{[1 + H(m - 1)]^{m-1}} \quad (15)$$

Avec H étant l'hémocrite et m une quantité (Bascom et Cobbold (1995) ont proposé le terme de « packing dimension ») reflétant la forme géométrique par laquelle les globules rouges sont approximés en tant que diffuseurs dans la théorie de Twersky (1987). Plus précisément une valeur de m égale à 1, 2 et 3 correspond respectivement à des globules rouges modélisés par des plaques, des cylindres ou des sphères. Notamment, Yuan et Shung (1988a, Figure 1. 19) ont montré que des globules rouges non agrégés en écoulement

laminaire et uniforme correspondent à $m = 3$. Aussi, la valeur de m gouverne la valeur d'hématocrite crête. Plus m est élevée et plus la valeur crête sera faible.

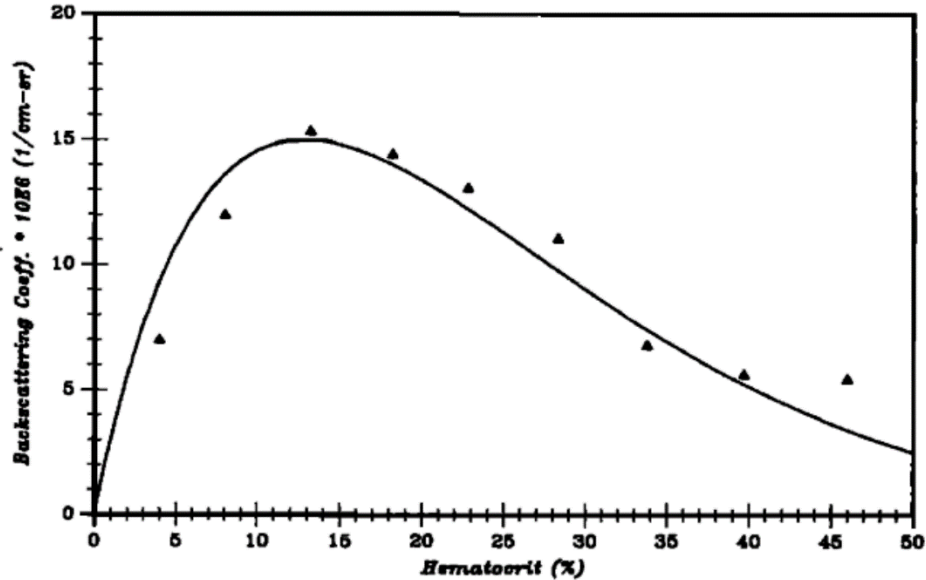


Figure 1. 19 – Mesures du coefficient de rétrodiffusion ultrasonore dans du sang de porc ajustées avec un modèle « packing factor » (Yuan et Shung 1988a).

Avec le packing factor, une des modélisations les plus simples du coefficient de rétrodiffusion dans le sang est donnée par le modèle « particle » de Mo et Cobbold (1986). Dans ce modèle, les globules rouges sont considérés comme des diffuseurs identiques de volume V_{rbc} et l'expression du coefficient de rétrodiffusion est la suivante :

$$\sigma_{BSC} = \sigma_s \left(\frac{H}{V_{rbc}} \right) W \quad (16)$$

Ce modèle et l'équation (15) permettent notamment de comprendre schématiquement comment intervient le packing factor pour prendre en compte la décroissance du coefficient de rétrodiffusion à partir d'un certain hématocrite. Lorsque H est proche de 0, W est proche

de 1 est n'a pas ou peu d'influence sur σ_{BSC} qui sera principalement gouverné par le terme $\sigma_s \left(\frac{H}{V_{rbc}} \right)$. Lorsque H augmente, W décroît et la valeur crête de H sera l'hématocrite à partir duquel la décroissance de W prend le dessus sur l'augmentation de $\sigma_s \left(\frac{H}{V_{rbc}} \right)$. Autrement dit la valeur crête de H est l'hématocrite pour lequel l'influence de la corrélation spatiale des globules rouges devient prépondérante sur celle de leur nombre.

Une autre approche pour modéliser le coefficient de rétrodiffusion est de considérer le sang non plus comme une collection de diffuseurs mais comme un milieu continu dont les propriétés acoustiques fluctuent localement (Angelsen 1980). Cependant, le modèle que nous retiendrons tout particulièrement est une approche dite « hybride » proposée par Mo et Cobbold (1992) combinant modèle « particule » et modèle continu. Ici le volume de sang est divisé en volumes élémentaires ΔV plus petits que $\left(\frac{\lambda}{10} \right)^3$ où λ est la longueur d'onde ultrasonore. Ce dimensionnement permet de considérer la phase de l'onde ultrasonore incidente comme étant constante pour un volume élémentaire donné (Bascom et Cobbold 1996). Il est alors postulé que le nombre de globules rouges dans chaque volume élémentaire est la somme d'un nombre moyen de globules rouges plus une fluctuation autour de ce nombre. Le nombre moyen de globules rouges est de plus supposé identique pour chaque volume élémentaire et de valeur constante au cours du temps. En sommant la contribution à la rétrodiffusion de chaque volume élémentaire, il vient alors que la pression rétrodiffusée par tout le volume de sang est la somme d'une composante cohérente (dénommé terme cristallographique par Mo et Cobbold) et d'une composante incohérente (terme de fluctuation, Figure 1. 20). De manière plus imagée, la composante cohérente est celle correspondant à une distribution ordonnée et périodique de globules rouge dans

chaque volume élémentaire alors que la composante incohérente correspond à des fluctuations locales de cette distribution. La composante cohérente étant supposée négligeable devant la composante incohérente, la pression acoustique rétrodiffusée est alors due uniquement à cette dernière, soit à la fluctuation locale de l'arrangement spatial des globules rouges. Au final, l'expression du coefficient de rétrodiffusion est la suivante :

$$\sigma_{BSC} = \sigma_s \frac{\xi}{\Delta V} \quad (17)$$

Où ξ est la variance du nombre de globules rouges dans les volumes élémentaires ΔV c'est à dire la fluctuation de ce nombre autour de sa valeur moyenne. S'il peut être rapidement montré que l'expression (17) est équivalente à l'expression (16), le modèle hybride fournit une interprétation élégante de la rétrodiffusion des ultrasons par le sang : *le signal ultrasonore rétrodiffusé par le sang n'est pas directement dépendant de l'hématocrite mais des fluctuations locales du nombre de globules rouges, fluctuations qui sont proportionnelles à l'hématocrite*. Plus important dans le cadre de ce manuscrit, le modèle nous indique également un point important pour ce qui est de la mesure de cette rétrodiffusion : si l'on considère que le coefficient de rétrodiffusion est une variable dont chaque volume élémentaire est une réalisation, il est impératif de prendre en compte un nombre suffisant de volumes élémentaires pour estimer correctement ce premier.

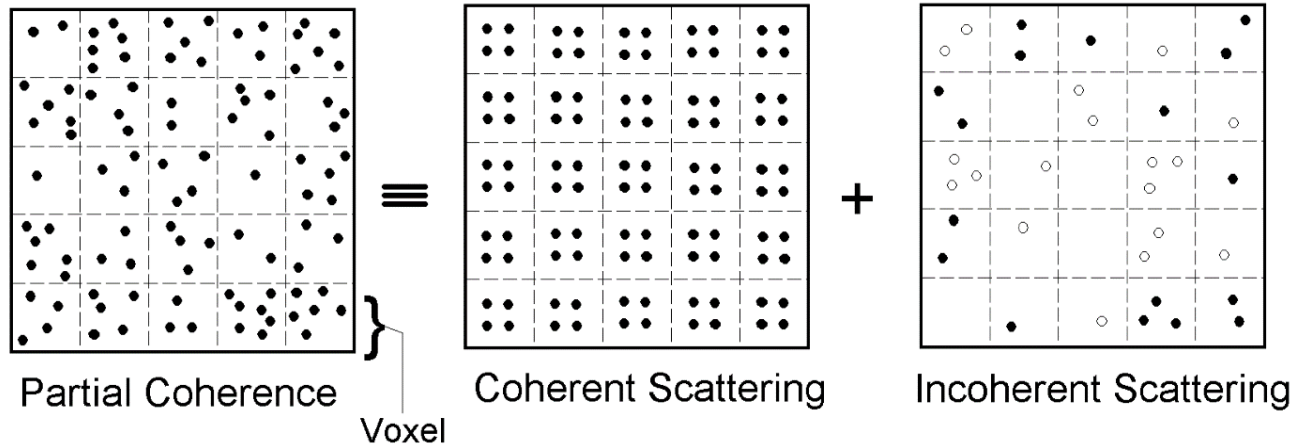


Figure 1. 20 – Illustration des composantes cohérentes et incohérentes dans le modèle hybride du coefficient de rétrodiffusion ultrasonore de Mo et Cobbold (Cobbold 2006).

Les modèles présentés ci-dessus ne sont pas sans limitations. Notamment, l'inconvénient majeur du « packing factor » est qu'il ne tient pas compte de la possible présence d'agrégats de globules rouges. Ainsi, les modèles se basant uniquement sur le « packing factor » ne contiennent aucun paramètre permettant de prendre en compte les structures complexes formées par les globules rouges agrégés. Pour cette raison, toutes les études présentées lors de notre état de l'art et proposant de caractériser l'agrégation par rétrodiffusion ont été conduites avec des modèles physiques plus poussés. Dans ces modèles, le « packing factor » n'est qu'un paramètre parmi d'autres. Une revue plus détaillée des modèles incorporant l'agrégation ne sera pas abordée dans ce manuscrit. Nous invitons cependant le lecteur intéressé à se référer à la revue de Franceschini et Cloutier (2013).

1.6.3 Références

- Angelsen, B. A. J. 1980. "A Theoretical Study of the Scattering of Ultrasound from Blood." *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* BME-27 (2): 61–67.
- Bascom, P. A., and R. S. Cobbold. 1995. "On a Fractal Packing Approach for Understanding Ultrasonic Backscattering from Blood." *The Journal of the Acoustical Society of America* 98 (6): 3040–49.
- . 1996. "Origin of the Doppler Ultrasound Spectrum from Blood." *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* 43 (6): 562–71.
- Callé, Rachel, Camille Plag, Frédéric Patat, and Frédéric Ossant. 2009. "Interest of the Attenuation Coefficient in Multiparametric High Frequency Ultrasound Investigation of Whole Blood Coagulation Process." *The Journal of the Acoustical Society of America* 125 (1): 530–38.
- Calor-Filho, Marcos Muniz, and João Carlos Machado. 2006. "Measurement of the Ultrasonic Attenuation Coefficient of Human Blood Plasma during Clotting in the Frequency Range of 8 to 22 MHz." *Ultrasound in Medicine & Biology* 32 (7): 1055–64.
- Cloutier, C., and K. K. Shung. 1993. "Study of Red Cell Aggregation in Pulsatile Flow from Ultrasonic Doppler Power Measurements." *Biorheology* 30 (5–6): 443–61.
- Cloutier, G., Z. Qin, L. G. Durand, and B. G. Teh. 1996. "Power Doppler Ultrasound Evaluation of the Shear Rate and Shear Stress Dependences of Red Blood Cell Aggregation." *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* 43 (5): 441–50.
- Cloutier, Guy, Louis Allard, and Louis-Gilles Durand. 1996. "Characterization of Blood Flow Turbulence With Pulsed-Wave and Power Doppler Ultrasound Imaging." *Journal of Biomechanical Engineering* 118 (3): 318–25.

Cloutier, Guy, and Zhao Qin. 1997. "Ultrasound Backscattering from Non-Aggregating and Aggregating Erythrocytes—A Review." *Biorheology* 34 (6): 443–70.

Cobbold, R. S. C. 2006. *Foundations of Biomedical Ultrasound* - Richard S. C. Cobbold. Oxford: Oxford University Press.

Fontaine, Isabelle, and Guy Cloutier. 2003. "Modeling the Frequency Dependence (5-120 MHz) of Ultrasound Backscattering by Red Cell Aggregates in Shear Flow at a Normal Hematocrit." *The Journal of the Acoustical Society of America* 113 (5): 2893–2900.

Fontaine, Isabelle, David Savéry, and Guy Cloutier. 2002. "Simulation of Ultrasound Backscattering by Red Cell Aggregates: Effect of Shear Rate and Anisotropy." *Biophysical Journal* 82 (4): 1696–1710.

Franceschini, Emilie, and Guy Cloutier. 2013. "Modeling of Ultrasound Backscattering by Aggregating Red Blood Cells." In *Quantitative Ultrasound in Soft Tissues*, 117–45. Springer, Dordrecht.

Franceschini, Emilie, Bloen Metzger, and Guy Cloutier. 2011. "Forward Problem Study of an Effective Medium Model for Ultrasound Blood Characterization." *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 58 (12): 2668–79.

Franceschini, Emilie, Ratan K. Saha, and Guy Cloutier. 2013. "Comparison of Three Scattering Models for Ultrasound Blood Characterization." *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 60 (11): 2321–34.

Franceschini, Emilie, François T. H. Yu, François Destremes, and Guy Cloutier. 2009. "In Vivo Ultrasound Characterization of Red Blood Cell Aggregation Using the Structure Factor Size and Attenuation Estimator." In *2009 IEEE International Ultrasonics Symposium*, 301–4.

———. 2010. “Ultrasound Characterization of Red Blood Cell Aggregation with Intervening Attenuating Tissue-Mimicking Phantoms.” *The Journal of the Acoustical Society of America* 127 (2): 1104–15.

Grybauskas, P., K. Kundrotas, V. Sukackas, and E. Yaronis. 1978. “Ultrasonic Digital Interferometer for Investigation of Blood Clotting.” *Ultrasonics* 16 (1): 33–36.

Huang, C.-C, Y.-H Lin, T.-Y Liu, P.-Y Lee, and S.-H Wang. 2011. “Review: Study of the Blood Coagulation by Ultrasound.” *Journal of Medical and Biological Engineering* 31 (January): 79–86.

Huang, Chih-chung, Po-hsiang Tsui, and Shyh-hau Wang. 2007. “Detection of Coagulating Blood under Steady Flow by Statistical Analysis of Backscattered Signals.” *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 54 (2): 435–42.

Huang, Chih-Chung, and Shyh-Hau Wang. 2007. “Assessment of Blood Coagulation Under Various Flow Conditions With Ultrasound Backscattering.” *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 54 (12): 2223–30.

Huang, Chih-Chung, Shyh-Hau Wang, and Po-Hsiang Tsui. 2005a. “Detection of Blood Coagulation and Clot Formation Using Quantitative Ultrasonic Parameters.” *Ultrasound in Medicine & Biology* 31 (11): 1567–73. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2005.07.003>.

———. 2005b. “In Vitro Study on Assessment of Blood Coagulation and Clot Formation Using Doppler Ultrasound.” *Japanese Journal of Applied Physics* 44 (December): 8727–32.

Jacobs, J. E., M. D. Jhabvala, A. V. Malinka, and P. Haque. 1976. “Ultrasound Spectroscopy Applied to Blood Coagulation Studies.” *Ultrasonics* 14 (2): 84–90.

- Libgot-Callé, Rachel, Frédéric Ossant, Yves Gruel, Patrick Lermusiaux, and Frédéric Patat. 2008. "High Frequency Ultrasound Device to Investigate the Acoustic Properties of Whole Blood During Coagulation." *Ultrasound in Medicine & Biology* 34 (2): 252–64.
- Machado, J. C., A. Lenzi, and W. G. Silva. 1991. "An Ultrasonic Method to Measure Human Plasma Coagulation Time." *The Journal of the Acoustical Society of America* 90 (4 Pt 1): 1749–53.
- Mo, L. Y., and R. S. Cobbold. 1986. "A Stochastic Model of the Backscattered Doppler Ultrasound from Blood." *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* 33 (1): 20–27.
- Mo, L. Y. L., and R. S. C. Cobbold. 1992. "A Unified Approach to Modeling the Backscattered Doppler Ultrasound from Blood." *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 39 (5): 450–61.
- Monchy, R. de, B. Chayer, G. Cloutier, and E. Franceschini. 2016. "Effective Medium Theory Combined with a Polydisperse Structure Factor Model for Characterizing Red Blood Cell Aggregation." In *2016 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)*, 1–4.
- Monchy, Romain de, Julien Rouyer, François Destrempe, Boris Chayer, Guy Cloutier, and Emilie Franceschini. 2018. "Estimation of Polydispersity in Aggregating Red Blood Cells by Quantitative Ultrasound Backscatter Analysis." *The Journal of the Acoustical Society of America* 143 (4): 2207–16.
- Ossant, F., R. Libgot, P. Coupe, P. Lermusiaux, and F. Patat. 2004. "High Frequency Ultrasound Characterization of the Coagulation Process of Whole Blood." In *IEEE Ultrasonics Symposium, 2004*, 2:846-849 Vol.2.
- Peeters, H., G. Steenhoudt, and G. Decroix. 1964. "Ultrasonic Measurement of Coagulation and Fibrinolysis." *Journal of Clinical Pathology* 17 (3): 320–23.

Savéry, David, and Guy Cloutier. 2001. "A Point Process Approach to Assess the Frequency Dependence of Ultrasound Backscattering by Aggregating Red Blood Cells." *The Journal of the Acoustical Society of America* 110 (6): 3252–62.

———. 2005. "Effect of Red Cell Clustering and Anisotropy on Ultrasound Blood Backscatter: A Monte Carlo Study." *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 52 (1): 94–103.

———. 2007. "High-Frequency Ultrasound Backscattering by Blood: Analytical and Semianalytical Models of the Erythrocyte Cross Section." *The Journal of the Acoustical Society of America* 121 (6): 3963–71.

Shung *et al.* 1979. "Ultrasonic Instrumentation for Hematology." 1979.

Shung, K. K., R. A. Sigelmann, and J. M. Reid. 1976. "Scattering of Ultrasound by Blood." *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* BME-23 (6): 460–67. Shung, K. K., Y. W. Yuan, D. Y. Fei, and J. M. Tarbell. 1984. "Effect of Flow Disturbance on Ultrasonic Backscatter from Blood." *The Journal of the Acoustical Society of America* 75 (4): 1265–72.

Shung, K. Kirk, Dingyu Fei Msee, Ying-Wei Yuan Bsbe, and William C. Reeves. 1984. "Ultrasonic Characterization of Blood During Coagulation." *Journal of Clinical Ultrasound* 12 (3): 147–53.

Sigel, B, J. Machi, J.C. Beitler, and J.R. Justin. 1983. "Red Cell Aggregation as a Cause of Blood-Flow Echogenicity." *Radiology* 148 (3).

Twersky, Victor. 1987. "Low-frequency Scattering by Correlated Distributions of Randomly Oriented Particles." *The Journal of the Acoustical Society of America* 81 (5): 1609–18.

Viola, Francesco, F Mauldin, Xiefan Lin-Schmidt, Doris Haverstick, Michael Lawrence, and William Walker. 2009. "A Novel Ultrasound-Based Method to Evaluate Hemostatic Function of

Whole Blood.” *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* 411 (October): 106–13.

Yesner, R., A. Hurwitz, S. R. Rich, W. Roth, and M. E. Gordon. 1951. “Preliminary Observations on Blood Coagulation Utilizing Ultrasonics for Continuous Measurement of Viscosity.” *The Yale Journal of Biology and Medicine* 24 (3): 231–35.

Yu, François T. H., and Guy Cloutier. 2007. “Experimental Ultrasound Characterization of Red Blood Cell Aggregation Using the Structure Factor Size Estimator.” *The Journal of the Acoustical Society of America* 122 (1): 645–56.

Yu, François T. H., Émilie Franceschini, Boris Chayer, Jonathan K. Armstrong, Herbert J. Meiselman, and Guy Cloutier. 2009. “Ultrasonic Parametric Imaging of Erythrocyte Aggregation Using the Structure Factor Size Estimator.” *Biorheology* 46 (4): 343–63.

Yuan, Y. W., and K. K. Shung. 1988a. “Ultrasonic Backscatter from Flowing Whole Blood. I: Dependence on Shear Rate and Hematocrit.” *The Journal of the Acoustical Society of America* 84 (1): 52–58.

———. 1988b. “Ultrasonic Backscatter from Flowing Whole Blood. II: Dependence on Frequency and Fibrinogen Concentration.” *The Journal of the Acoustical Society of America* 84 (4): 1195–1200.

1.7 Quelques aspects non-Newtoniens

Dans la sous-partie traitant de l’effet Doppler ultrasonore, nous avons considéré le sang comme étant un liquide Newtonien. Un liquide est Newtonien lorsqu’il se déforme de manière linéaire si on lui applique une contrainte et en particulier une contrainte de cisaillement. De manière plus précise, la vitesse de déformation d’un liquide Newtonien

suit une loi linéaire affine avec la contrainte de cisaillement, où le coefficient de proportionnalité est la viscosité du fluide. Ceci implique donc que la viscosité d'un fluide Newtonien soit constante peu importe le cisaillement qu'on lui applique. On a donc:

$$\tau = \mu \frac{dv(r)}{dr} \quad (18)$$

Où τ est la contrainte de cisaillement, μ la viscosité du fluide et $\frac{dv(r)}{dr}$ le taux de cisaillement (s^{-1}) qui est le gradient de vitesse dans la direction perpendiculaire au cisaillement. Un liquide laminaire, incompressible et Newtonien va notamment suivre la loi de Poiseuille dans un tube circulaire et exhiber un profil des vitesses parabolique qui sera fonction du rayon du tube au carré (Equation (9)).

Néanmoins, comme mentionné au début du manuscrit, le sang est connu pour être un liquide non Newtonien c'est-à-dire que sa viscosité n'est pas constante selon le cisaillement qu'on lui applique. De plus, le sang est en particulier un liquide non Newtonien pseudo-plastique, dont la viscosité diminue lorsque le cisaillement augmente. Une modélisation simple d'un tel liquide peut se faire à l'aide d'une loi de puissance appelée aussi loi d'Ostwald-de Waele (Ostwald 1929) :

$$\tau = k \left(\frac{dv(r)}{dr} \right)^n \quad (19)$$

Avec k qui est une constante appelée l'indice de consistance du fluide et n l'indice d'écoulement. Dans le cas des liquides Newtonien n est égal à 1. Pour un liquide pseudo-plastique n est strictement compris entre 0 et 1 et n'est pas nécessairement constant.

Pour prendre en compte la dépendance de la viscosité d'un fluide non Newtonien envers le cisaillement, on définit usuellement la viscosité apparente μ_{app} :

$$\mu_{app} = \frac{\tau}{\frac{dv(r)}{dr}} = k \left(\frac{dv(r)}{dr} \right)^{n-1} \quad (20)$$

On voit dans l'expression (20) que dans le cas Newtonien où n est égal à 1, la viscosité apparente est égale à k et est donc bien une constante.

Si la viscosité apparente du sang est modélisée par l'équation (20), il est possible de calculer un profil des vitesses non Newtonien correspondant (Simpson et Janna 2008). Son expression est :

$$v(r) = \frac{3n+1}{n+1} V_{moy} \left[1 - \left(\frac{r}{R} \right)^{n+\frac{1}{n}} \right] \quad (21)$$

Avec R le rayon du tube et V_{moy} la vitesse moyenne telle que $Q = \pi r^2 V_{moy}$ où Q est le débit. Si on se place au centre du tube r est nul et $v(r)$ est maximale avec $V_{max} = \frac{3n+1}{n+1} V_{moy}$. Si n est égal à 1 on trouve que V_{max} est le double de V_{moy} , ce qui est bien le cas pour un écoulement Newtonien.

Le comportement non Newtonien du sang n'est pas prépondérant quelles que soient les conditions d'écoulement. Il est notamment admis que les effets non Newtoniens sont significatifs pour des taux de cisaillement inférieurs à environ 100 s^{-1} (Replogle *et al.* 1967, Johnston *et al.* 2004, Sochi 2013). Au-delà de cette gamme mais aussi pour des taux de cisaillement très bas, la viscosité du sang atteint progressivement un plateau où elle est

constante. Ce comportement est une des limitations principales de la loi de puissance appliquée au sang puisque cette dernière prévoit une viscosité qui tend vers 0 lorsque le taux de cisaillement tend vers l'infini. Ainsi, il est important de noter que de nombreux modèles plus complexes ont été développés, dont les domaines d'utilisation dépendent des phénomènes physiques considérés ainsi que de l'application physiologique visée (Neofytou 2004, Yilmaz 2008, Robertson *et al.* 2010).

Les effets non Newtonien dans le sang sont influencés par la pulsatilité, le taux de protéines, la forme et la taille de la zone d'écoulement, la température, l'hématocrite ainsi que par de possibles pathologies (Rokiewicz *et al.* 1990, Yilmaz 2008, Sochi 2013). Au niveau microscopique, les propriétés « non Newtoniennes » du sang sont principalement attribuées à la capacité des globules rouges à s'agréger, se déformer et se réorienter selon le cisaillement et la géométrie de la zone d'écoulement. Notamment, le comportement pseudo plastique du sang est en partie explicable par le fait que les agrégats de globules rouges se désagrègent avec l'augmentation du taux de cisaillement, diminuant ainsi la viscosité (Sochi 2013). Il est à noter que le plasma, qui est essentiellement composé d'eau, est en revanche généralement considéré comme Newtonien en écoulement cisailé (Brust *et al.* 2013).

Pour finir, nous évoquerons brièvement les effets Fåhræus et Fåhræus-Lindqvist qui sont deux phénomènes importants lorsque l'on s'intéresse à la dynamique du sang dans des échelles micrométriques. L'effet Fåhræus fût découvert par Robin Fåhræus (Fåhræus 1929) et s'applique à du sang en écoulement dans un tube d'environ moins de 300 micromètres de diamètre. Il consiste en une baisse de l'hématocrite du sang dans le tube par rapport à l'hématocrite du sang avant l'entrée du tube (on rencontre souvent les termes

de « tube hematocrit » et de « feed hematocrit »). Cet effet provient de la migration des globules rouges vers le centre du tube (Chebbi 2015). L'effet Fåhræus-Lindqvist (Fåhræus et Lindqvist 1931) a également lieu dans les tubes de moins de 300 micromètres de diamètre. Il décrit une dépendance de la viscosité du sang envers le diamètre du tube. Plus précisément l'effet consiste en une baisse de la viscosité avec la diminution du diamètre. L'effet Fåhræus-Lindqvist se réverse pour des diamètres proches des dimensions d'un globule rouge. Cette fois, la viscosité augmente lorsque le diamètre diminue, à cause des frictions entre les globules rouges et la paroi du tube. Il est à noter que si il paraît intuitif que l'effet Fåhræus soit à l'origine de l'effet Fåhræus-Lindqvist, il n'en est pas la seule cause (Lima *et al.* 2012).

1.7.1 Références

Brust, M., C. Schaefer, R. Doerr, L. Pan, M. Garcia, P. E. Arratia, and C. Wagner. 2013. "Rheology of Human Blood Plasma: Viscoelastic Versus Newtonian Behavior." *Physical Review Letters* 110 (7): 078305.

Chebbi, Rachid. 2015. "Dynamics of Blood Flow: Modeling of the Fåhræus–Lindqvist Effect." *Journal of Biological Physics* 41 (3): 313–26.

Fåhræus, Robin. 1929. "The Suspension Stability of the Blood." *Physiological Reviews* 9 (2): 241–74.

Fåhræus, Robin, and Torsten Lindqvist. 1931. "The Viscosity of the Blood in Narrow Capillary Tubes." *American Journal of Physiology-Legacy Content* 96 (3): 562–68.

Johnston, Barbara M., Peter R. Johnston, Stuart Corney, and David Kilpatrick. 2004. "Non-Newtonian Blood Flow in Human Right Coronary Arteries: Steady State Simulations." *Journal of Biomechanics* 37 (5): 709–20.

Lima, R., Takuji Ishikawa, Yohsuke Imai, and Takami Yamaguchi. 2012. "Blood Flow Behavior in Microchannels: Past, Current and Future Trends." *Single and Two-Phase Flows on Chemical and Biomedical Engineering*, 513–47.

M. Simpson, Melissa, and William Janna. 2008. "Newtonian and Non-Newtonian Fluids: Velocity Profiles, Viscosity Data, and Laminar Flow Friction Factor Equations for Flow in a Circular Duct." In . Vol. 9.

Neofytou, Panagiotis. 2004. "Comparison of Blood Rheological Models for Physiological Flow Simulation." *Biorheology* 41 (6): 693–714.

Ostwald, Wolfgang. 1929. "Ueber die rechnerische Darstellung des Strukturgebietes der Viskosität." *Kolloid-Zeitschrift* 47 (2): 176–87.

Replogle, R. L., H. J. Meiselman, and E. W. Merrill. 1967. "Clinical Implications of Blood Rheology Studies." *Circulation* 36 (1): 148–60.

Robertson, Anne, Adélia Sequeira, and Robert G. Owens. 2010. "Rheological Models for Blood." In *Cardiovascular Mathematics*, 1:211–41.

Rodkiewicz, C. M., Prawal Sinha, and J. S. Kennedy. 1990. "On the Application of a Constitutive Equation for Whole Human Blood." *Journal of Biomechanical Engineering* 112 (2): 198–206.

Sochi, Taha. 2013. "Non-Newtonian Rheology in Blood Circulation," June.

Yilmaz, Fuat. 2008. "A Critical Review on Blood Flow in Large Arteries; Relevance to Blood Rheology, Viscosity Models, and Physiologic Conditions" 20 (4): 16.

1.8 Résumé et objectifs de la thèse

Nous avons vu lors de cette introduction générale que de nouvelles techniques microfluidiques de fractionnement du sang *in-vitro* sont actuellement en développement. Ces nouvelles techniques répondent à un besoin fort en nouvelles technologies pour séparer les principaux composants du sang. Parmi ces techniques se trouve l'acoustophorèse, qui utilise la force de radiation ultrasonore pour manipuler les cellules du sang à l'échelle microscopique. L'acoustophorèse est sur le point de franchir les portes de l'industrie via le travail d'Aenitis mais est aussi un axe de recherche académique fécond.

L'acoustophorèse ainsi que les nouvelles techniques microfluidiques de fractionnement en général sont vecteurs de nouveaux besoins en outils de contrôle et de mesure. Ces besoins sont notamment la nécessité de mesurer des bas débits de sang, de l'ordre de quelques $\mu\text{L}/\text{min}$ à quelques centaines de $\mu\text{L}/\text{min}$, ainsi que de mesurer l'hématocrite. Ces deux mesures doivent être nécessairement réalisées « en ligne », c'est-à-dire sans nécessiter l'extraction d'un échantillon de sang, afin de préserver la stérilité du procédé.

Peu de recherches académiques ont été conduites sur la mesure *in-vitro* de bas débits de sang et un système efficient reste encore à développer. De même, à la connaissance de l'auteur, il n'y a pas de capteurs industriels capables de mesurer de tels débits. La mesure de l'hématocrite « en ligne » fait écho à de nombreuses études passées. Ainsi un certain nombre de capteurs d'hématocrite pour la circulation extracorporelle ont été développés et parfois commercialisés. Les capteurs optiques sont les plus performants et les plus déclinés

sous une forme commerciale. Les capteurs électriques ont également été investigués ainsi que les capteurs ultrasonores. Néanmoins, les capteurs optiques, bien que pouvant être très précis, sont basés sur une instrumentation complexe et nécessitent parfois des calibrations régulières. Les capteurs électriques sont eux hautement sensibles à la composition du plasma et les capteurs ultrasonores sont restés à un stade de développement peu avancé. Egalement les capteurs d'hématocrites commercialisés dépendent de l'application visée et aucun ne peut s'appliquer à la nouvelle génération de système de fractionnement que représente l'acoustophorèse. Ainsi, un système de mesure « en-ligne » de l'hématocrite simple, versatile et réactualisé serait d'un intérêt non négligeable.

Les ultrasons sont connus pour être une modalité d'imagerie médicale relativement peu coûteuse ainsi que simple à mettre en place. Notamment, la technique Doppler ultrasonore a largement fait ses preuves pour la quantification de l'écoulement de sang *in-vivo*. Aussi, la caractérisation du sang par ultrasons est un domaine ayant fait l'objet de nombreuses recherches et dont les méthodes et développements théoriques sont nombreux.

Nous présentons donc dans ce manuscrit un système Doppler ultrasonore élémentaire basé sur la technique de Doppler continu et conçu pour caractériser l'écoulement de sang dans des dispositifs avec de faibles débits. En général, notre objectif est d'extraire les débits sanguins et les hématocrites directement dans les tubes d'alimentations de ces dispositifs, sans impacter le flux sanguin. Dans un premier chapitre, nous montrerons comment le système Doppler peut être simplement exploité à l'aide de développements théoriques récents pour mesurer un débit de sang dans la gamme utilisée dans les dispositifs d'acoustophorèse d'Aenitis. Dans un deuxième chapitre, nous appliquerons quelques éléments théoriques issus de la quantification ultrasonore du sang pour évaluer la capacité

du système à mesurer l'hématocrite par rétrodiffusion. Dans un troisième et dernier chapitre, nous montrerons que les variations « non Newtoniennes » du profil des vitesses du sang prenant part dans notre système nous permettent d'utiliser ce dernier pour mesurer l'hématocrite dans une gamme physiologique. Nous mènerons également dans ce chapitre une réflexion sur les potentielles applications de cette méthode au traitement *in-vitro* du sang en général. Enfin, nous ferons une conclusion globale sur l'ensemble du travail présenté dans ce manuscrit.

CHAPITRE 2 : UN DÉBITMÈTRE DE SANG « OPTIMAL »

Ce chapitre présente la conception d'un débitmètre ultrasonore *in-vitro* se basant sur la technique Doppler continu. La spécificité du débitmètre est son utilisation d'un algorithme d'optimisation mathématique afin de déterminer de manière optimale quel est le débit correspondant à un spectre Doppler donné. Ce débitmètre est capable de mesurer avec une haute précision des bas débits de sang comme ceux rencontrés dans les nouvelles techniques de fractionnement issues de la microfluidique. Nous nous sommes également attachés à concevoir le débitmètre de manière simple et versatile, en prévision de son implémentation future dans les dispositifs médicaux d'Aenitis. Le travail présenté lors de ce chapitre a fait l'objet d'une publication (« Flow rate and low hematocrit measurement for in vitro blood processing », Pialot *et al.* *IEEE Transactions on Ultrasonics Ferroelectrics and Frequency Control*, 2020) ainsi que d'un brevet international ("Method and device for determining a flow rate and/ or a concentration of particles of a fluid").

2.1 Introduction

Comme nous l'avons précisé dans le Chapitre 1, calculer la vitesse d'un écoulement de sang laminaire est un problème qui peut se rapporter à sa vitesse moyenne ou bien à sa vitesse maximum. Si la vitesse moyenne V_{moy} est mesurée dans un tube circulaire de rayon R , celle-ci est reliée au débit Q imposé en entrée du circuit fluidique par l'expression $Q = \pi R^2 V_{moy}$. A partir de l'équation Doppler (4) on peut alors exprimer le débit en fonction de la fréquence moyenne f_{moy} du spectre Doppler :

$$Q = \frac{\pi R^2 c}{2} \frac{f_{moy}}{f_e \cos \theta \cos \frac{\varphi}{2}} \quad (22)$$

Où c est la vitesse du son, f_e la fréquence d'émission, θ l'angle Doppler entre la sonde et l'axe d'écoulement du sang et φ l'angle entre l'émetteur et le récepteur. L'équation (22) fournit une base très simple permettant en théorie d'estimer le débit du sang en fonction du spectre Doppler ultrasonore. Cependant, la mesure de la fréquence moyenne du spectre Doppler n'est pas un problème trivial. Dans sa définition la plus basique, la fréquence moyenne pourrait se calculer à partir de la densité spectrale de puissance Doppler (DSPD) $S(f)$ de la manière suivante (Cobbold, 2006) :

$$f_{moy} = \frac{\int f \cdot S(f) df}{\int S(f) df} \quad (23)$$

Où les bornes des deux intégrales correspondent à la bande fréquentielle du signal Doppler.

L'expression (23) n'est valable que si l'amplitude de la DSPD est uniforme sur toute la bande fréquentielle considérée. Autrement dit il est nécessaire que le champ ultrasonore et l'écoulement de sang soient homogènes dans toute la zone de mesure. Cette condition est couramment appelée condition d'insonification uniforme (« uniform insonification »). En pratique, l'insonification uniforme n'est jamais complètement réalisée et est source d'erreurs dans l'estimation de la fréquence moyenne (Gill 1985, Thompson *et al.* 1990). Une des raisons est notamment que la courbure du tube de mesure produit un effet de lentille acoustique venant distordre le champ de pression ultrasonore (Thompson et Aldis 1996, Thompson *et al.* 2004 Figure 2. 1). Des conversions de modes de propagation dues aux matériaux plastiques dont sont constitués les tubes médicaux altèrent également la

transmission des ultrasons en leur sein et ceci en fonction de l'angle Doppler (Thompson *et al.* 2000). Pour ce qui est du sang, il est connu que la répartition spatiale des globules rouges dans un tube n'est pas nécessairement homogène et que les globules rouges ont tendance à migrer vers le centre (Aarts *et al.* 1988, Sherwood *et al.* 2014). Cette tendance mène à l'effet Fåhræus pour les tubes présentant un diamètre inférieur à 300µm où une couche de plasma libre de globules rouges se forme le long des murs. Aussi, il a été vu lors de l'introduction générale que la présence d'agrégats peut mener à une augmentation de l'énergie spectrale du signal Doppler (Cloutier *et al.* 1996). Même dans le cas idéal où l'insonification est effectivement uniforme, des composantes fréquentielles non voulues peuvent être retrouvées dans la DSPD à cause d'un rapport signal à bruit trop faible ou de la présence d'artefacts de filtrage (Gill 1985). La répartition fréquentielle de la DSPD est aussi fonction de l'élargissement spectral comme vu précédemment (Gill 1985).

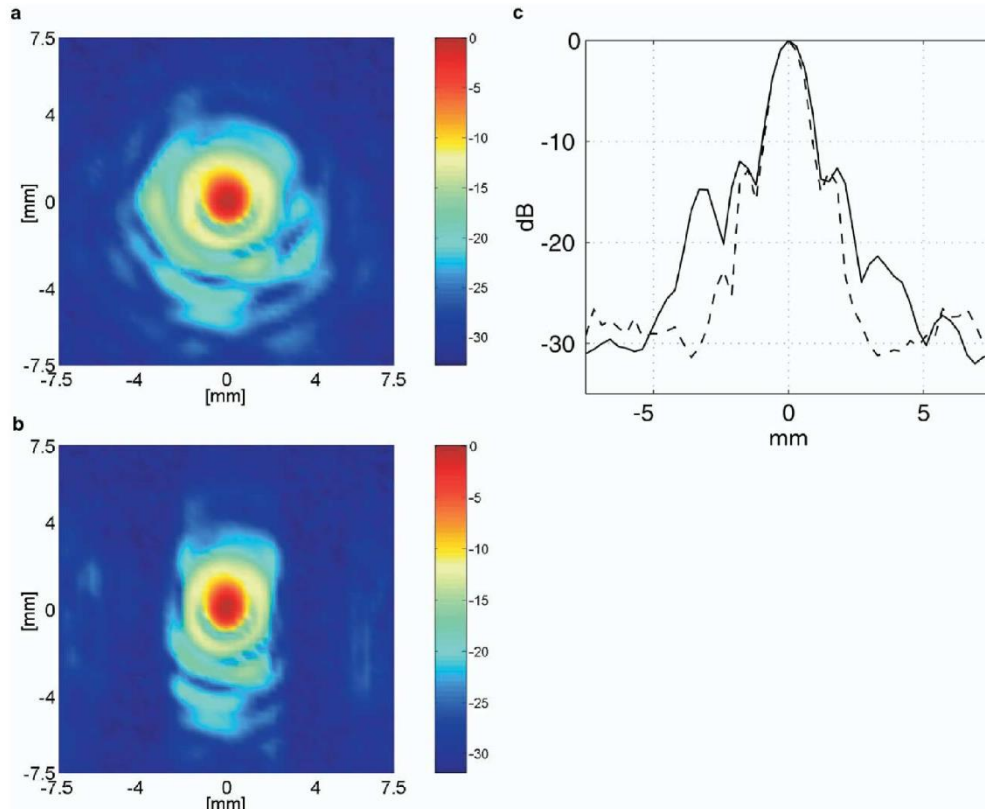


Figure 2. 1 – Mise en évidence expérimentale de la distorsion du champ ultrasonore par un tube médical (Thompson *et al.* 2004). La figure a) montre la mesure par un hydrophone de l'intensité ultrasonore émise à 4MHz par une sonde focalisée. La figure b) montre la même mesure mais avec un demi-tube de polyéthylène intercalé entre la sonde et l'hydrophone. La section horizontale des deux figures est montrée en figure c).

Dans un contexte *in-vitro* la position et la géométrie de la sonde sont fixes et ainsi l'élargissement spectral peut être caractérisé. De même les artefacts liés au rapport signal à bruit ou au filtrage pourraient très certainement être estimés et corrigés de manière efficace. Aussi, les altérations du champ ultrasonore dues au tube de mesure pourraient être modélisés et compensées en conséquence. Cependant, une méthode d'estimation du débit le plus simple possible est souhaitable dans l'optique de concevoir un système de mesure se calibrant aisément. Il est aussi naturellement concevable qu'une méthode de mesure sera d'autant plus sensible à des fluctuations de son environnement que sa précision est affectée

par celui-ci. De plus, le caractère non homogène de l'écoulement de sang représente un problème sans doute plus difficilement quantifiable que ceux liés au système ultrasonore.

L'environnement *in-vitro* a pour avantage particulièrement intéressant de présenter une dynamique des fluides relativement simple si le sang est restreint à un comportement Newtonien. En effet, dans ce cas, le profil des vitesses peut se modéliser simplement à l'aide de la loi de Poiseuille (Chapitre 1). Il peut de plus être raisonnablement postulé que le sang gardera un profil des vitesses stable une fois qu'il aura parcouru la distance nécessaire dans le tube de mesure pour être entièrement développé. Ce postulat est d'autant plus vrai lorsque les dimensions du tube tendent vers la microfluidique, comme il est le cas pour les systèmes d'acoustophorèse. Pour ces raisons, nous pouvons supposer qu'en vertu de la loi de Poiseuille la vitesse maximum de l'écoulement de sang est le double de sa vitesse moyenne. On a donc l'équation suivante qui relie le débit à la fréquence Doppler maximum f_{max} :

$$Q = \frac{\pi R^2 c}{4} \frac{f_{max}}{f_e \cos \theta \cos \frac{\varphi}{2}} \quad (24)$$

L'estimation du débit à partir de f_{max} simplifie notre problème dans le sens où l'on ne cherche plus à quantifier l'ensemble de la DSPD. Bien sûr la vitesse maximum est sensible aux mêmes artefacts acoustiques et spectraux que la vitesse moyenne. Mais nous sommes toutefois débarrassés des considérations sur la répartition fréquentielle de l'amplitude. Plus important encore, la fréquence Doppler maximum ne devrait pas être impactée par la migration axiale des globules rouges ou par la possible présence d'agrégats. Il est à noter que par la suite la vitesse du son c sera fixée à une valeur usuelle de 1570 m.s^{-1} (Aaslid

2006). L'angle interne φ entre les deux transducteurs de la sonde sera négligé. En admettant que l'angle φ soit environ du même ordre que celui de 30° affiché dans la Figure 1. 15, le terme $\cos \frac{\varphi}{2}$ sera très proche de 1 avec une valeur de 0,96.

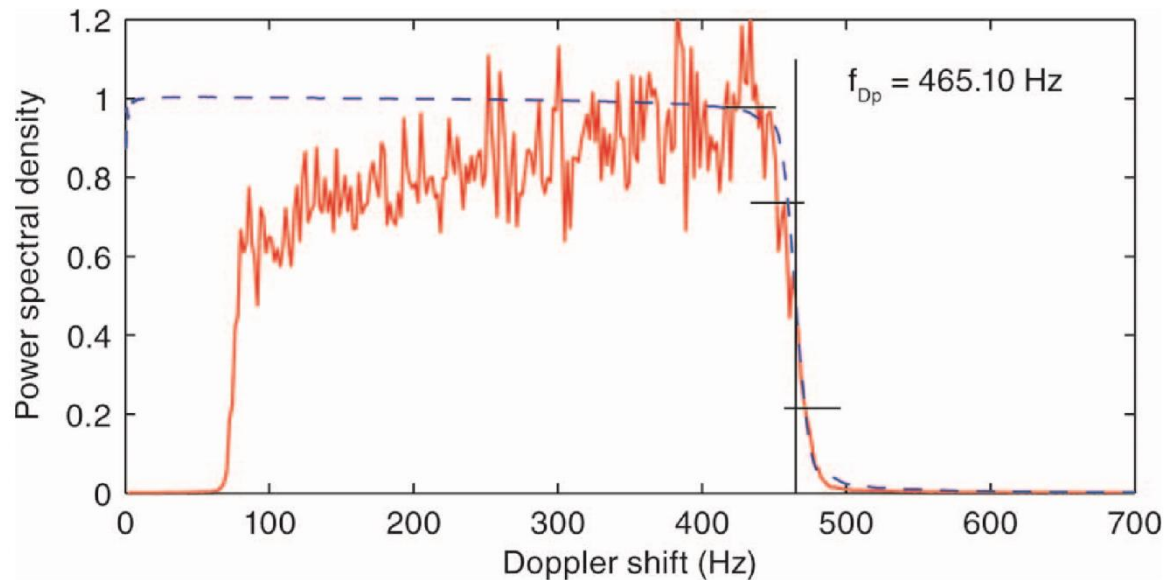


Figure 2. 2 – Valeur de la fréquence Doppler telle que prédite par le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) dans un spectre Doppler simulé.

La fréquence Doppler maximum est un paramètre dont la mesure est utilisée en clinique, par exemple pour quantifier la sténose (Grant *et al.* 2003). Plusieurs études ont ainsi été conduites pour trouver une approche optimale afin de l'estimer (Marasek *et al.* 1994, Tortoli *et al.* 1995, Steinman *et al.* 2000, Kathpalia *et al.* 2016). Ces études ont été pensées pour une application *in-vivo* et seraient très certainement adaptables à une utilisation *in-vitro*. Cependant, un modèle théorique plus complet de la DPSD et de son contenu spectral a récemment été développé par Vilkomerson *et al.* (2011). Il a été montré par les auteurs que ce modèle permet d'approximer la DPSD d'un « phantom » de sang par une fonction analytique et ceci pour des débits de plusieurs centaines de mL/min. Les auteurs ont

également démontré que le modèle prédisait une fréquence Doppler maximum se situant à la moitié de la pente descendante de la DPSD (Figure 2. 2). Suivant ce fait, les auteurs ont finalement proposé un algorithme permettant de calculer la fréquence maximum de la DPSD en déterminant par seuillage le point correspondant au milieu de sa pente descendante.

Nous proposons dans la sous-partie suivante de présenter en détails le modèle pour la DPSD proposé par Vilkomerson *et al.* (2011). Nous montrerons ensuite comment ce modèle peut être avantageusement exploité pour concevoir de manière optimale un débitmètre ultrasonore destiné à un écoulement de sang approximé comme Newtonien.

2.2 Modèle de Vilkomerson *et al.*

2.2.1 Présentation du modèle

Le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) repose sur une discrétisation du profil des vitesses 2D en M vitesses représentées par M anneaux concentriques (en raison de l'homogénéité du profil des vitesses le long de l'axe de l'écoulement nous nous contenterons de la description 2D du problème). Cette discrétisation est réalisée avec une résolution en vitesse v_s constante. De par la nature parabolique du profil des vitesses, la distance entre les bordures de deux anneaux consécutifs est maximum au centre du tube et décroît au fur et à mesure que l'on s'approche de ses parois. Le nombre total d'anneaux M est donné par :

$$M = \text{round}_{up} \left(\frac{V_M}{V_s} \right)$$

Où V_M est la vitesse maximum au centre de la parabole et où $round_{up}$ signifie arrondir à l'entier supérieur. Comme précisé dans l'article, M doit être inférieur à la moitié du nombre d'échantillons sur lequel la DSPD va être modélisée afin de respecter le théorème de Nyquist-Shannon.

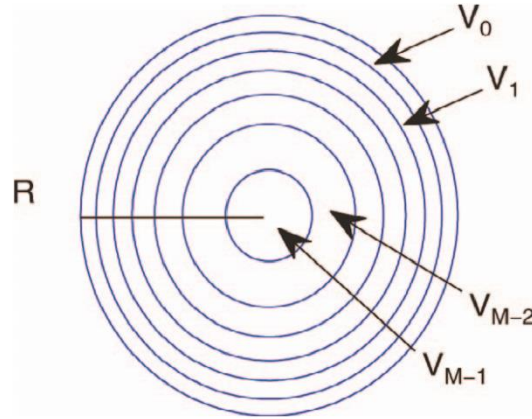


Figure 2. 3 – Discrétisation du profil des vitesses dans un tube de rayon R illustrée dans l'article de Vilkomerson *et al.* (2011).

De manière analogue à la somme de cosinus présentée en introduction générale, le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) se focalise sur une modélisation de la DSPD par une approche principalement traitement du signal. Il est ainsi supposé que chaque globule rouge insonifié produit de manière indépendante un signal temporel sinusoïdal capté en retour par la sonde. Pour un anneau de vitesse donné, le signal temporel d'un globule rouge se mouvant à la vitesse v_m attribuée à l'anneau sera quantifié sur un certain nombre d'échantillons w par le système d'acquisition. D'un point de vue spectral, ce signal temporel une fois échantillonné produira dans la DSPD un pulse fréquentiel consistant en un sinus cardinal au carré centré sur la fréquence Doppler f_m .

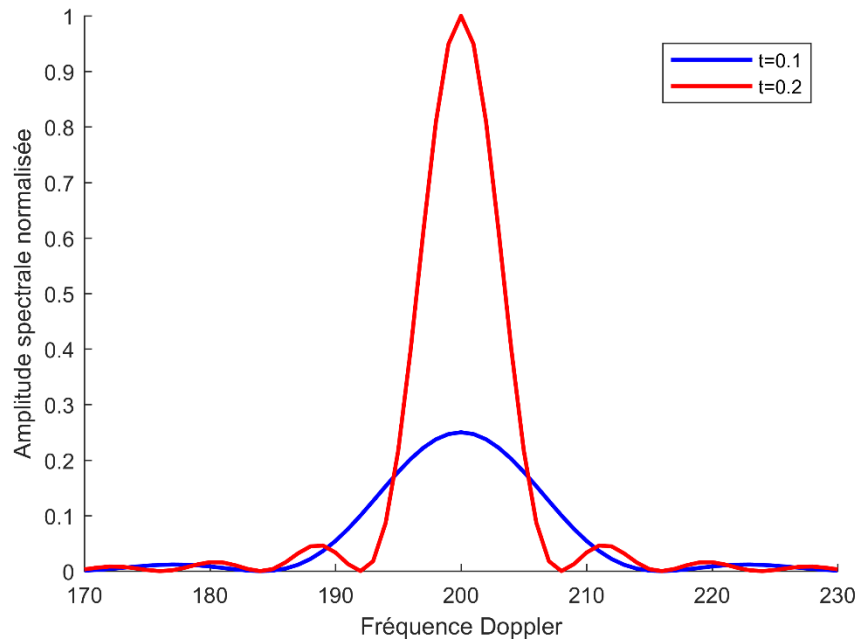


Figure 2. 4 – Pulse fréquentiels de deux globules rouges selon leurs temps d’observation et pour un temps d’acquisition ultrasonore total de 5s. La fréquence Doppler des deux globules rouges est de 200Hz. Les deux pulse sont normalisés par le maximum du pulse à $t = 0.2s$.

Jusqu’ici le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) est en substance une traduction du modèle en somme de cosinus dans le domaine fréquentiel. Comme évoqué, la limitation principale du modèle somme de cosinus est qu’il ne prend pas en compte l’élargissement spectral dû au temps que passe chaque globule rouge dans le faisceau ultrasonore (Figure 2. 4). Autrement dit, le modèle ne prend pas en compte le nombre d’échantillons variable sur lesquels les signaux temporels des globules rouges sont quantifiés. En effet, pour un globule rouge donné, ce nombre d’échantillons w peut s’exprimer en fonction du temps t que le globule rouge passe dans le faisceau ultrasonore selon $w = f_s \cdot t$ où f_s est la fréquence d’échantillonnage du système d’acquisition.

L’avantage du modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) est précisément qu’il apporte une méthode pour tenir compte de la différence d’échantillonnage entre globules rouges. Cette

méthode se base sur une séparation des globules rouges en deux groupes. Le premier est celui des globules rouges dont la vitesse est suffisamment faible pour pouvoir rester dans le faisceau ultrasonore durant le temps d'acquisition total T_0 du signal (groupe lent). Ces globules rouges produiront un nombre d'échantillons égal ou inférieur à $f_s \cdot T_0$ selon s'ils restent effectivement dans le faisceau durant toute l'acquisition ou non. Ceci sera fonction de leur position initiale lorsque l'acquisition est démarrée. Le second cas est celui des globules rouges dont la vitesse est toujours trop élevée pour rester dans le faisceau ultrasonore durant l'acquisition (groupe rapide). Ces globules rouges produiront un nombre d'échantillons inférieur ou égal à $w_m = f_s \cdot tt_m$ avec $tt_m = \frac{A}{v_m}$ où A est la longueur de l'intersection entre le faisceau ultrasonore et le tube de mesure. De cette séparation, les auteurs de l'article original (Vilkomerson *et al.* 2011) proposent de calculer le pulse spectral d'un globule rouge donné selon à quel groupe, lent ou rapide, il appartient. La DSPD modélisée est ensuite la somme totale de tous les pulses spectraux. Les explications détaillées de ce calcul peuvent être trouvées dans l'article de Vilkomerson *et al.* (2011) et les expressions analytiques correspondantes sont développées dans un article de Ricci (2014). Nous nous contenterons de donner ici l'expression finale du modèle telle que donnée par Vilkomerson *et al.* (2011) :

$$\begin{aligned}
 DSPD = \sum_{m=0}^{m_t-1} & \left[\rho_m (A - v_m T_0) P(f_m, N, N) + \frac{2\rho_m v_m T_0}{N} \sum_{j=1}^{N-1} P(f_m, j, N) \right] \\
 & + \sum_{m=m_t}^{M-1} \left[\rho_m A \left(\frac{T_0}{tt_m} - 1 \right) P(f_m, w_m, N) + \frac{2\rho_m A}{w_m} \sum_{j=1}^{w_m-1} P(f_m, j, N) \right] \quad (25)
 \end{aligned}$$

Où N est le nombre d'échantillons correspondant au temps total d'observation T_0 du signal ultrasonore, m_t l'indice de la vitesse la plus basse du groupe rapide et ρ_m le nombre de

globules rouges par unité de longueur dans l'anneau d'indice m . Le terme P réfère à une fonction permettant de calculer le pulse spectral des globules rouges et dont l'expression peut être trouvée dans l'article original (Vilkomerson *et al.* 2011). L'expression en bleu correspond aux globules rouges du groupe lent qui restent dans le faisceau ultrasonore durant le temps d'acquisition total T_0 et dont le pulse spectral est quantifié sur N échantillons. L'expression en rouge est celle des globules rouges du groupe lent qui rentrent ou sortent du faisceau au cours de l'acquisition et dont le pulse est quantifié sur j échantillons avec $j \in [1, \dots, N - 1]$. L'expression en vert représente les globules rouges du groupe rapide qui traversent l'entièreté du faisceau durant l'acquisition et dont le pulse est quantifié sur w_m échantillons. Pour finir l'expression en orange est celle des globules rouges du groupe rapide qui parcourent partiellement le faisceau durant l'acquisition et dont le pulse est quantifié sur j échantillons avec $j \in [1, \dots, w_m - 1]$.

Par définition, l'amplitude de la DSPD modélisée par Vilkomerson *et al.* (2011) est constante dans toute sa bande fréquentielle, jusqu'à la pente descendante du spectre. Dans la suite du chapitre, nous fixerons ρ_m à 1 dans tous les anneaux et nous normaliserons l'amplitude de la DSPD à 1 également. En effet, contrairement à la somme de cosinus, le modèle présenté ici se focalise uniquement sur la bande fréquentielle occupé par la DSPD et l'amplitude de cette dernière n'a pas d'importance. L'allure graphique de l'expression (25) selon cette normalisation et pour une fréquence Doppler maximum f_M de 400Hz, 600Hz et 800Hz est donnée dans la Figure 2. 5 :

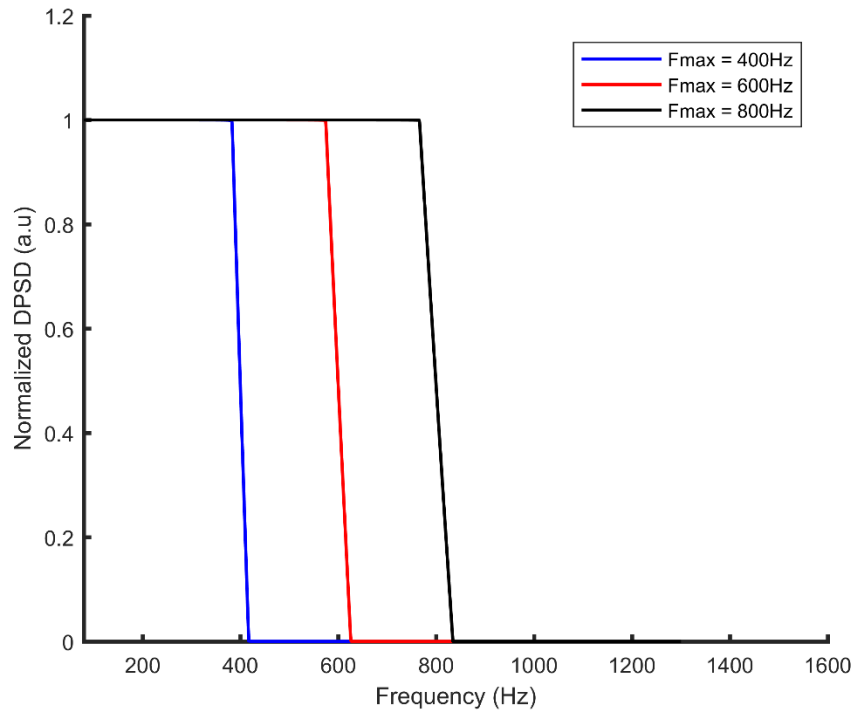


Figure 2. 5 – Allure graphique du modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) pour 3 fréquences Doppler maximums.

2.2.2 Optimisation de la mesure du débit

Nous supposons maintenant que tous les paramètres de mesure intervenant dans les expressions (24) et (25) sont connus et fixés. Dans ce cas, le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) montre que, pour un écoulement de sang suivant la loi de Poiseuille, un profil des vitesses donné correspondra à un seul modèle théorique de la DSPD et inversement. Autrement dit une seule fréquence Doppler maximum correspondra à une seule DSPD théorique et inversement. De même, de par l'équation (24), un seul débit Q correspondra à une seule DSPD théorique. Il est ainsi possible d'estimer le débit de l'écoulement de sang à partir de sa DSPD mesurée en trouvant le débit Q qui minimise la distance Euclidienne (ou norme L^2) avec la DSPD théorique soit :

$$Q = \operatorname{argmin} \| \text{DPDS}_m - \text{DPDS}_{th}(Q) \|_2 \quad (26)$$

Où DPDS_m dénomme la DSPD mesurée et $\text{DPDS}_{th}(Q)$ est la DSPD théorique calculée suivant le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) et pour laquelle la fréquence Doppler maximum correspond au débit Q . En utilisant l'équation (26), la mesure du débit est ainsi ramenée à un simple problème d'optimisation.

2.3 Travail présenté

Dans la suite de ce chapitre, nous décrivons la conception et le développement d'un prototype de débitmètre ultrasonore permettant d'estimer le débit d'un écoulement de sang *in-vitro*. Ce débitmètre repose sur la réduction de la mesure du débit à un simple problème d'optimisation se basant sur la modélisation théorique du spectre Doppler réalisée par Vilkomerson *et al.* (2011). La précision du débitmètre est évaluée pour un débit variant de 0,5mL/min à 1,5mL/min, qui est la gamme dans laquelle opère le dispositif de séparation par acoustophorèse conçu par Aenitis (Bohec *et al.* 2017). Le débitmètre est de plus appliqué sur un tube médical de moins d'1mm de diamètre, suivant ceux utilisés dans ce dispositif. Nous présentons dans une première partie nos méthodes expérimentales. Nous décrivons ensuite les résultats dans une seconde partie suivie ensuite d'une discussion générale sur les avantages de notre système, ses applications potentielles en dehors d'Aenitis, ainsi que ses limites et celles de notre étude. Nous finirons ce chapitre par une conclusion globale.

2.3.1 Méthodes

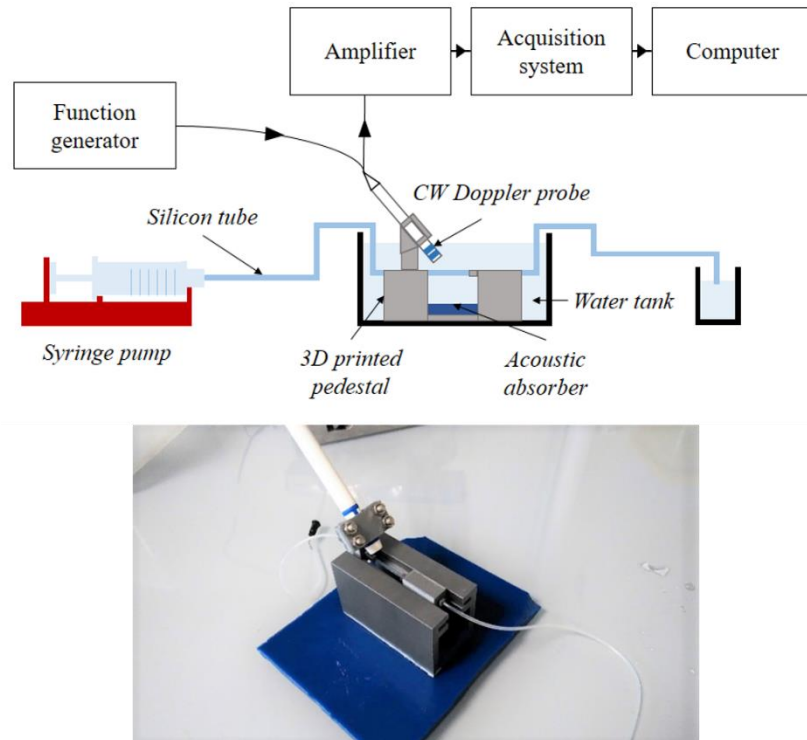


Figure 2. 6 – Dispositif expérimental.

Comme décrit par la Figure 2. 6, une sonde Doppler continu (diamètre 1cm, facteur de qualité : 10^6) de fréquence centrale 8MHz est utilisée pour l'émission et la réception des signaux ultrasonores. Cette sonde consiste en un transducteur et un récepteur disposés selon la Figure 1. 14. L'écoulement de sang est imposé en entrée du système par un pousse seringue précisément calibré (KD Scientific Inc., Holliston, Etats-Unis) et le long d'un tuyau médical en silicone de 20cm (Freudenberg, Kaiserslautern, Allemagne, diamètre interne : 760 micromètres). Le tube en silicone et la sonde Doppler sont maintenus dans un support réalisé à l'impression 3D de manière à ce que l'angle Doppler entre la sonde et le tube soit de 40° et que la sonde insonifie le tube approximativement au milieu de sa longueur. La sonde Doppler insonifie de plus le tube dans toute sa section transverse. Le support, la sonde et le tube sont placés dans un petit récipient d'eau permettant de réaliser

le couplage ultrasonore entre la sonde et le tube. La sonde est alimentée en tension par un générateur de fonction (Rigol, Beijing, Chine). Les signaux sont amplifiés en sortie de la sonde par un amplificateur analogique 40dB (Sofranel, Sartrouville, France) et numérisés par une carte d'acquisition (HS6, TiePie engineering, Sneek, Pays-Bas) interfacée à l'aide de Matlab. Le post-traitement des signaux ultrasonores est également réalisé avec Matlab.

Pour l'évaluation de notre méthode de mesure, 10 acquisitions ultrasonores continues de 10s chacune ont été réalisées pour chaque valeur de débit comprises dans la gamme 0,5mL/min à 1,5mL/min avec une résolution de 0,1mL/min. Les acquisitions ont été faites sur du sang humain frais issu d'une poche de l'Etablissement Français du Sang et dilué dans son propre plasma à un hémocrite de 8%. La seringue était rechargée en sang toutes les 50s.

Le générateur de fonction était réglé pour fournir un voltage de 10V crête à crête résultant en une pression acoustique crête à crête de 10kPa. La fréquence d'échantillonnage était fixée à 20MHz et les acquisitions ont été échantillonnées avec 8 bits sur une gamme dynamique de 2V crête à crête, menant ainsi à une résolution en tension mesurable de $\frac{2}{2^8} = 0,0078V$. Il fût bien vérifié que les signaux ultrasonores reçus ne saturaient pas en amplitude dans la gamme dynamique choisie.

Le post-traitement suivant a été réalisé pour plusieurs durées d'acquisition variant de 0,5s à 10s. Les temps d'acquisitions désirés ont été obtenus en tronquant les signaux de 10s au temps souhaité.

Tout d'abord, les signaux furent filtrés à l'aide d'un filtre de Butterworth de bande passante 8MHz-5000Hz et 8MHz+5000Hz. Les signaux furent ensuite démodulés en utilisant la démodulation en quadrature (équation (6)) et sous-échantillonnés par un facteur 2000. Un filtre de rejection (« clutter filter ») fut appliqué à chaque signal pour supprimer les composantes fréquentielles non désirées en dessous de 80Hz.

Chaque signal fut ensuite segmenté temporellement sans superposition entre les segments. Le nombre de segments temporels fut choisi de manière à avoir une résolution fréquentielle de 1Hz pour chaque segment excepté pour les signaux de 0.5s où une résolution de 2Hz fut choisie. Pour chaque signal, les DSPD furent ensuite estimées selon la méthode de Welch en tant que la moyenne de tous les segments temporels. Aussi, une mesure contrôle de la DSPD fut réalisée dans de l'eau distillée en utilisant la procédure tout juste décrite. Cette mesure contrôle nous a permis de vérifier qu'aucun composant fréquentiel en dessous de 80Hz n'était effectivement présent.

L'ajustement entre les DSPD expérimentales et théoriques fut réalisé à l'aide de l'algorithme d'optimisation de Nelder-Mead avec l'équation (26) en tant que fonction coût. L'ajustement était paramétré de manière à ce que l'amplitude arbitraire des DSPD théoriques soit fixée à l'amplitude moyenne des DSPD expérimentales correspondantes. Les points de départs de l'algorithme furent sélectionnés entre 0,4mL/min et 1,6mL/min selon une distribution aléatoire suivant une loi normale. Le nombre maximum d'itérations de l'algorithme fut fixé à 15. La fonction coût était calculée avec le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) exprimé comme une fonction du débit à l'aide de l'équation (24) où f_{max} était la fréquence correspondant à la valeur la plus élevée de l'ensemble des f_m . A la fin des 15 itérations, l'algorithme fut relancé avec le débit estimé en tant que point de départ et ainsi

de suite jusqu'à ce que l'estimation du débit devienne stable. Les erreurs de mesure relatives au débit affiché par le pousse-seringue furent finalement calculées pour chaque DSPD.

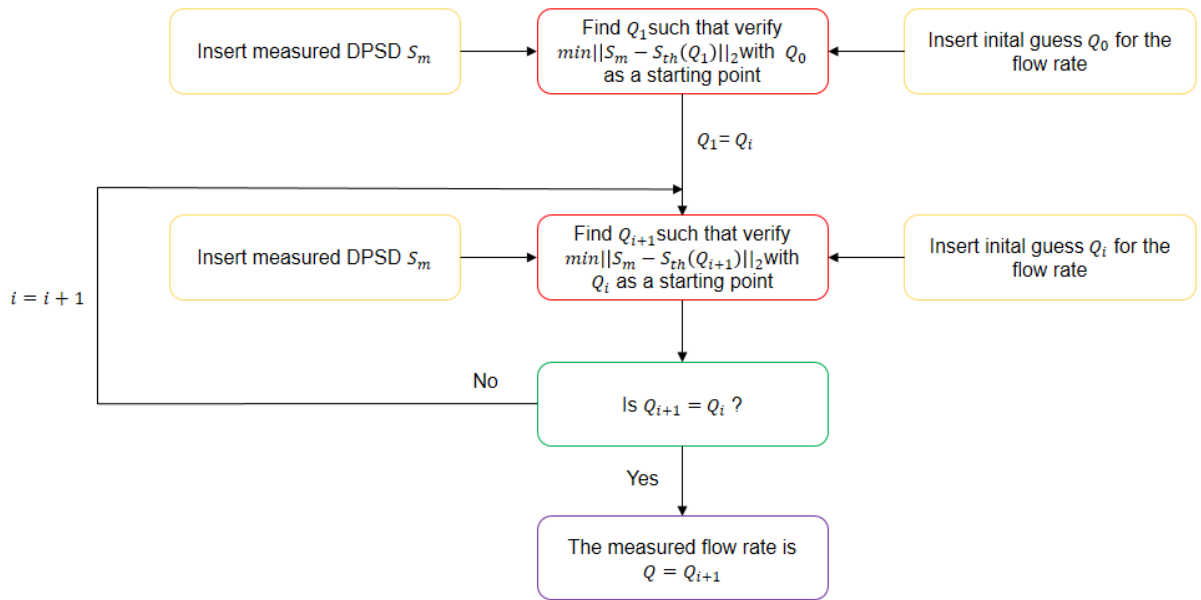


Figure 2. 7 – Algorithme pour l'estimation du débit Q . La partie itérative est réalisée 15 fois au maximum.

Pour une précision optimale, le rayon du tube R et la largeur A du faisceau ultrasonore furent ajoutés en plus du débit en tant que paramètres de la fonction coût afin de réaliser une première étape de calibration. Cette étape de calibration fut faite avec des acquisitions provenant d'une autre poche de sang, plus précisément avec la poche utilisée dans le Chapitre 3. Pour chaque DSPD, le rayon et la largeur du faisceau furent ainsi estimés conjointement avec le débit par l'algorithme d'optimisation. Les valeurs moyennes des deux paramètres furent ensuite retenues comme les valeurs de références pour réaliser le

traitement tout juste évoqué. L'utilité de cette manipulation est discutée après la présentation des résultats.

2.3.2 Résultats

Un exemple de DSPD mesurée superposée avec le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) correspondant est montré dans la Figure 2. 8. Les valeurs optimales de la largeur du faisceau et du rayon du tube estimées lors de l'étape de calibration sont respectivement $4,0\pm 0,3$ mm et 396 ± 3 μm (on rappelle que la valeur du constructeur est de $380\mu\text{m}$ soit une déviation d'environ 4%). Le débit mesuré pour la DSPD de la Figure 2. 9 est de $0,81\pm 0,01\text{mL}/\text{min}$ alors que le débit donné par le pousse-seringue était de $0,8\text{mL}/\text{min}$.

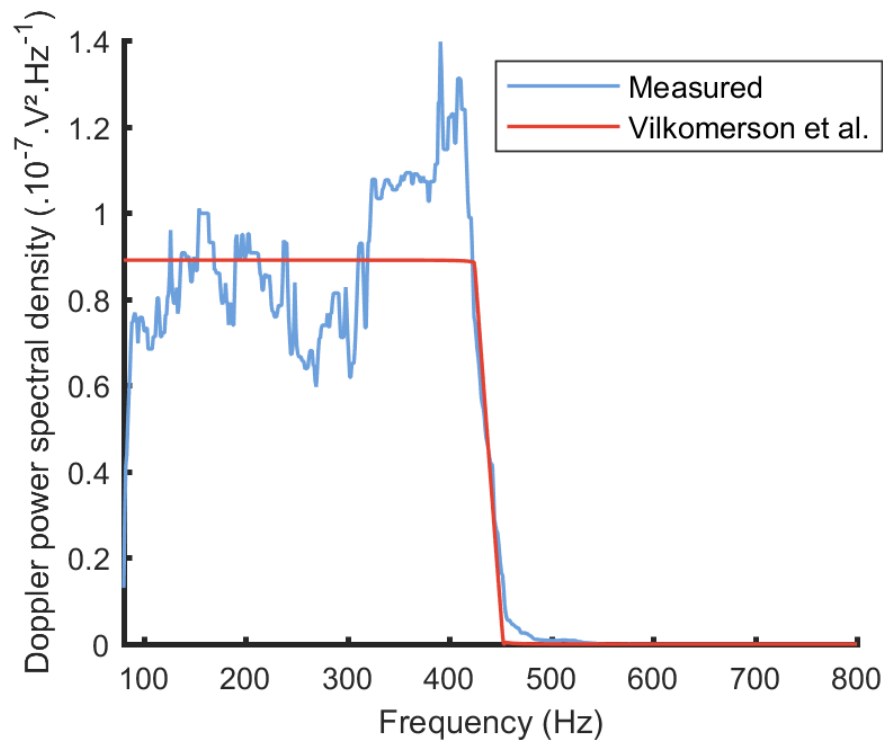


Figure 2. 8 - Un exemple de DSPD mesurée avec un ajustement du modèle théorique de Vilkomerson *et al.* (2011) correspondant. Les valeurs estimées par l'algorithme d'optimisation pour le rayon du tube et la largeur du faisceau sont respectivement $392\mu\text{m}$ et 4mm .

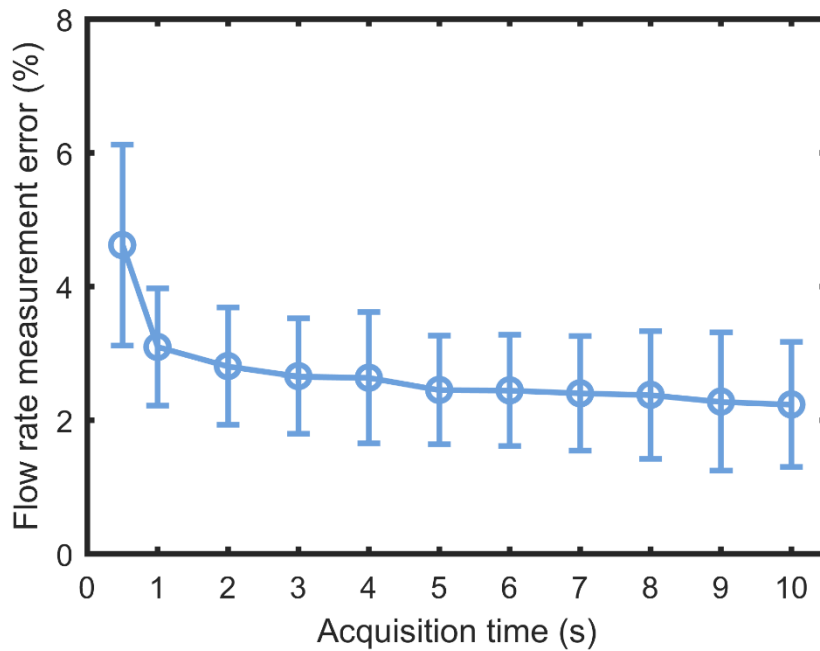


Figure 2. 9 – Erreur de mesure moyenne du débit en fonction du temps d’acquisition.

La Figure 2. 9 montre l’évolution de l’erreur de mesure du débit en fonction du temps d’acquisition moyennée pour toutes les acquisitions et tous les débits. L’erreur converge rapidement en dessous de 3% pour un temps d’acquisition de 2s et décroît ensuite lentement jusqu’à une erreur d’environ 2.6% pour un temps d’acquisition de 10s.

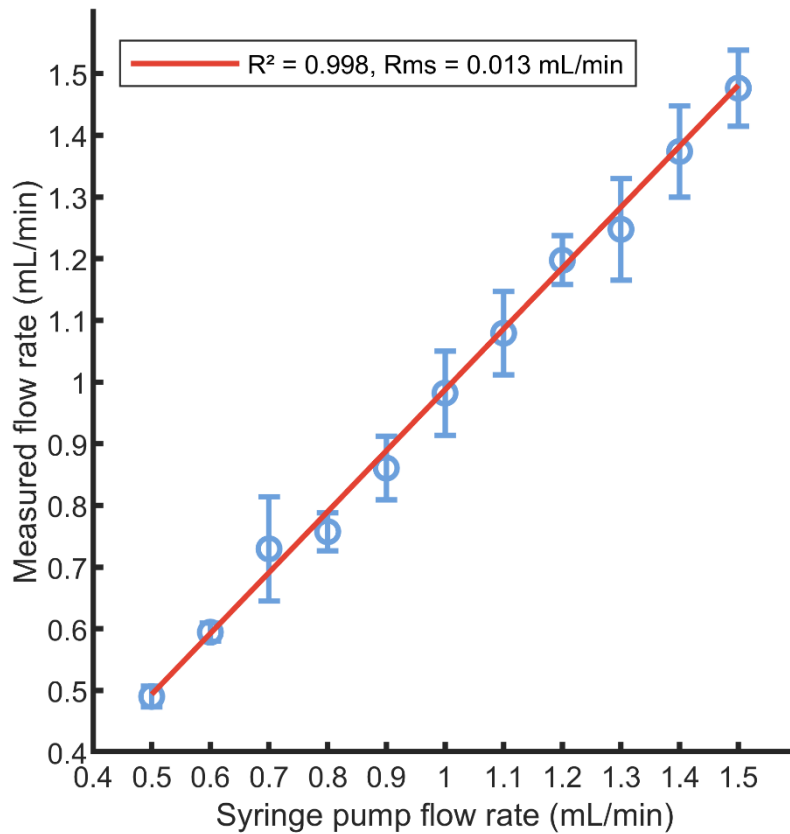


Figure 2. 10 - Régression linéaire entre le débit mesuré et le débit donné par le pousse-seringue pour un temps d'acquisition de 2s. La pente de la régression est de 0.99 (erreur de 1.6%).

La Figure 2. 10 montre le débit mesuré comparé avec le débit donné par le pousse-seringue pour un temps d'acquisition de 2s. La corrélation linéaire de la mesure avec le pousse-seringue est très forte avec un coefficient de détermination de 0,998 et une erreur quadratique moyenne de 0.01mL/min. L'erreur de mesure du débit est affichée dans la Figure 2. 11 pour le même temps d'acquisition de 2s. L'erreur moyenne pour ce temps d'acquisition est de 2,8%. La mesure du débit ne présente pas de biais bien qu'elle soit moins dispersée pour les débits en dessous de 0,8mL/min.

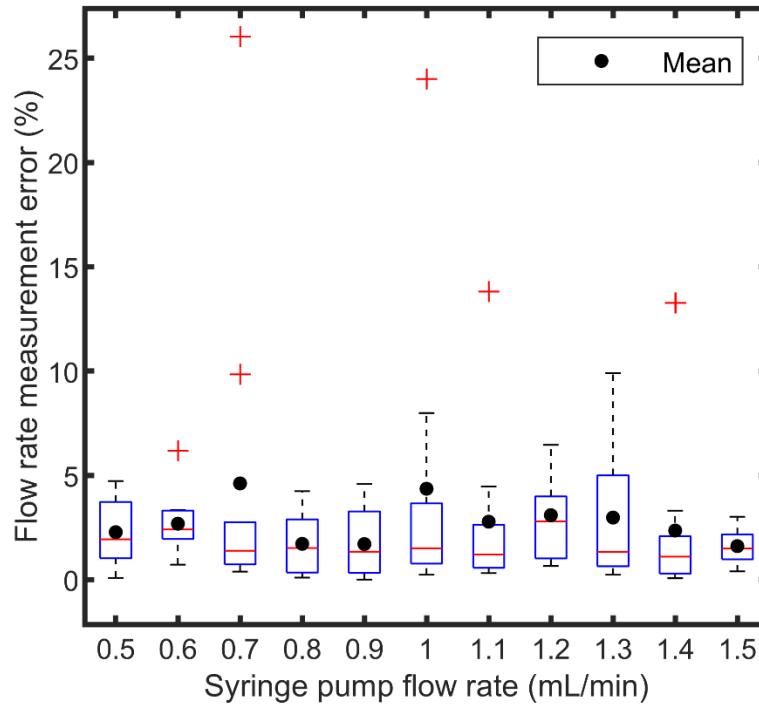


Figure 2. 11 - Erreur de mesure du débit pour un temps d'acquisition de 2s.

2.3.3 Discussion

Malgré la taille réduite du tube de mesure, le rapport signal à bruit de notre dispositif est suffisant pour réaliser un ajustement précis entre les DSPD mesurées et le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011). Cet ajustement mène à une estimation hautement précise du débit de l'écoulement de sang sur toute la gamme de débit testée. De plus, les DSPD convergent vers leur modèle théorique avec une erreur quasi stable au bout de 2s. Ceci confirme la validité de l'approche présentée dans ce chapitre et démontre comment la mesure du débit d'un écoulement de sang *in-vitro* peut être réduite à un simple problème d'optimisation à l'aide de la méthode Doppler continu.

Le faible écart (4%) entre la valeur du rayon du tube estimée lors de la calibration et la valeur du constructeur peut s'expliquer de plusieurs façons. Cet écart pourrait être éventuellement dû à une légère dilatation des parois du tuyau provoquée par le gradient de pression imposé par le pousse-seringue. Une autre explication pourrait être une valeur incorrecte attribuée à un des paramètres de mesure et reportée par l'algorithme d'optimisation sur la valeur du rayon. Une autre raison plausible serait l'invalidité du facteur 2 liant la fréquence Doppler maximum à la fréquence moyenne. Nous reviendrons en détails sur ce point dans le Chapitre 4.

L'estimation du rayon du tube et de la largeur du faisceau avec l'algorithme d'optimisation peut sembler questionnable puisque le rayon est déjà connu de par le constructeur et que la largeur du faisceau peut être estimée expérimentalement. Cependant, il est difficile d'avoir un contrôle total sur tous les paramètres impliqués dans notre expérience. Pour cette raison, l'algorithme d'optimisation permet de vérifier si tous les paramètres utilisés dans le modèle correspondent à leur valeur attendue lorsque le débit estimé est proche de celui donné par le pousse-seringue. Une telle utilisation de l'algorithme d'optimisation est précisément une des forces de notre approche puisque cet algorithme permet une calibration simple de notre système. Or, comme nous l'avons vu lors de l'introduction générale, la calibration d'outils de caractérisation du sang n'est pas toujours une procédure aisée. Ici, l'algorithme d'optimisation nous a permis de souligner que notre système expérimental est capable de mesurer le débit à condition que la valeur du rayon du tube soit fixée à une valeur légèrement plus haute que celle attendue. Cette procédure peut être d'un apport intéressant pour une application industrielle puisqu'elle permettrait par exemple une re-calibration facile du système en cas d'une légère altération du conduit de mesure. Pour la valeur de la

largeur du faisceau la calibration est d'une importance moindre puisqu'il est montré dans l'article de Vilkomerson *et al.* (2011) qu'elle n'influence pas celle de la fréquence Doppler maximum.

Le rapport signal à bruit élevé des DSPD mesurées peut être principalement attribué à la numérisation continue du signal Doppler sur un temps d'acquisition relativement long. Ceci et la nature stable et uniforme de l'écoulement de sang *in-vitro* sont la clé pour réaliser l'ajustement des DSPD expérimentales et théoriques. En conséquence notre méthode de mesure de débit est limitée à une utilisation *in-vitro*. Une autre limitation de la méthode, plus systémique cette fois, est la fréquence d'échantillonnage utilisée qui à 20MHz est proche de la fréquence limite de Nyquist pour le signal émis à 8MHz. De la même façon, le signal pourrait être échantillonné sur plus de 8 bits en utilisant un système expérimental plus sophistiqué. Si ces désavantages sont partiellement compensés par l'utilisation d'un temps d'acquisition long, le rapport signal à bruit pourrait être ainsi augmenté et de même pour la précision du système.

Notre approche de mesure du débit présente peu d'améliorations intrinsèques nécessaires à son intégration dans un contexte pratique. Des développements devront néanmoins être conduits pour trouver un milieu de couplage autre que l'eau, qui n'est pas forcément désirable dans un dispositif médical. Des efforts devront également être faits pour miniaturiser le système de mesure. En théorie, la seule limite de notre approche est que le rapport signal à bruit doit être assez élevé pour correctement ajuster les DSPD expérimentales et théoriques. Ainsi notre méthode n'est à priori pas limitée pour des débits plus hauts que 1,5mL/min. En revanche, une décroissance rapide de ses performances est à prévoir pour des débits aux alentours de 0,1mL/min, là où la fréquence Doppler

maximum sera proche de la fréquence de 80Hz du filtre de rejection (celle-ci correspond à un débit d'environ 0,14mL/min). Cependant, il est toujours possible de réduire le diamètre du tube de mesure pour augmenter la vitesse maximum du sang et ainsi la fréquence Doppler maximum. La perte de signal due à une réduction de la zone de mesure pourra alors être compensée en augmentant la tension fournie à la sonde. Une autre solution pourra être d'augmenter la puissance ultrasonore rétrodiffusée par l'écoulement de sang en élevant la fréquence d'émission ultrasonore.

Reprenons le tableau récapitulatif des divers débitmètres commerciaux donné lors de l'introduction générale :

Modèle	Constructeur	Principe physique	Application(s) donnée(s) par le constructeur	Gamme de débit (mL/min) et précision (liquide utilisé)	Spécifique au sang
Mitos flow rate sensor 3200096	Dolomite (RU)	Thermique	Microfluidique	0,2-5 ± 5% (eau)	Non
Sonoflow CO.55/035 V2.0	Sonotec (All)	Ultrasons « transit-time »	Dialyse, circuits extracorporels	0-300 ± 6mL/min (eau)	Oui
COR Flowmeter Milli+5	COR solutions (RU)	N/A	Microfluidique	0,2-5 ± 2% (eau)	Non

Flow-rate Platform L	Fluigent (FR)	Thermique	Microfluidique	0,04-1 ± 0.7% (eau)	Non
LD20-2600B	Sensirion (SU)	Thermique	Biomédical	0,8-17 ± 0.8% (eau)	Non
MFS 5 Flow Sensor	Elveflow (FR)	Thermique	Microfluidique	0,2-5 ± 5% (eau)	Non
PG-SLI-0025	PreciGenome (USA)	N/A	Microfluidique	0-1.5 ± 10% (eau)	Non
SonoTT	EmTec (FR)	Ultrasons « transit-time »	Sang, dialyse	0-1000 ± 70mL/min (sang)	Oui
BioProTT	EmTec (FR)	Ultrasons « transit-time »	Liquides incluant du sang	0-20 ± 2mL/min (eau)	Pas tout à fait
1PXN	Transonic (USA)	Ultrasons « transit-time »	Sang, organes ex-vivo	5-20 ± 8% (N/A)	Oui

Nous pouvons voir que dans la gamme de débits testée notre prototype de débitmètre présente pour 2s d'acquisition une précision bien meilleure que les débitmètres commerciaux destinés au sang. Si un temps d'acquisition de 2s est supérieur à ceux nécessaires aux débitmètres transit-time, qui sont généralement inférieurs à la seconde, ce premier pourra très certainement être amélioré en optimisant notre système comme

expliqué plus haut. Les débitmètres thermiques restent d'une précision supérieure à notre système mais, encore une fois, cette précision reste à démontrer pour du sang.

Au-delà de l'acoustophorèse et du fractionnement du sang micro-fluidique, le prototype présenté dans ce chapitre représente un outil intéressant pour la circulation extracorporelle. Sa précision reste à prouver pour des débits plus élevés et dans des dimensions plus éloignées de celles de la microfluidique. Néanmoins nous pouvons raisonnablement penser que le haut rapport signal à bruit fourni par la méthode Doppler continu peut être un atout majeur pour de telles applications. Dans ce sens, une étude comparant notre méthode aux débitmètres transit-time dans les gammes de débits de la circulation extracorporelle serait d'un apport précieux.

2.4 Conclusion du chapitre

Nous avons proposé dans ce chapitre une nouvelle adaptation de la méthode Doppler continu pour mesurer le débit d'un écoulement de sang *in-vitro*. Plus précisément cette méthode a été conçue selon les spécifications techniques des dispositifs de fractionnement d'Aenitis et montre une précision dans une gamme de débits bas qui n'avait pas été démontrée par une autre technique. Egaleme nt la méthode est prometteuse pour une application plus large à la circulation extracorporelle en général. La nouveauté principale de notre approche est d'utiliser des développements théoriques récents pour proposer une implémentation optimale, versatile et précise de la méthode Doppler. Cette étude démontre comment des aspects fondamentaux de la méthode Doppler ultrasonore peuvent être facilement adaptés *in-vitro* et comment cette adaptation peut aider à l'émergence de nouvelles technologies de traitement et de manipulation du sang.

2.5 Références

Aarts, P. A., S. A. van den Broek, G. W. Prins, G. D. Kuiken, J. J. Sixma, and R. M. Heethaar. 1988. "Blood Platelets Are Concentrated near the Wall and Red Blood Cells, in the Center in Flowing Blood." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 8 (6): 819–24.

Aaslid, Rune. 2006. "Cerebral Autoregulation and Vasomotor Reactivity." *Frontiers of Neurology and Neuroscience* 21 (February): 216–28.

Cloutier, G., Z. Qin, L. G. Durand, and B. G. Teh. 1996. "Power Doppler Ultrasound Evaluation of the Shear Rate and Shear Stress Dependences of Red Blood Cell Aggregation." *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* 43 (5): 441–50.

Cobbold, R. S. C. 2006. *Foundations of Biomedical Ultrasound* - Richard S. C. Cobbold. Oxford: Oxford University Press.

Gill, Robert W. 1985. "Measurement of Blood Flow by Ultrasound: Accuracy and Sources of Error." *Ultrasound in Medicine and Biology* 11 (4): 625–41.

Grant, Edward G., Carol B. Benson, Gregory L. Moneta, Andrei V. Alexandrov, J. Dennis Baker, Edward I. Bluth, Barbara A. Carroll, *et al.* 2003. "Carotid Artery Stenosis: Gray-Scale and Doppler US Diagnosis--Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference." *Radiology* 229 (2): 340–46.

Kathpalia, Aditi, Yucel Karabiyik, Sturla H. Eik-Nes, Eva Tegnander, Ingvild Kinn Ekroll, Gabriel Kiss, and Hans Torp. 2016. "Adaptive Spectral Envelope Estimation for Doppler Ultrasound." *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 63 (11): 1825–38.

Marasek, K., and A. Nowicki. 1994. "Comparison of the Performance of Three Maximum Doppler Frequency Estimators Coupled with Different Spectral Estimation Methods." *Ultrasound in Medicine & Biology* 20 (7): 629–38.

Ricci, S. 2014. "An Analytical Model of the Doppler Spectrum for Peak Blood Velocity Detection." In 2014 IEEE International Ultrasonics Symposium, 2241–44.

Sherwood, Joseph M., David Holmes, Efstathios Kaliviotis, and Stavroula Balabani. 2014. "Spatial Distributions of Red Blood Cells Significantly Alter Local Haemodynamics." *PLoS ONE* 9 (6).

Steinman, A. H., J. Tavakkoli, J. G. Myers, R. S. C. Cobbold, and K. W. Johnston. 2000. "A New Approach for Determining Maximum Frequency in Clinical Doppler Ultrasound Spectral Estimates." In *Proceedings of the 22nd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society* (Cat. No.00CH37143), 4:2640–43 vol.4.

Thompson, R. S., and G. K. Aldis. 1996. "Effect of a Cylindrical Refracting Interface on Ultrasound Intensity and the CW Doppler Spectrum." *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* 43 (5): 451–59.

Thompson, R. S., G. K. Aldis, and I. W. Linnett. 1990. "Doppler Ultrasound Spectral Power Density Distribution: Measurement Artefacts in Steady Flow." *Medical and Biological Engineering and Computing* 28 (1): 60–66.

Thompson, R. S., P. Tortoli, and G. K. Aldis. 2000. "Selective Transmission of a Focused Doppler Ultrasound Beam through a Plastic Layer." *Ultrasound in Medicine & Biology* 26 (8): 1333–46.

Thompson, Rosemary S., Giacomo Bambi, Robin Steel, and Piero Tortoli. 2004. "Intraluminal Ultrasound Intensity Distribution and Backscattered Doppler Power." *Ultrasound in Medicine & Biology* 30 (11): 1485–94.

Tortoli, Piero, Gabriele Guidi, and Vernon L. Newhouse. 1995. "Improved Blood Velocity Estimation Using the Maximum Doppler Frequency." *Ultrasound in Medicine and Biology* 21 (4): 527–32.

Vilkomerson, D., P. Tortoli, and S. Ricci. 2011. "Determining the Peak Velocity in a Blood Flow from Its Doppler Spectrum." In *2011 IEEE International Ultrasonics Symposium*, 276–79.

CHAPITRE 3 : PUISSANCE SPECTRALE DOPPLER ET MESURE DE L'HÉMATOCRITE

Ce chapitre démontre comment le dispositif expérimental présenté lors du Chapitre 2 peut être paramétré selon la puissance spectrale Doppler totale afin de mesurer l'hématocrite dans une gamme inférieure à 8%. Cette mesure est destinée aux dispositifs de fractionnement du sang issus de la microfluidique et opérant sur du sang dilué. Son principal avantage est de pouvoir être effectuée avec la mêmes signaux que la mesure de débit. Le contenu de ce chapitre fait également parti de la publication mentionnée précédemment (« Flow rate and low hematocrit measurement for in vitro blood processing », Pialot *et al.* *IEEE Transactions on Ultrasonics Ferroelectrics and Frequency Control*, 2020) ainsi que du brevet (“Method and device for determining a flow rate and/or a concentration of particles of a fluid”).

3.1 Introduction

Le débitmètre présenté lors du Chapitre 1 se focalise uniquement sur la largeur de la bande fréquentielle occupée par la DSPD au travers du modèle de Vilkomerson *et al.* (2011). La façon dont se répartit la puissance du signal mesuré dans cette bande fréquentielle fut ainsi occultée (nous parlerons par la suite de puissance spectrale). Pourtant, la puissance du signal ultrasonore est porteuse d'informations sur les états physiques des globules rouges. Nous avons notamment vu que le coefficient de rétrodiffusion du sang, abrégé par l'appellation *BSC*, est une fonction non linéaire de l'hématocrite (Shung *et al.* 1976, Shung *et al.* 1984). Cette relation est plus précisément

non bijective et présente un maximum pour du sang bovin à un hémocrite d'environ 13% (Yuan et Shung 1988). Nous avons également vu que cette relation dépend des conditions d'écoulements ainsi que de l'état d'agrégation du sang (Shung 1984, Yuan et Shung 1988, Cloutier et Qin 1997).

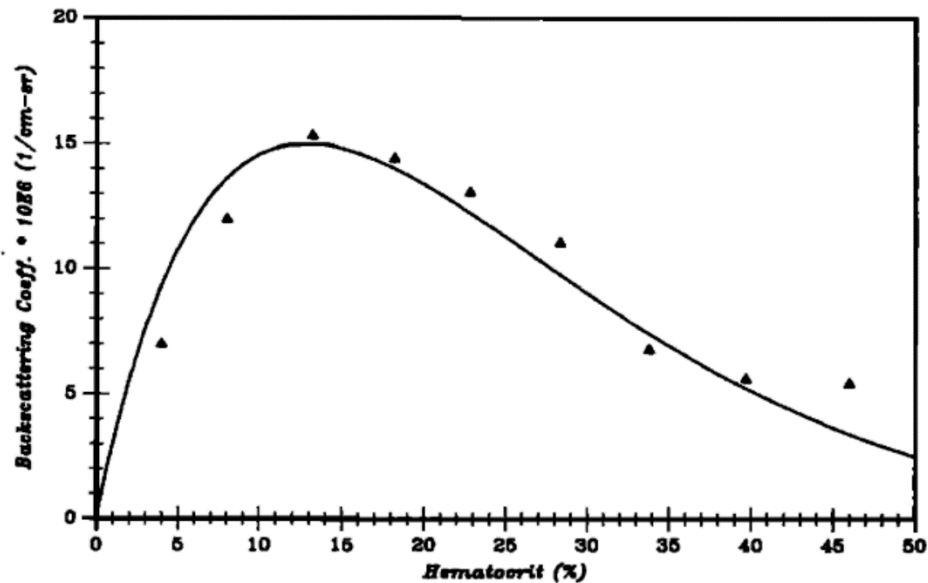


Figure 1. 19 – Rappel : mesures du coefficient de rétrodiffusion de sang de porc ajustées avec un modèle « packing factor » (Yuan et Shung 1988).

Il est important de noter que la puissance spectrale est proportionnelle à la puissance ultrasonore rétrodiffusée mais n'en est pas une mesure directe. En effet, la puissance spectrale est en réalité estimée à partir du signal électrique transmis à la chaîne d'acquisition et de traitement par le transducteur captant les ultrasons. Ainsi, une mesure directe de la puissance ultrasonore rétrodiffusée nécessiterait de normaliser les signaux mesurés par une mesure de référence. La normalisation des signaux rétrodiffusés est notamment une approche classique pour mesurer le *BSC* dans le sang (Wang et Shung 1997, Franceschini et Guillermin 2012).

3.2 Modèle de Bascom et Cobbold

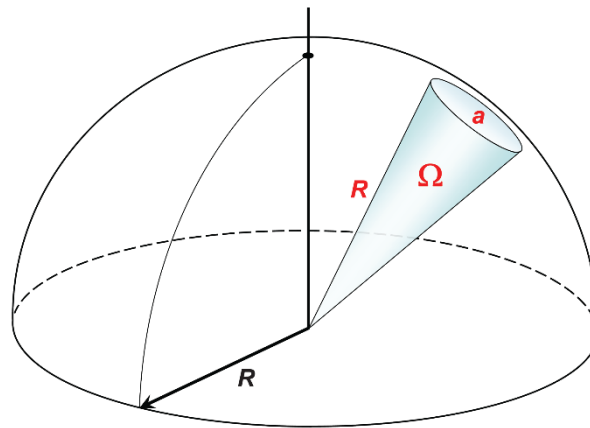


Figure 3. 1 – Angle solide entre un volume infinitésimal de sang et un récepteur ultrasonore (socratic.org). Le volume infinitésimal de sang correspond ici à la pointe du cône bleu et le récepteur ultrasonore à l’aire a . L’angle solide Ω est égal à $\frac{a}{R^2}$.

Le lien entre la DSPD et le *BSC* a été développé dans un article théorique de Bascom et Cobbold (1996). Leur raisonnement part de l’expression de la puissance ultrasonore dp rétrodiffusée par un volume élémentaire de sang dV :

$$dp = \Omega BSC dV \quad (27)$$

Où Ω est l’angle solide entre dV et le récepteur. En supposant que l’on ait un accès direct à la puissance ultrasonore rétrodiffusée sans devoir tenir compte du système d’acquisition, la DSPD de la fréquence Doppler f_d est définie telle que l’expression $DSPD(f_d)df_d$ (qui est l’aire occupée par un rectangle de hauteur $DSPD(f_d)$ et de largeur infinitésimale df_d) soit la puissance rétrodiffusée totale dans la bande fréquentielle $[f_d, f_d + df_d]$ (voir Figure 3. 2). Cette définition donne une DSPD dont l’unité est le $W \cdot Hz^{-1}$, ce qui correspond bien à du $V^2 \cdot Hz^{-1}$ lorsque la DSPD est estimée à partir du signal électrique provenant d’un

transducteur. La définition peut aussi être transposée dans l'espace des vitesses où $DSPD(v(r))dv$ est la puissance rétrodiffusée totale dans l'intervalle des vitesses $[v(r), v(r) + dv]$ où $v(r)$ est la vitesse correspondant à f_d via l'équation Doppler (4).

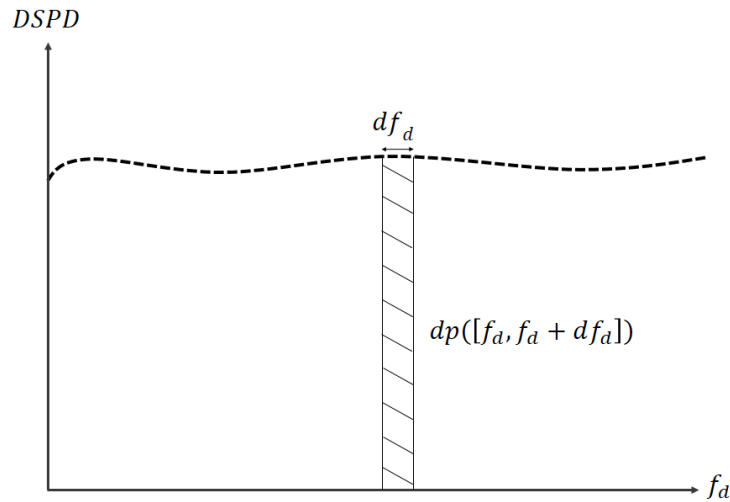


Figure 3. 2 – Relation entre l'amplitude de la DSPD et la puissance rétrodiffusée totale dp dans l'intervalle $[f_d, f_d + df_d]$.

Pour calculer l'expression de la DSPD, Bascom et Cobbold utilisent une discrétisation du profil des vitesses semblable à celle utilisée quelques dizaines d'années plus tard par Vilkomerson *et al.* (2011). Il est à noter que dans l'article, Bascom et Cobbold attribuent cette méthode à une étude antérieure de Røevros (1974). Cette discrétisation est faite selon des anneaux concentriques de largeur $r + dr$. Contrairement au modèle de Vilkomerson *et al.* (2011), les anneaux sont ici en trois dimensions et présentent une longueur le long du tube égale à celle de la zone d'insonification. Nous les dénommerons dans la suite par « coquille » comme dans l'article original. Ces coquilles sont décrites par un système de coordonnées cylindriques (r, φ, z) dont le volume infinitésimal est $dV = r dr d\varphi dz$.

En reprenant une formulation analogue au modèle hybride de Mo et Cobbold (1992, équation (17)), l'expression (27) devient :

$$dp = \Omega \sigma_s(r, \varphi) \frac{\xi(r, \varphi, H)}{\Delta V} dV \quad (28)$$

Où ΔV est un volume élémentaire arbitraire et $\xi(r, \varphi, H)$ est la variance du nombre de globules rouges qu'il contient. Ce volume arbitraire est suffisamment petit pour que l'on puisse supposer que la phase de l'onde ultrasonore incidente est la même pour chaque globule rouge contenu en son sein. Nous pouvons voir qu'une dépendance spatiale a cette fois-ci été incorporée pour ξ ainsi que pour la section transverse de rétrodiffusion σ_s .

La puissance rétrodiffusée par tous les globules rouges d'une coquille dans l'espace des vitesses sera alors :

$$dp([v(r), v(r) + dv]) = \iiint \Omega \sigma_s(r, \varphi) \frac{\xi(r, \varphi, H)}{\Delta V} r dr d\varphi dz$$

Il est maintenant supposé que chaque coquille de largeur $r + dr$ est suffisamment petite pour que la dépendance radiale de σ_s et de ξ selon la coordonnée r puisse être négligée au sein d'une même coquille. L'expression devient :

$$dp([v(r), v(r) + dv]) = l \Omega r dr \int_0^{2\pi} \sigma_s(r, \varphi) \frac{\xi(r, \varphi, H)}{\Delta V} d\varphi \quad (29)$$

Où l est la longueur de la zone d'insonification. Par définition la puissance rétrodiffusée totale dans l'intervalle $[v(r), v(r) + dv]$ est égale à $DSPD(v(r))dv$. On a donc $dp([v(r), v(r) + dv]) = DSPD(v(r))dv$ et on obtient l'expression suivante pour la DSPD :

$$DSDP(v(r)) = l\Omega r \frac{dr}{dv(r)} \int_0^{2\pi} \sigma_s(r, \varphi) \frac{\xi(r, \varphi, H)}{\Delta V} d\varphi \quad (30)$$

En utilisant le fait que le packing factor peut s'exprimer selon $N_{RBC}(r, \varphi, H)W(r, \varphi, H) = \frac{\xi(r, \varphi, H)}{\Delta V}$ où N_{RBC} est le nombre de globules rouges par unité de volume (cette relation permet notamment de passer du modèle hybride au modèle « particule » via le fait que $N_{RBC} = H/V_{RBC}$, Cobbold 2006), Bascom et Cobbold expriment finalement la DSPD de la manière suivante :

$$DSDP(v(r)) = l\Omega r \frac{dr}{dv(r)} \int_0^{2\pi} \sigma_s(r, \varphi) N_{rbc}(r, \varphi, H) W(r, \varphi, H) d\varphi$$

Soit en passant dans le domaine fréquentiel :

$$DSDP(f_d) = \left| l\Omega r \frac{dr}{dv(r)} \int_0^{2\pi} \sigma_s(r, \varphi) N_{rbc}(r, \varphi, H) W(r, \varphi, H) d\varphi \right|_{r=r_d} \quad (31)$$

Où $r = r_d$ signifie que l'on considère la coquille pour laquelle $v(r)$ correspond à la fréquence Doppler f_d via l'équation Doppler (4). L'expression (31) montre analytiquement que l'amplitude de la DSDP peut être influencée par des variations locales du nombre de globules rouges (et donc du volume moyen des globules rouges pour un hémocrite donné), de la section transverse de rétrodiffusion et du packing factor. Cette expression démontre donc que la puissance rétrodiffusée se répartit dans la bande fréquentielle de la DSDP d'une manière qui est influencée par des variations locales des trois quantités suscitées. Comme avancé par Bascom et Cobbold, cette expression illustre au passage pourquoi la fréquence moyenne de la DSDP telle que déterminée par l'équation (23) peut

être faussée par des inhomogénéités locales dans l'écoulement ou dans l'organisation spatiale des globules rouges (et donc entre autres par l'agrégation).

3.3 Relation entre l'hématocrite et la puissance spectrale totale

Dans le Chapitre 2, nous avons présenté la condition d'insonification uniforme ainsi que ses limitations. Nous rappelons que la condition d'insonification uniforme décrit une mesure ultrasonore réalisée à partir d'un champ de pression acoustique et d'un écoulement de sang homogènes dans tout le tube de mesure (Gill, 1985). Si nous transposons cette condition à l'équation (31), les quantités $\sigma_s(r, \varphi)$, $N_{rbc}(r, \varphi, H)$ et $W(r, \varphi, H)$ deviennent indépendantes de toute coordonnée spatiale et nous pouvons alors écrire :

$$DSDP(f_d) = \left| 2\pi l \Omega \sigma_s N_{rbc}(H) W(H) r \frac{dr}{dv(r)} \right|_{r=r_d} \quad (32)$$

Comme vu précédemment on a $N_{RBC} = H/V_{RBC}$ avec V_{RBC} qui est le volume moyen des globules rouges et :

$$DSDP(f_d) = \left| 2\pi l \Omega \sigma_s \frac{H}{V_{RBC}} W(H) r \frac{dr}{dv(r)} \right|_{r=r_d} \quad (33)$$

Nous pouvons donc voir que, sous l'hypothèse d'une insonification uniforme, l'expression analytique de la DSDP devient directement proportionnelle à l'hématocrite (Bascom et Cobbold 1996).

De plus, nous considérons dans ce manuscrit que l'écoulement de sang *in-vitro* est suffisamment stable pour présenter un profil des vitesses constant au cours du temps. Ainsi le terme $r \frac{dr}{dv(r)}$ sera toujours identique pour une coquille donnée. Mais également,

l'intégrale de $r \frac{dr}{dv(r)}$ sur l'ensemble du tube restera elle aussi identique. Cette intégrale dans le domaine fréquentiel décrit donc la puissance spectrale totale du signal Doppler rétrodiffusé. Si nous la notons I_{DSDP} son expression est:

$$I_{DSDP} = a'HW(H) \quad (34)$$

Avec a' une constante dépendant de la longueur l du volume de tube insonifié, de l'angle solide Ω entre ce volume et la sonde Doppler, du volume moyen des globules rouges V_{RBC} et de la section transverse de rétrodiffusion des globules rouges σ_s (qui dépend elle-même du volume moyen).

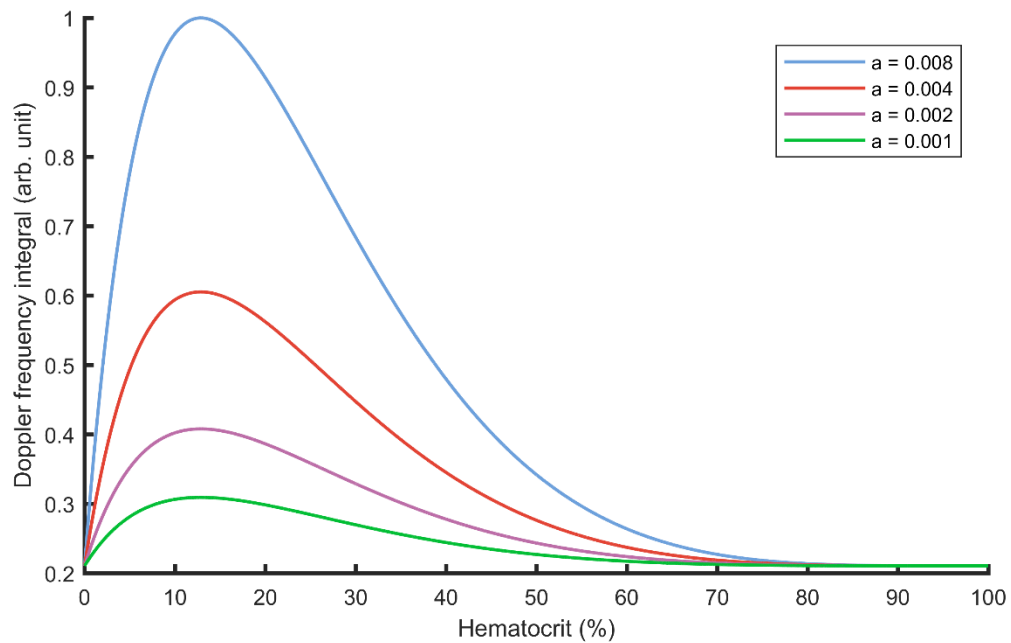


Figure 3. 3 – Illustration graphique de l'équation (35) pour différentes valeurs de a et pour $m = 3$ ainsi que $b = 0.0001$. Les courbes sont normalisées par le maximum de (35) pour $a = 0.008$.

Nous avons supposé jusqu'ici que la DSDP que nous modélisons est la « vraie » densité spectrale de puissance du signal Doppler, sans tenir compte du système d'acquisition. Si les caractéristiques du système d'acquisition sont incorporées dans la constante a' renommée a et que nous ajoutons une constante b pour tenir compte du signal résiduel présent à $H = 0\%$, nous pouvons finalement écrire l'équation suivante :

$$I_{DSDP} = aH \frac{(1 - H)^{m+1}}{[1 + H(m - 1)]^{m-1}} + b \quad (35)$$

Où le packing factor a été développé selon son expression en fonction de l'hématocrite. Cette relation montre comment, sous l'hypothèse simplificatrice d'insonification uniforme, la puissance spectrale totale telle que mesurée par notre système d'acquisition suit la même relation avec l'hématocrite que le *BSC*.

3.4 Travail présenté

Dans la suite de ce chapitre, nous proposons d'évaluer expérimentalement via l'expression (35) la sensibilité de l'énergie spectrale Doppler mesurée par notre système aux variations d'hématocrite. Nous mesurons dans cette idée les intégrales fréquentielles des DSPD de 4 poches de sang issue de 4 donneurs différents pour des hématocrites entre 1% et 18%. Nous ajustons ensuite l'équation (35) à ces mesures. Nous montrons alors que cette équation peut être inversée afin de mesurer l'hématocrite d'un échantillon de sang dilué dans une gamme inférieure à 8% et ceci à partir des mêmes signaux que ceux utilisés pour estimer le débit.

Nous discutons ensuite des limites de cette mesure et notamment de pourquoi celle-ci doit être restreinte dans notre système à un hématocrite aussi bas. Aussi, nous discuterons des

applications potentielles d'une mesure d'hématocrite dans cette gamme pour l'acoustophorèse et les dispositifs microfluidiques de fractionnement du sang.

3.4.1 Evaluation expérimentale du modèle packing factor

3.4.1.1 Méthodes

Les mesures de DSPD ont été réalisées à partir de 4 poches de sangs issues de 4 donneurs différents de l'Etablissement Français du Sang. Le débit était fixé à 1mL/min pour le même dispositif expérimental que présenté au Chapitre 2. Chaque poche de sang fût diluée dans son propre plasma afin d'obtenir 10 échantillons de sang entre 1% et 18%. L'hématocrite fût mesuré avec un automate d'analyse médical ABX Pentra 80 (Horiba, Japon). Le temps d'acquisition des signaux était cette fois de 5s et 30 acquisitions ont été réalisées pour chaque échantillon de sang. Tout comme pour les mesures de débit, la seringue était rechargée en sang et agitée doucement à la main toutes les 50s. Le dispositif expérimental de mesure fût démonté et réassemblé à chaque changement de poche de sang. La pression acoustique émise par la sonde et les paramètres d'acquisition étaient les mêmes que pour la mesure de débit. Le filtrage des signaux et leur démodulation étaient aussi strictement équivalents à la mesure de débit et furent réalisés pour des temps d'acquisitions variant de 1s à 5s avec un pas de 1s.

Chaque signal temporel fût segmenté en 5 segments temporels et l'intégrale fréquentielle de la DSPD de chaque segment fût estimée. La médiane des 5 intégrales fréquentielles fût ensuite retenue comme la valeur de l'intégrale fréquentielle de la DSPD du signal temporel initial. Ce procédé permet d'éviter une surestimation des intégrales fréquentielles due à des passages ponctuels de bulles d'air. Le débit fût de plus estimé pour chaque DSPD en

utilisant la méthode décrite au Chapitre 2 et les erreurs de mesures relatives au pousse-seringue furent calculées.

Afin d'évaluer la réponse de notre système expérimental à des changements d'hématocrite, les paramètres a, b et m de l'équation (35) furent estimés expérimentalement. Pour cela, l'équation (35) fût ajustée aux intégrales fréquentielles des DSPD des 4 poches de sang à l'aide d'un algorithme « iterative reweighted least square » avec a et m en tant que paramètres d'ajustement. La convergence de l'ajustement fût évaluée en effectuant ce dernier 10 fois avec des points de départ variant selon une distribution aléatoire suivant une loi normale. Pour estimer b , 10 acquisitions de 5s furent réalisées dans de l'eau distillée et les intégrales fréquentielles correspondantes furent estimées. La valeur moyenne de toutes les acquisitions fut ensuite retenue pour b .

3.4.1.2 Résultats

La Figure 3. 4 illustre les intégrales fréquentielles des DSPD mesurées pour les échantillons de sang dilué avec un ajustement de l'équation (35). La valeur de b estimée avec l'eau distillée est $4,1 \cdot 10^{-6} \text{ V}^2$. L'écart type correspondant est de $\pm 4 \cdot 10^{-7} \text{ V}^2$. Les valeurs ajustées de a et m sont respectivement $1,10 \pm 0,01 \cdot 10^{-3} \text{ V}^2$ et $3,3 \pm 0,2$. L'ajustement de l'équation (35) atteint son maximum pour un hématocrite d'environ 12%. L'erreur quadratique moyenne de l'ajustement est égale à $6,0 \cdot 10^{-6} \text{ V}^2$. Les écarts types entre les 10 itérations de l'algorithme sont de $2 \cdot 10^{-7} \text{ V}^2$ pour a et de $3 \cdot 10^{-4}$ pour m .

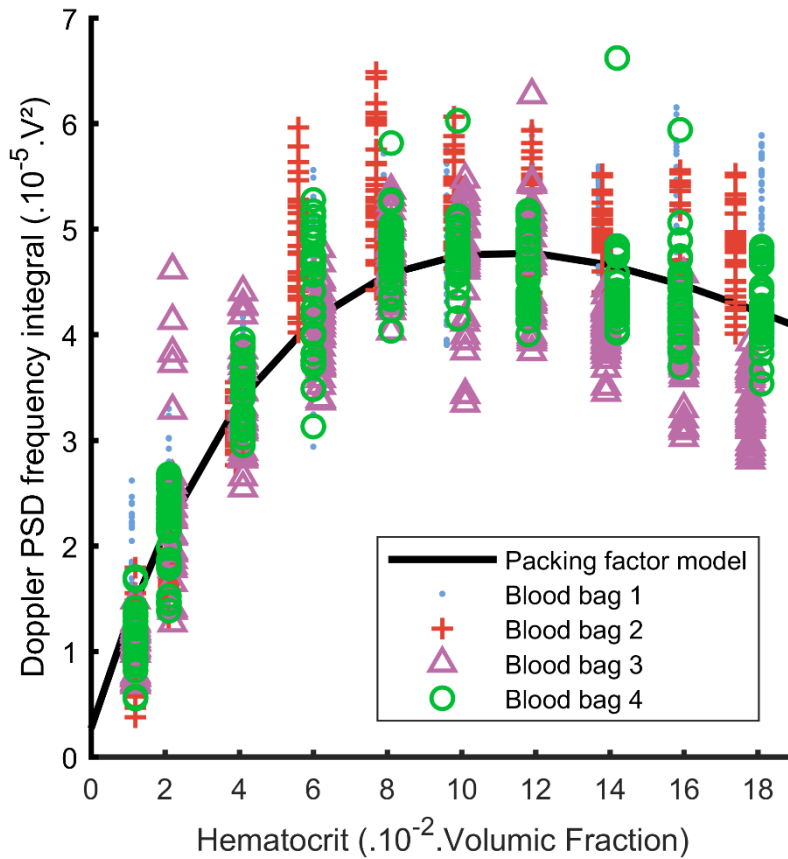


Figure 3. 4 – Intégrales fréquentielles mesurées des signaux Doppler avec un ajustement de l'équation (35).

3.4.2 Mesure de l'hématocrite d'un échantillon de sang dilué

3.4.2.1 Méthodes

La mesure de l'hématocrite à partir des intégrales fréquentielles des DSPD fut réalisée selon la procédure suivante pour chaque poche de sang. Celle-ci fut réalisée uniquement pour un hématocrite inférieur à 8%. Premièrement, un ajustement entre les intégrales fréquentielles des DSPD des 3 autres poches de sang et l'équation (35) fut réalisé afin d'estimer des valeurs de calibration pour a et m . La valeur de b fut gardée identique

à précédemment. Ces valeurs furent ensuite utilisées pour estimer l'hématocrite en minimisant l'expression suivante à l'aide de l'algorithme de Nelder-Mead :

$$\operatorname{argmin} \left\| I_{DPSD} - aH \frac{(1-H)^{m+1}}{[1+H(m-1)]^{m-1}} - b \right\| \quad (36)$$

Les points de départs de l'algorithme furent déterminés de manière aléatoire selon une loi normale entre 0,5% et 8,5% d'hématocrite. Les erreurs de mesures relatives à l'hématocrite mesuré par le Pentra ABX furent calculées pour chaque intégrale fréquentielle.

3.4.2.2 Résultats

L'erreur moyenne de la mesure d'hématocrite en fonction du temps d'acquisition est donnée en Figure 3.5 pour chaque poche de sang séparément. L'erreur moyenne décroît avec le temps d'acquisition et est en dessous de 1,2% Hct pour un temps d'acquisition de 5s pour les 4 poches.

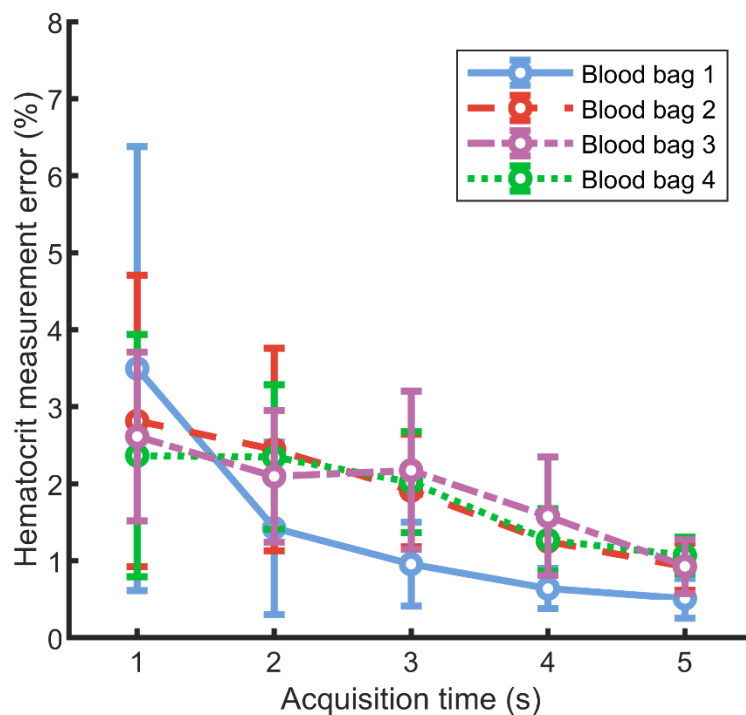


Figure. 3. 5 - Erreur relative de la mesure de l'hématocrite moyennée pour toutes les acquisitions et tous les hématocrites en fonction du temps d'acquisition.

La Figure 3. 6 donne l'erreur de mesure du débit moyennée pour toutes les acquisitions de 5s réalisées pour la mesure de l'hématocrite, toujours de manière séparée pour chaque poche de sang. Pour les 4 poches, l'erreur est au-dessus de 5% pour des hématocrites de 1% et 2% et se stabilise autour de 2% pour des hématocrites au-dessus de 4%.

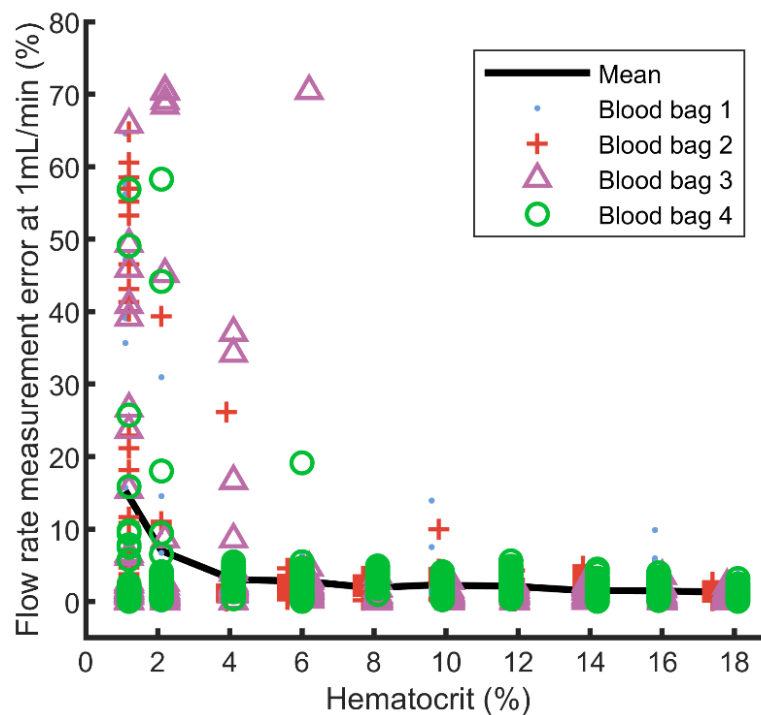


Figure. 3. 6. - Erreur relative de la mesure de débit en fonction de l'hématocrite pour les 4 poches de sang (débit du pousse-seringue : 1mL/min).

La Figure 3. 7 reporte les résultats de la mesure d'hématocrite pour un temps d'acquisition de 5. Il y a une bonne corrélation linéaire entre l'hématocrite mesurée et l'hématocrite estimée par le Pentra ABX pour les poches de sang 2, 3 et 4 avec des coefficients de corrélation proches de 1 et des erreurs quadratiques moyennes en dessous de 1% Hct. La poche 1 présente un coefficient de corrélation plus faible de 0,62 dû à un point aberrant à un hématocrite de 8% et une erreur quadratique moyenne de 1,1% Hct.

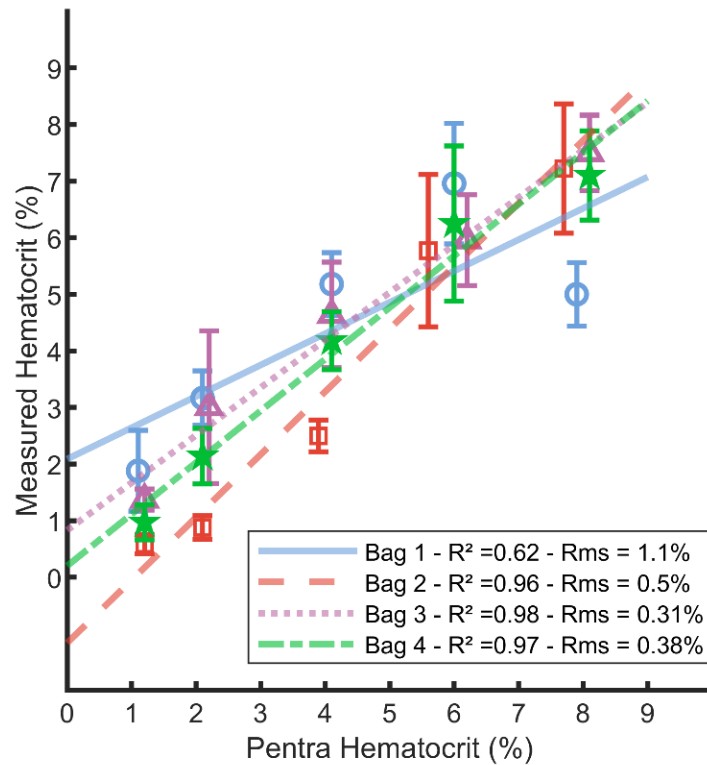


Figure. 3. 7. - Comparaison entre l'hématocrite mesurée et l'hématocrite de référence pour les 4 poches de sang (débit du pousse-seringue : 1mL/min).

L'erreur de la mesure d'hématocrite moyennée sur toutes les valeurs d'hématocrite pour les 4 poches de sang est donnée en Figure 3. 8 et ceci pour un temps d'acquisition de 5s. Cette erreur est de respectivement 1,4%, 1,1% 0,67% et 0,7% pour les poches 1, 2, 3 et 4. Excepté pour la poche 1 à un hématocrite de 8%, l'erreur est distribuée de manière homogène dans toute la gamme d'hématocrite investiguée.

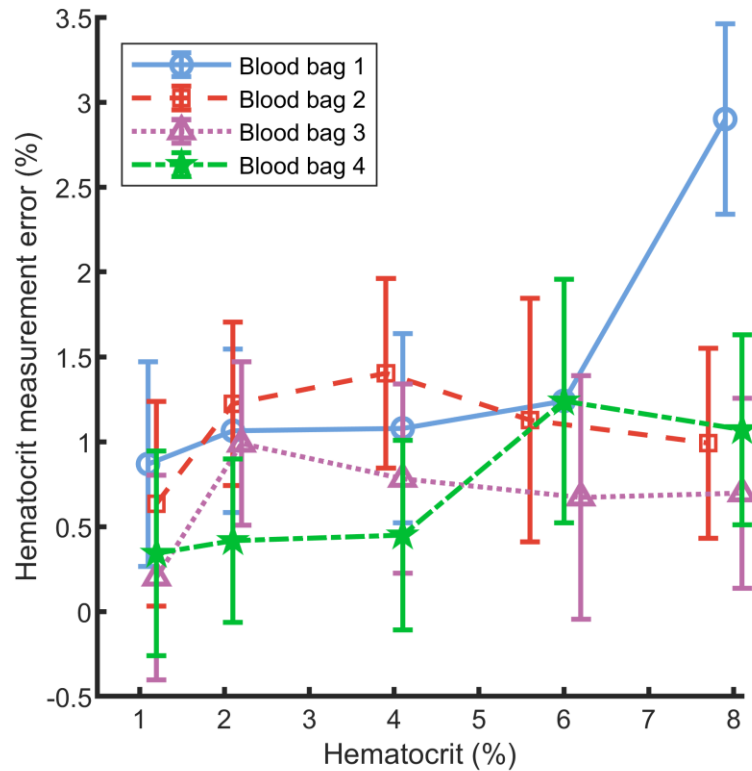


Figure. 3. 8. - Erreur relative de la mesure d'hématocrite pour les 4 poches de sang (débit du pousse-seringue : 1mL/min).

3.4.3 Discussion

Nos résultats tendent à prouver que l'hématocrite peut être mesurée via l'énergie du signal Doppler dans une gamme inférieure à 8%, pour laquelle sa relation avec le *BSC* est quasi-linéaire. Pour les 4 poches de sang, la mesure présente une erreur en-dessous de 1,5% Hct et ceci pour des temps d'acquisition de 5s. La valeur maximum de l'équation (35) ajustée aux mesures coïncide avec le maximum autour de 13% observé précédemment par Yuan et Shung (1988) pour du sang bovin non agrégé. L'écart type négligeable pour l'estimation de a et m à partir de points de départ aléatoires démontre que l'algorithme d'ajustement est robuste. L'erreur de $\pm 0,2$ pour la valeur de m montre que, dans certains

cas, la valeur de m dans notre système approchera 3, correspondant ainsi au cas où les globules rouges sont assimilés à des sphères d'un point de vue acoustique. Ceci est également en accord avec l'étude de Yuan et Shung (1988). Dans le cas où m est supérieur à 3, nous pouvons potentiellement nous référer à une étude réalisée par Bascom et Cobbold (1995). Dans celle-ci, les auteurs ont suggéré que m pouvait possiblement prendre des valeurs décimales supérieures à 3. Plus précisément, Bascom et Cobbold montrèrent qu'une valeur de 3,26 pour m correspondait à des globules rouges modélisées par des capsules (« spherocylinders »). Dans tous les cas, les résultats confirment que modéliser la dépendance de la puissance spectrale Doppler totale mesurée par notre système envers l'hématocrite par un simple modèle de packing factor est une approximation valable.

Il peut être vu de manière claire dans la Figure 3. 4 qu'une mesure de l'hématocrite au-dessus de 12% serait d'une faible précision en raison de la variance importance des intégrales fréquentielles des DSDP dans cette gamme. Cette variance ainsi que la forte non-linéarité de la relation pour des hématocrites de 10%-12% expliquent pourquoi la mesure d'hématocrite doit être limitée en dessous de 8% pour être applicable en pratique.

La haute variance des intégrales fréquentielles des DSPD peut avoir été éventuellement causée par la présence d'agrégats de globules rouges dans l'écoulement. Comme vu en introduction, il est en général admis que l'agrégation devient mineure pour du sang non pathologique au-delà d'un taux de cisaillement d'environ 100s^{-1} (Schmid-Schönbein *et al.* 1968, Cloutier *et al.* 1996, Xu *et al.* 2013, Baskurt *et al.* 2019). En utilisant l'expression donnée dans l'étude de Cloutier *et al.* (1996), le taux de cisaillement moyen théorique dans le tube de mesure sous l'hypothèse d'un profil des vitesses parabolique peut être calculé à 263s^{-1} pour un débit de $1\text{mL}/\text{min}$. Récemment, De Monchy *et al.* (2018) ont mis en

évidence théoriquement que le *BSC* d'un mélange de globules rouges agrégés et désagrégés devrait être plus haut que celui d'un mélange de globules rouges désagrégés. Suivant ce développement, une expérience supplémentaire fut conduite à partir de globules rouges lavés et suspendus dans de la saline, qui est connue pour inhiber l'agrégation. Pour ce faire, 10 intégrales fréquentielles Doppler ont été estimées pour des signaux acquis à 5%, 10% et 15% d'hématocrite ($\pm 0,2\%$) à partir de globules rouges en suspension dans du plasma et de la saline. Les globules rouges provenaient tous de la même poche de sang. Les intégrales fréquentielles furent normalisées par la quantité suivante :

$$\left[\frac{\kappa_{rbc} - \kappa_0}{\kappa_0} + \frac{\rho_0 - \rho_{rbc}}{\rho_{rbc}} \right]^2 \quad (37)$$

Où κ_0 et ρ_0 sont la compressibilité et la densité du milieu de suspension des globules rouges. Cette quantité provient de l'expression de la section transverse de rétrodiffusion (équation 14). Normaliser par cette quantité permet de prendre en compte la rupture d'impédance acoustique entre les globules rouges et leur milieu de suspension (Cobbold 2006). En effet, cette rupture influence directement la valeur de la section transverse de rétrodiffusion et doit donc être prise en compte si l'on veut comparer les intégrales fréquentielles de globules rouges suspendues dans deux milieux différents. Les valeurs pour les compressibilités et les densités des globules rouges, du plasma et de la saline furent sélectionnées dans une étude de Shung *et al.* (1976). Le résultat de la comparaison entre globules rouges suspendues dans du plasma et de la saline est donné par la Figure 3. 9. Les intégrales fréquentielles des DSPD mesurées pour des globules rouges suspendus dans du plasma sont en moyenne 1.4 fois plus élevées que celles de leurs analogues suspendus dans de la saline. Ce résultat suggère que malgré le taux de cisaillement élevé dans le tube de

mesure, la présence d'agrégats de globules rouges dans l'écoulement ne devrait pas être négligée. Ainsi des expériences supplémentaires seront nécessaires pour une meilleure caractérisation de l'agrégation des globules rouges dans notre dispositif de mesure.

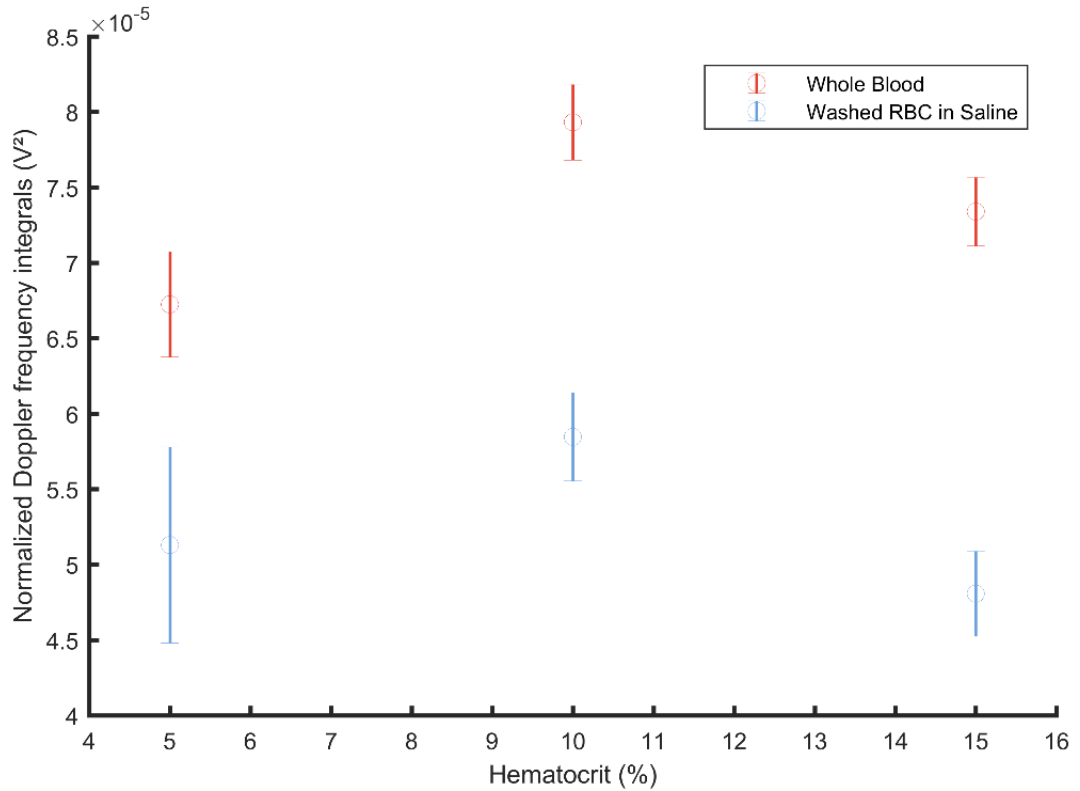


Figure. 3. 9. – Intégrale Doppler normalisées par l'expression (37) pour des globules rouges suspendus dans du plasma et des globules rouges suspendus dans de la saline.

Comme il a été abordé lors du Chapitre 1, le modèle hybride de Mo et Cobbold (1992) nous montre que le *BSC* est une variable dont chaque volume élémentaire du modèle est une réalisation. Par conséquent, il est nécessaire de prendre en compte un nombre suffisant de volumes élémentaires si l'on veut pouvoir mesurer le *BSC* avec une variance acceptable. D'un point de vue pratique, ceci peut se figurer par le nombre de voxels dans lesquels le *BSC* est mesuré dans le tube ou autrement dit par le nombre de longueurs d'onde

ultrasonores que ce dernier contient. A 8MHz et à une vitesse du son de 1570 m.s^{-1} , la longueur d'onde ultrasonore est égale à environ $196 \mu\text{m}$ ce qui donne un peu moins de 4 longueurs d'onde dans notre tube de $760 \mu\text{m}$ de diamètre. Ce nombre de longueur d'onde est restreint comparé aux valeurs usuelles (voir par exemple l'étude de De Monchy *et al.* (2018) où la zone de mesure est équivalente à 12 longueurs d'onde). Si cette restriction du nombre de longueurs d'onde est probablement compensée en partie par l'utilisation d'un long temps d'acquisition de 5s, une augmentation de la fréquence ultrasonore pourrait peut-être permettre de diminuer la variance des intégrales fréquentielles des DSPD.

Une extension de la mesure de l'hématocrite au-delà de 8% ne pourrait très probablement pas se faire avec le modèle présenté ici. Notamment, l'hypothèse d'un packing factor spatialement invariant dans le tube est une approximation physique très forte qui ne tiendra probablement plus pour de hauts hématocrites. Ainsi, une hypothétique mesure de l'hématocrite dans une gamme physiologique devrait utiliser des modèles physiques plus développés, permettant au passage de tenir compte de l'agrégation (Franceschini et Cloutier 2013, De Monchy *et al.* 2018). Aussi, Yuan et Shung (1988) ont montrés que le *BSC* dépend de la composition du plasma et plus particulièrement de la concentration des fibrinogènes en son sein. Il pourrait ainsi être intéressant d'inclure cette dépendance dans le modèle. De plus, une limitation évidente est la non-monotonie de la relation entre l'hématocrite et le *BSC*, qui empêche de discriminer les hématocrites possédant une même valeur pour leurs intégrales fréquentielles Doppler.

Il y a donc de fortes limitations intrinsèques à la physique des ultrasons dans le sang pour transposer la méthode à des hématocrites physiologiques. Cependant, dans le cadre de l'acoustophorèse et des méthodes micro fluidiques de fractionnement du sang, une

application de la méthode telle qu'elle pourrait avoir un intérêt. En effet, un certain nombre de ses systèmes utilisent où génèrent du sang dilué à des hématocrites en dessous de 8%. Dans ce cas particulier, la méthode présentée ici a pour avantage d'avoir une bonne précision pour des hématocrites faibles et ceci pour un système d'acquisition très simple. Une méthode de mesure en ligne d'un hématocrite en dessous de 8% n'a dans ce sens jamais été investiguée en détail puisque les études existantes ont toujours visé jusqu'ici un hématocrite physiologique. En tant qu'illustration, nous pouvons citer le dispositif d'acoustophorèse d'Aenitis (Bohec *et al.* 2017) qui fonctionne à un hématocrite aux alentours de 8% et qui est conçu pour la fabrication de concentré plaquettaire. La méthode présentée ici pourrait par exemple être utilisée pour évaluer la pureté du concentré plaquettaire en sortie de ce dispositif, en mesurant l'hématocrite résiduelle.

3.5 Conclusion du chapitre

Nous avons montré dans ce chapitre que notre dispositif expérimental peut être calibré afin de mesurer l'hématocrite d'un échantillon de sang dilué (<8%). Cette calibration est réalisée en se basant sur un modèle théorique simple de la répartition spectrale de la puissance du signal Doppler. La mesure est effectuée sur les mêmes signaux que l'estimation du débit. Cette méthode est précise et présente des avantages intéressants dans le cadre du fractionnement du sang. Néanmoins, plusieurs limitations intrinsèques à la physique entravent son application à des hématocrites physiologiques. Notamment, la variance élevée des signaux Doppler, dont l'agrégation est une cause fortement probable, empêchent d'effectuer une mesure d'hématocrite précise et répétable dans cette gamme.

3.6 Références

- Bascom, P. A., and R. S. Cobbold. 1995. "On a Fractal Packing Approach for Understanding Ultrasonic Backscattering from Blood." *The Journal of the Acoustical Society of America* 98 (6): 3040–49.
- . 1996. "Origin of the Doppler Ultrasound Spectrum from Blood." *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* 43 (6): 562–71.
- Baskurt, Oguz, Bjorn Neu, and Herbert J Meiselman. 2019. *Red Blood Cell Aggregation*. Boca Raton: CRC Press.
- Bohec, Pierre, Jérémie Gachelin, Véronique Ollivier, Thibaut Mutin, Xavier Télot, Benoît Ho-Tin-Noé, and Sandra Sanfilippo. 2017. "Acoustophoretic Purification of Platelets: Feasibility and Impact on Platelet Activation and Function." *Platelets*, December, 1–7.
- Cloutier, G., and Z. Qin. 1997. "Ultrasound Backscattering from Non-Aggregating and Aggregating Erythrocytes--a Review." *Biorheology* 34 (6): 443–70.
- Cloutier, G., Z. Qin, L. G. Durand, and B. G. Teh. 1996. "Power Doppler Ultrasound Evaluation of the Shear Rate and Shear Stress Dependences of Red Blood Cell Aggregation." *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* 43 (5): 441–50.
- Cobbold, R. S. C. 2006. *Foundations of Biomedical Ultrasound - Richard S. C. Cobbold*. Oxford: Oxford University Press.
- Franceschini, Emilie, and Guy Cloutier. 2013. "Modeling of Ultrasound Backscattering by Aggregating Red Blood Cells." In *Quantitative Ultrasound in Soft Tissues*, 117–45. Springer, Dordrecht.
- Franceschini, Emilie, and Régine Guillermin. 2012. "Experimental Assessment of Four Ultrasound Scattering Models for Characterizing Concentrated Tissue-Mimicking Phantoms." *The Journal of the Acoustical Society of America* 132 (6): 3735–47.
- Gill, Robert W. 1985. "Measurement of Blood Flow by Ultrasound: Accuracy and Sources of Error." *Ultrasound in Medicine and Biology* 11 (4): 625–41.
- Mo, L. Y. L., and R. S. C. Cobbold. 1992. "A Unified Approach to Modeling the Backscattered Doppler Ultrasound from Blood." *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 39 (5): 450–61.
- Monchy, Romain de, Julien Rouyer, François Destrempes, Boris Chayer, Guy Cloutier, and Emilie Franceschini. 2018. "Estimation of Polydispersity in Aggregating Red Blood Cells by Quantitative Ultrasound Backscatter Analysis." *The Journal of the Acoustical Society of America* 143 (4): 2207–16.
- Roevros, J. M. J. G. 1974. "Analogue Processing of CW Doppler Flowmeter Signals to Determine Average Frequency Shift Momentaneously without the Use of a Wave Analyzer." In *Cardiovascular Applications of Ultrasound*, 43–54. Amsterdam: North-Holland.
- Schmid-Schönbein, H., P. Gaehtgens, and H. Hirsch. 1968. "On the Shear Rate Dependence of Red Cell Aggregation in Vitro." *Journal of Clinical Investigation* 47 (6): 1447–54.

- Shung, K. K., R. A. Sigelmann, and J. M. Reid. 1976. "Scattering of Ultrasound by Blood." *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* BME-23 (6): 460–67.
- Shung, K. K., Y. W. Yuan, D. Y. Fei, and J. M. Tarbell. 1984. "Effect of Flow Disturbance on Ultrasonic Backscatter from Blood." *The Journal of the Acoustical Society of America* 75 (4): 1265–72.
- Vilkomerson, D., P. Tortoli, and S. Ricci. 2011. "Determining the Peak Velocity in a Blood Flow from Its Doppler Spectrum." In *2011 IEEE International Ultrasonics Symposium*,
- Wang, S. H., and K. K. Shung. 1997. "An Approach for Measuring Ultrasonic Backscattering from Biological Tissues with Focused Transducers." *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* 44 (7): 549–54. <https://doi.org/10.1109/10.594895>.
- Xu, Dong, Efstathios Kaliviotis, Ante Munjiza, Eldad Avital, Chunnging Ji, and John Williams. 2013. "Large Scale Simulation of Red Blood Cell Aggregation in Shear Flows." *Journal of Biomechanics* 46 (11): 1810–17.
- Yuan, Y. W., and K. K. Shung. 1988. "Ultrasonic Backscatter from Flowing Whole Blood. I: Dependence on Shear Rate and Hematocrit." *The Journal of the Acoustical Society of America* 84 (1): 52–58.

CHAPITRE 4 : EFFETS NON-NEWTONIENS POUR LA MESURE D'UN HÉMATOCRITE PHYSIOLOGIQUE

Dans ce chapitre, nous démontrons que notre dispositif expérimental peut être utilisé pour sonder une fine décroissance de la fréquence Doppler maximum due à l'augmentation de l'hématocrite. En se basant sur des études passées et sur une caractérisation approfondie du phénomène, nous attribuons ces observations à une décroissance non-Newtonienne de la vitesse maximum du sang inversement proportionnelle à l'hématocrite. Ensuite, nous montrons sur plusieurs poches de sang que cette altération du profil des vitesses est suffisamment significative pour être exploitée afin de mesurer l'hématocrite dans une gamme physiologique. Ces travaux vont faire l'objet d'une prochaine publication à l'heure où ces lignes sont écrites et sont également inclus dans le brevet.

4.1 Introduction

4.1.1 *Loi de puissance et propriétés intrinsèques du sang*

Nous l'avons vu dans l'introduction générale, le sang est un liquide non-Newtonien pseudo-plastique dont la viscosité apparente décroît avec la contrainte de cisaillement (Figure 4. 1). Sous certaines conditions, ce comportement est modélisable par une loi de puissance faisant intervenir un paramètre $n < 1$ appelé l'index non-Newtonien :

$$\mu_a = k\dot{\gamma}^{n-1} \quad (19)$$

Avec μ_a la viscosité apparente du sang, $\dot{\gamma}$ le taux de cisaillement au sein du tube et k l'indice d'écoulement. Cette expression est utilisée depuis de nombreuses années pour étudier la rhéologie *in-vitro* du sang (Charm et Kurland 1962, Bugliarello et Hayden 1963, Krieger 1968, Benis *et al.* 1971).

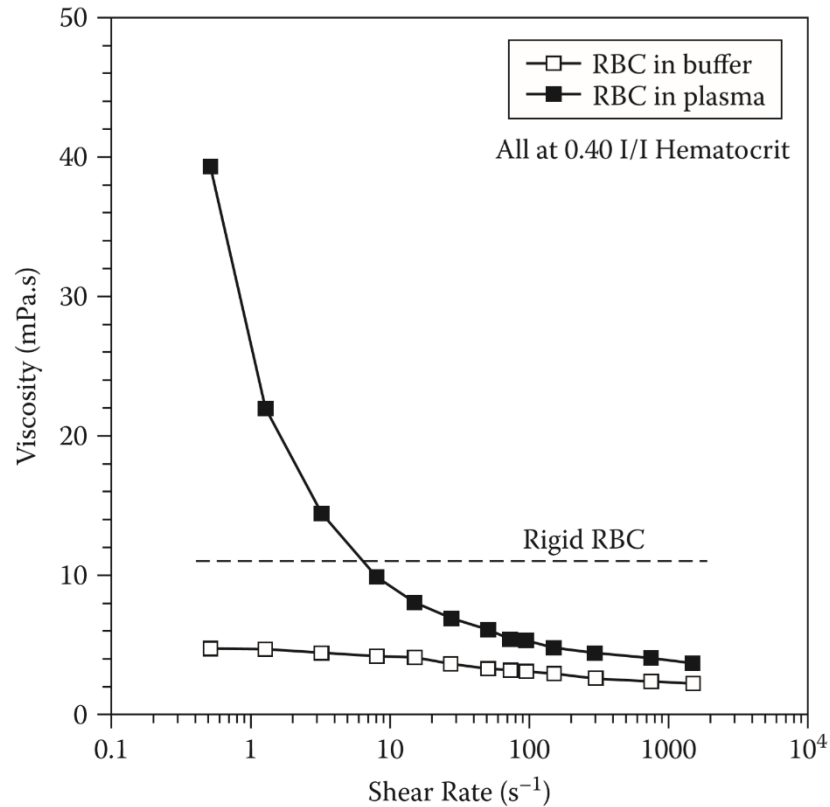


Figure 4. 1 – Evolution de la viscosité en fonction du taux de cisaillement pour des globules rouges dans du plasma, des globules rouges dans un tampon isotonique et des globules rouges rendues rigides (donc qui ne peuvent plus se déformer) également contenues dans un tampon isotonique (Baskut *et al.* 2019). La viscosité du mélange globules rouges et plasma atteint un plateau pour un taux de de cisaillement au-dessus d'environ $100s^{-1}$. Au contraire, la viscosité des globules rouges dans le tampon ne varie quasiment pas et celle des globules rouges rigides reste constante. Cette figure surliigne le rôle des globules rouges (et de leurs propriétés élastiques) dans le comportement non-Newtonien du sang mais aussi celui du plasma.

Un moyen d'observer et de caractériser le comportement en loi de puissance du sang est d'ajuster l'équation (19) avec des mesures de viscosité réalisées par un viscosimètre. En laboratoire, les viscosimètres à rotation et les viscosimètres « cone-and-plate » sont régulièrement utilisés. Ces deux appareils permettent d'estimer la viscosité d'un échantillon de sang en y mettant en rotation un cylindre pour le premier et un cône pour le second (Figure 4. 2). Un autre type courant de viscosimètre est le viscosimètre capillaire. Contrairement aux deux autres systèmes, le viscosimètre capillaire mesure la viscosité d'un écoulement de sang tubulaire, en extrapolant cette dernière de la relation entre le débit et la pression (Baskurt *et al.* 2019).

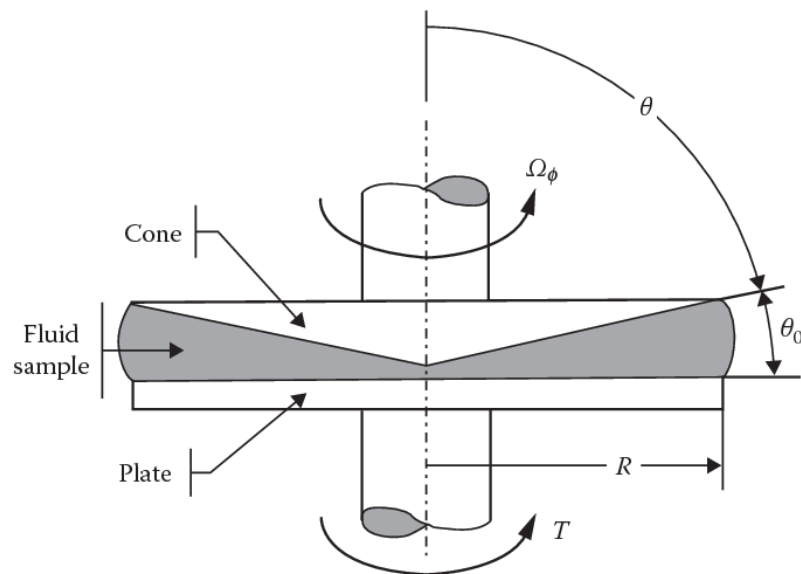


Figure 4. 2 – Principe de fonctionnement d'un viscosimètre « cone and plate » (Secco *et al.* 2013). Un taux de cisaillement uniforme est imposé dans le fluide par la mise en rotation d'un cône. Ce taux de cisaillement peut être calculé comme le rapport de la vitesse de rotation Ω_ϕ sur l'angle θ_0 . La viscosité apparente se calcule comme $\mu_a = \frac{3T\theta_0}{2\pi\Omega_\phi R^3}$ où T est le moment de la rotation du cône.

Un des modèles en loi de puissance les plus connus pour le sang est le modèle établi par Walburn et Schneck dans une étude parue en 1976. Dans celle-ci, les deux auteurs ont proposé de relier l'index non Newtonien n et l'indice d'écoulement k avec plusieurs propriétés intrinsèques du sang. Pour ce faire, la viscosité de 200 échantillons de sang humain fût mesurée à l'aide d'un viscosimètre « cone-and-plate » et ceci pour des taux de cisaillement entre $20s^{-1}$ et $233s^{-1}$ ainsi que des hémotocrites entre 35% et 50%. L'équation (19) fût ensuite réécrite selon plusieurs variables, à savoir le taux de cisaillement donc mais aussi le nombre total de lipides, l'albumine, le nombre total de protéines moins l'albumine et l'hématocrite. A l'aide d'une régression multiple, il fût alors identifié pour quelle combinaison de ces variables l'ajustement entre l'équation (19) linéarisée et les résultats du viscosimètre était le plus significatif. Cette procédure fût conduite pour des combinaisons de 3 variables au maximum. Le modèle de 2 variables le plus significatif fût celui incorporant une dépendance envers l'hématocrite dans l'équation (19) en plus du taux de cisaillement. Cette dépendance fût incluse en exprimant les indices k et n en fonction de l'hématocrite H de la manière suivante :

$$\begin{cases} \mu_a = k\dot{\gamma}^{n-1} \\ k = C_1 e^{C_2 H} \\ n = 1 - C_3 H \end{cases} \quad (39)$$

Où C_1, C_2 et C_3 sont des constantes dont les valeurs estimées par la régression multiple sont respectivement 0,0148, 0,0512 et 0,00499. L'ajustement entre l'équation (39) et les mesures du viscosimètre donna un coefficient de détermination de 0,8789 ainsi qu'une erreur quadratique moyenne de 0,0069. Dans le cas d'un ajustement entre l'expression (19) seule et les mesures du viscosimètre, le coefficient de détermination ne fût que de 0,6187

avec une erreur quadratique moyenne de 0,0218. Le modèle de 3 variables le plus significatif fût celui incluant dans l'expression (39) le nombre total de protéines moins l'albumine. Le coefficient de détermination correspondant fût de 0,9049 assorti d'une erreur quadratique de 0,00546. Ces résultats permirent à Walburn et Shneck d'avancer plusieurs conclusions :

- L'hématocrite a un effet du premier ordre sur le caractère non-Newtonien du sang.
- La composition du plasma a un effet du second ordre principalement régit par le nombre total de protéines moins l'albumine (qui sont majoritairement composées de fibrinogènes et de globulines).

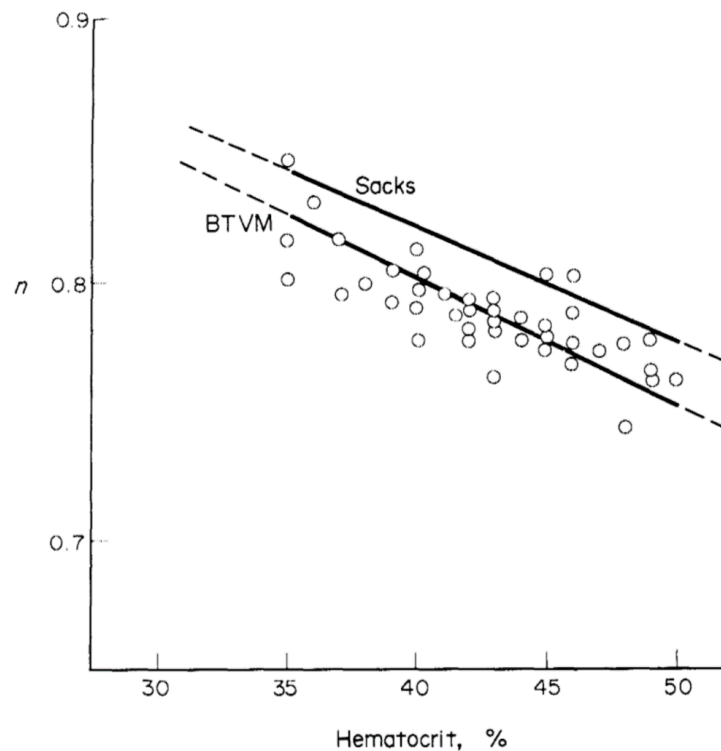


Figure 4. 3 – Evolution de l'index non-Newtonien n avec l'hématocrite ainsi qu'un ajustement de l'équation (39) (Walburn et Schneck 1976). Un ajustement d'un modèle antérieur de Sacks *et al.* (1963) est également montré.

Il est à noter que la principale limitation de l'étude de Walburn et Schneck (1976) est d'avoir considéré les différentes variables investiguées comme étant totalement indépendantes. L'article fût ainsi conclu de la manière suivante : « *En réalité, le sang dans le système cardiovasculaire de l'Homme et des animaux change constamment de composition chimique et de taux de cisaillement et les interrelations entre les deux sont nombreuses et complexes. Cette complexité tend à invalider l'hypothèse de variables chimiques indépendantes. Cependant, pour une approximation du premier ordre cette hypothèse d'indépendance des variables chimiques semble raisonnable.* »

Bien qu'étoffé par l'ajout de variables supplémentaires, le modèle de Walburn et Schneck (1976) reste une expression très simplifiée du comportement rhéologique du sang. Notamment, comme expliqué lors de l'introduction, le modèle en loi de puissance ne prédit pas le plateau qu'atteint progressivement la viscosité du sang à partir d'un taux de cisaillement d'environ 100s^{-1} (Figure 4. 4). De manière générale, les modèles permettant de prédire la rhéologie du sang sont nombreux et leur utilisation dépend du contexte physique et en particulier des valeurs que prend le taux de cisaillement. Parmi les modèles largement investigués, nous pouvons notamment citer celui de Casson qui inclut un cisaillement minimum pour faire sortir le sang d'un état statique, le modèle de Quemada qui prend également en compte l'hématocrite, ou encore le modèle de Carreau-Yasuda (Robertson 2010, Sochi 2013).

Une des premières études reprenant le modèle de Walburn et Schneck (1976) fût réalisée par Easthope et Brooks en 1980. Cette étude compara la pertinence du modèle avec 11 autres modèles, dont celui de Quemada. Pour cela, la viscosité d'échantillons de sang provenant de 30 donneurs différents (exclusivement des femmes) et à des hématocrites

entre 30% et 55% fût mesurée avec un viscosimètre à rotation. Pour des taux de cisaillement allant jusqu'à 124s^{-1} , Easthope et Brooks obtinrent le meilleur ajustement avec les résultats du viscosimètre en utilisant le modèle de Walburn et Schneck (1976). Quelques années plus tard, une étude de Rodkiewicz *et al.* (1992) compara le modèle de Walburn et Schneck (1976) avec ceux de Casson et de Bingham (Robertson 2010, Sochi 2013) pour la modélisation numérique d'un écoulement de sang pulsatile dans un conduit. Le modèle de Walburn et Schneck (1976) donna des résultats significativement différents de ces deux derniers mais qui furent interprétés comme étant potentiellement plus proches de la réalité expérimentale.

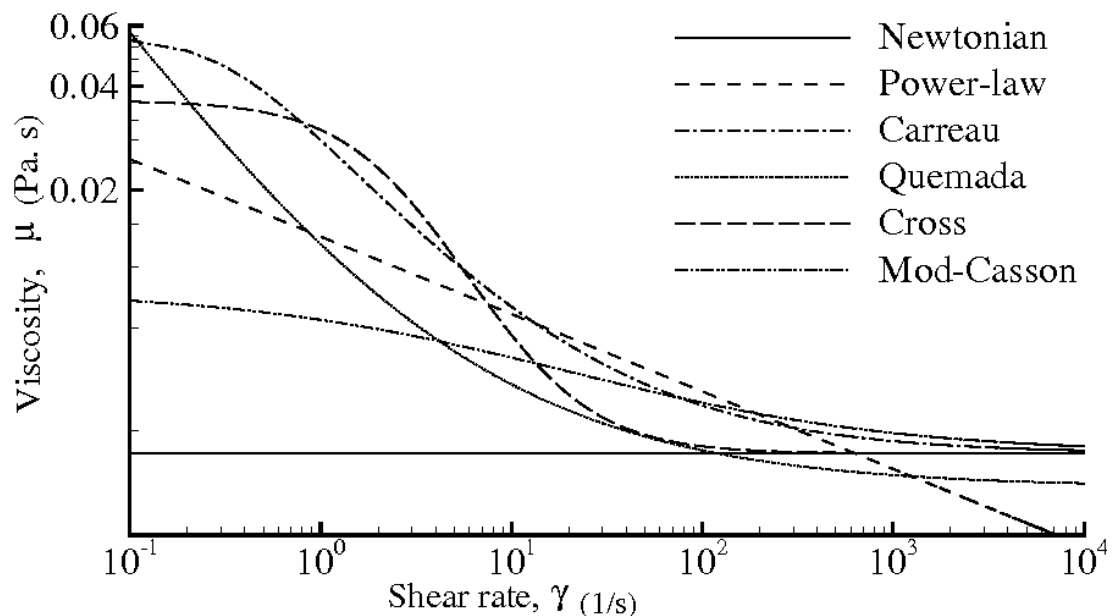


Figure 4. 4 – Modélisation de la viscosité du sang par différents modèles. On peut voir que le modèle en loi de puissance ne prédit pas les plateaux atteints par la viscosité à des taux de cisaillements bas et élevés.

L'étude de Walburn et Schneck n'est pas la seule à avoir tenté de lier la loi de puissance (19) avec les paramètres intrinsèques du sang. En 1999, une étude de Hussain *et al.* s'intéressa à l'influence de la quantité de fibrinogène et de cholestérol dans le plasma en

plus de celle de l'hématocrite. Le choix d'étudier la quantité de fibrinogène s'explique par son influence sur l'agrégation des globules rouges et donc sur la viscosité du sang. Le cholestérol fût lui sélectionné en raison de son influence sur la déformabilité des globules rouges. En effet, une modification de la concentration du cholestérol dans le plasma va perturber l'équilibre entre le cholestérol et les phospholipides présents sur la membrane des globules rouges, altérant ainsi leur déformabilité. Tout comme dans l'étude de Walburn et Schneck (1976), l'influence des trois paramètres sur la loi de puissance fût évaluée en ajustant l'expression (19) linéarisée à des mesures de viscosimètre. Ces mesures furent réalisées sur des échantillons provenant de 109 donneurs de sang sains mais aussi sur 150 échantillons prélevés sur des patients ayant subi un accident vasculaire cérébral. Le taux de cisaillement variait entre environ $1s^{-1}$ et environ $100s^{-1}$. Les résultats confirmèrent que l'hématocrite est le paramètre le plus influent sur les index k et n de la loi de puissance (19).

En résumé, la viscosité du sang décroît avec le taux de cisaillement. Pour des taux de cisaillement inférieurs à environ $100s^{-1}$, cette décroissance est modélisable par une loi de puissance faisant intervenir deux paramètres : k et n . Ces paramètres sont corrélés aux propriétés intrinsèques du sang et en particulier à l'hématocrite. Plus précisément, l'index non-Newtonien n décroît linéairement avec cette dernière.

Dans les études présentées précédemment, la dépendance de la loi de puissance envers l'hématocrite a été mise en évidence à l'aide de viscosimètres dans lesquels le sang n'était pas en écoulement. Or, il est bien connu que le comportement rhéologique du sang en écoulement ne peut être directement extrapolé des prédictions des viscosimètres. Notamment, dans le cas d'un tube, le taux de cisaillement aura une dépendance radiale

(Figure 4. 5) contrairement aux viscosimètres à rotation et « cone and plate » qui mesurent la viscosité à un taux de cisaillement donné.

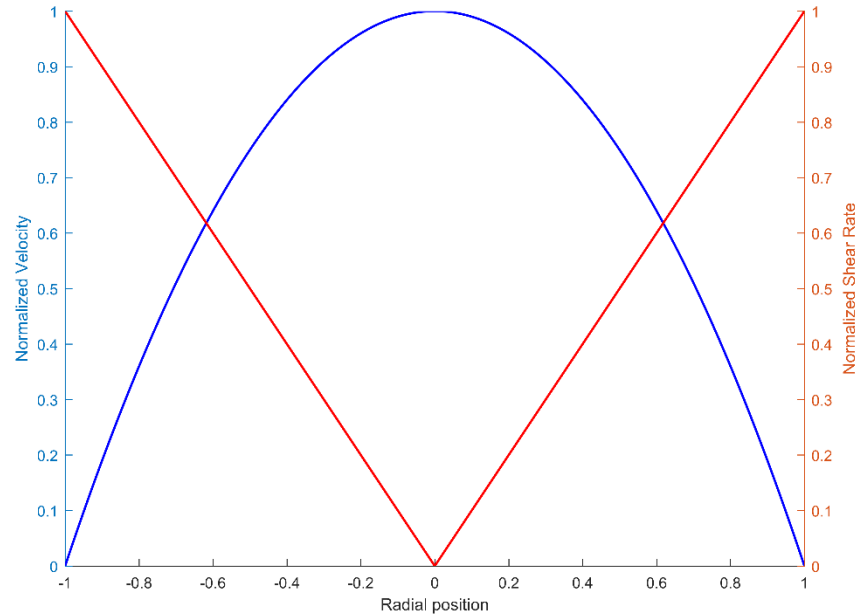


Figure 4. 5 – Profil des vitesses et taux de cisaillement dans un tube en fonction du rayon. Le taux de cisaillement est maximum sur les parois du tube et nul au centre.

4.1.2 « Blunting » du profil des vitesses

Un corollaire de l'expression (19) est que le profil des vitesses d'un écoulement de sang dont la viscosité est modélisée par une loi de puissance s'écrit (Janna 2008):

$$v(r) = \frac{3n + 1}{n + 1} V_{moy} \left[1 - \left(\frac{r}{R} \right)^{n+\frac{1}{n}} \right] \quad (21)$$

Si l'on se place au centre du tube où la vitesse du sang est maximum, r est nul et nous avons alors la relation suivante entre la vitesse maximum du sang V_{max} et sa vitesse moyenne V_{moy} :

$$V_{max} = \frac{3n + 1}{n + 1} V_{moy} \quad (38)$$

Les expressions (21) et (38) montrent que, pour une vitesse moyenne V_{moy} donnée, l'index non-Newtonien n régit à quel point le profil des vitesses dévient de la parabole prédite par la loi Newtonienne de Poiseuille. Plus précisément, il peut être vu dans l'expression (38) que V_{max} décroît quand n tend vers 0, c'est-à-dire lorsque les effets non-Newtoniens augmentent. Afin que le sang garde la même vitesse moyenne, la décroissance de V_{max} doit s'accompagner d'un rehaussement du reste du profil. Comme régit par l'expression (21), le profil des vitesses va alors progressivement s'aplatir autour de V_{max} . Cet aplatissement du profil des vitesses est dénommé « blunting » en anglais (Goldsmith et Turitto 1986, Figure 4. 6).

Si nous inversons le problème, d'après la loi de puissance, un « blunting » du profil des vitesses correspond donc à une diminution de n soit encore à une augmentation des effets non-Newtonien dans l'écoulement de sang. Par conséquent, nous proposons de maintenant passer en revue les études expérimentales ayant observées et caractérisées des écoulements de sang « blunté ». Nous mettrons une emphase particulière sur les études réalisées dans des tubes.

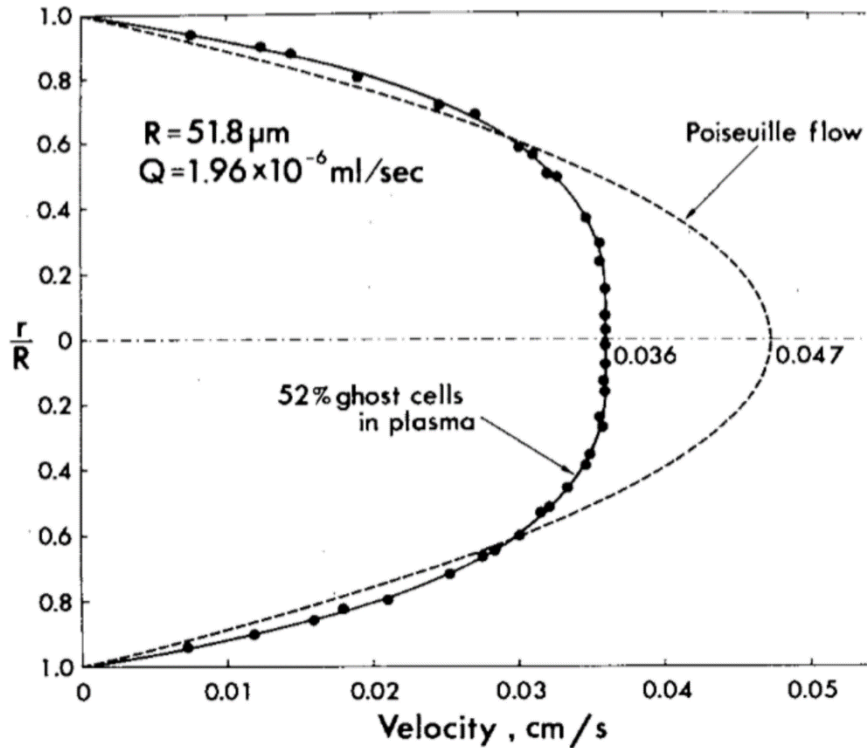


Figure 4. 6 – Profil des vitesses dans un micro-tube (51.8 micromètres de rayon) de globules rouges artificiels comparé au profil prédit par la loi de Poiseuille (Goldsmith et Turitto 1986). La vitesse maximum du profil des globules rouges diminue comparé à celle de la parabole de Poiseuille et les vitesses autour du centre du tube augmentent, causant un « blunting » du profil.

4.1.3 Observations expérimentales passées

Le caractère non-Newtonien du sang en écoulement dépend fortement des dimensions caractéristiques du conduit considéré. Ainsi, in-vivo, les effets non-Newtoniens sont en général négligés dans les larges artères. En revanche, les effets non-Newtoniens prennent une toute autre importance pour des échelles inférieures à quelques centaines de micromètres. Dans ces dimensions, les phénomènes cellulaires que sont l'agrégation, la déformation élastique et la migration axiale des globules rouges deviennent prépondérants, menant le sang à significativement dévier du comportement d'un fluide

Newtonien (Lima *et al.* 2012). Pour cette raison, il n'est pas surprenant que la grande majorité des études ayant observé des écoulements de sang « blunted » aient été réalisées dans le cadre de la microcirculation et de sa modélisation expérimentale dans des micro-tubes. En particulier, des profils de vitesses aplatis ont été reportés dans des tubes de diamètres inférieurs à 150 microns (Bugliarello et Hayden 1963, Gaehtgens *et al.* 1970, Liepsch 1986, Reinke *et al.* 1986, Alonso *et al.* 1995, Okuda *et al.* 2003 Figure 4. 7, Ji et Lee 2008). Les systèmes d'observation utilisés lors de ces études furent variés : caméra rapide montée sur un microscope (Bugliarello et Hayden 1963, Alonso *et al.* 1995), photométrie (Gaehtgens *et al.* 1970), Doppler laser (Liepsch 1986), tracking de globules rouges marquées par fluorescence (Reinke *et al.* 1986) ou encore, pour les plus récentes, du tracking de traceurs fluorescents à l'aide de systèmes PIV (« Particle Image Velocimetry ») hautement résolus (Okuda *et al.* 2003, Ji et Lee 2008).

Remarque : L'étude de Gaehtgens et al. (1970) fût remise en cause par Baker et Wayland en 1974, qui avancèrent que le « blunting » observé était dû à des artefacts de mesure. Néanmoins, puisque les résultats de Gaehtgens et al. (1970) coïncident avec ceux présentés par les autres auteurs cités plus haut, nous continuerons de citer cette étude dans la suite de ce manuscrit.

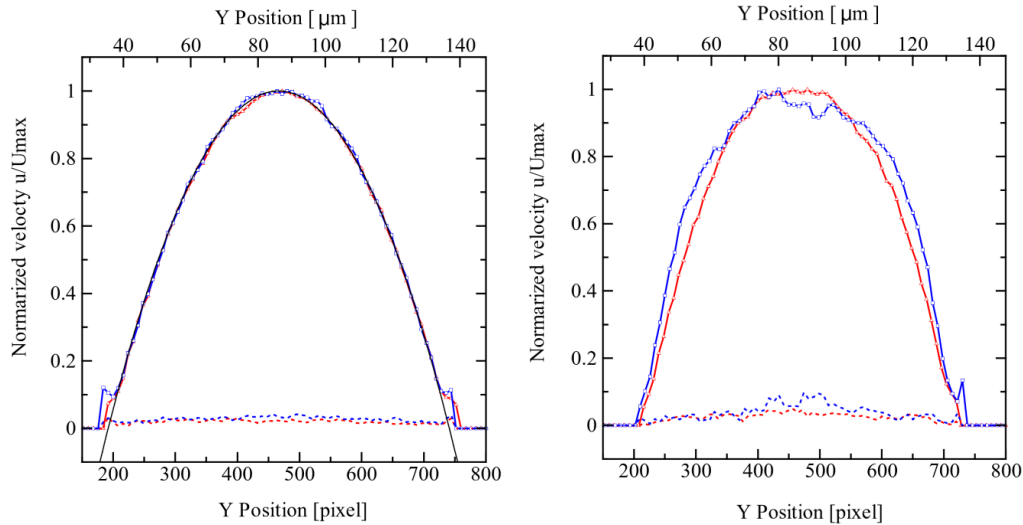


Figure 4. 7 – Profils des vitesses normalisés de traceurs dans de l’eau (gauche) et des mêmes traceurs dans du sang (droite) mesurés par un système PIV dans un micro-tube (Okuda *et al.* 2003). Le profil rouge correspond à une vitesse moyenne de $3.5\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ et le profil bleu à une vitesse moyenne de $0.7\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$. Les deux courbes situées à la base des paraboles représentent la variance des mesures. Un « blunting » du profil des vitesses dans le cas du sang est clairement visible pour une vitesse moyenne de $0.70\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$.

Si l’écoulement de sang « blunted » a été plusieurs fois observé dans des tubes, sa quantification en termes de vitesse maximum fût rare. En effet, les études citées lors du dernier paragraphe ont reporté des profils des vitesses normalisés, sans indication sur leurs valeurs maximales. Nous pouvons toutefois mentionner une étude parue en 1998, où Yeleswarapu *et al.* proposèrent de théoriser et d’évaluer expérimentalement un écoulement de sang de porc dans un tube de plexiglas de 6.35mm de diamètre (Figure 4. 8). Pour quantifier le profil des vitesses dans le tube, les auteurs utilisèrent un système Doppler pulsé réalisé avec un transducteur ultrasonore de 20MHz. Ce système permis de mesurer

le profil des vitesses de l'écoulement suivant une résolution spatiale d'environ 0.5mm^3 . Grâce à cet accès à plusieurs points du profil, les auteurs purent mesurer la vitesse maximum du sang et la comparer à celle prédite par la loi de Poiseuille. Pour des vitesses moyennes de 1.6cm^{-1} , 1.9cm^{-1} et 2.5cm^{-1} , il fût alors observé des écarts entre vitesses maximums mesurées et vitesses maximums prédites par Poiseuille de respectivement 38.3%, 37% et 44%. Ces résultats furent de plus modélisés avec succès à l'aide d'un modèle de fluide viscoélastique.

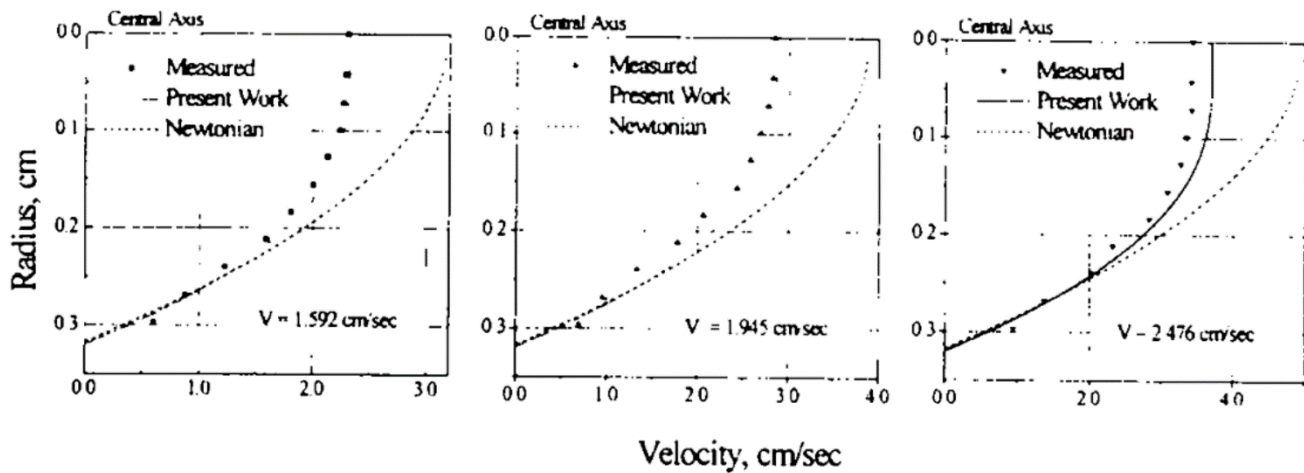


Figure 4. 8 – Décroissance de la vitesse maximum et « blunting » du profil des vitesses du sang observés par Yeleswarapu *et al.* (1998) dans un tube de 6.35mm de diamètre avec un système de Doppler ultrasonore pulsé.

En raison de la dépendance des effets non Newtoniens envers le taux de cisaillement, il paraît intuitif que ce dernier influence le phénomène de « blunting ». Ainsi, plusieurs des études présentées plus haut ont aussi mis en évidence que le « blunting » des profils des vitesses augmentait avec la diminution du taux de cisaillement. (Gaehtgens *et al.* 1970, Reinke *et al.* 1986, Goldsmith et Turitto 1986). Un autre paramètre dont l'influence est

également importante est le diamètre du tube de mesure, dont les effets sur le comportement non-Newtonien du sang ont été évoqués plus haut. En effet, plusieurs études ont observé que le « blunting » du profil des vitesses augmentait avec la diminution du diamètre du tube (Bugliarello et Hayden 1963, Gaehtgens *et al.* 1970, Alonso *et al.* 1995). En particulier, Alonso *et al.* (1995) démontrèrent cet effet de manière particulièrement claire pour des tubes entre 20 micromètres et 100 micromètres de diamètre (Figure 4. 9). Leurs résultats tendirent aussi à démontrer que le « blunting » diminuait d'autant plus avec la contrainte de cisaillement aux parois que le diamètre du tube était grand.

Si l'écoulement de sang *in-vivo* peut être raisonnablement approximé dans des tubes rigides, son comportement réel n'est pas aussi simple. Notamment, la pulsativité du cœur et l'élasticité de la paroi des artères et des veines complexifient son observation et sa compréhension (Liesch 1986). Néanmoins, des écoulements de sang « blunted » ont été observés dans des modèles animaux et des rapprochements avec les études *in-vitro* peuvent être dégagés. En particulier, une étude de Tangelder *et al.* (1986) reporta des phénomènes de « blunting » dans des artères de lapin entre 17 micromètres et 32 micromètres de diamètre et ceci pendant la diastole et la systole. Tout comme pour les expériences faites dans des tubes, il fût observé que le « blunting » augmentait avec la diminution du diamètre de l'artère. En 2001, Bishop *et al.* proposèrent de tester l'hypothèse selon laquelle l'agrégation des globules rouges cause le « blunting » du profil des vitesses. En induisant l'agrégation à l'aide de dextran dans des micro-vaisseaux de rats (entre 45 micromètres et 75 micromètres de diamètre), les auteurs observèrent un « blunting » prononcé du profil des vitesses, inversement proportionnel au taux de cisaillement. Également, une diminution

de la vitesse maximum, au centre des vaisseaux fût constatée après l'ajout du dextran (de 6.8 ± 3.6 mm/s à 5.3 ± 2.1 mm/s).

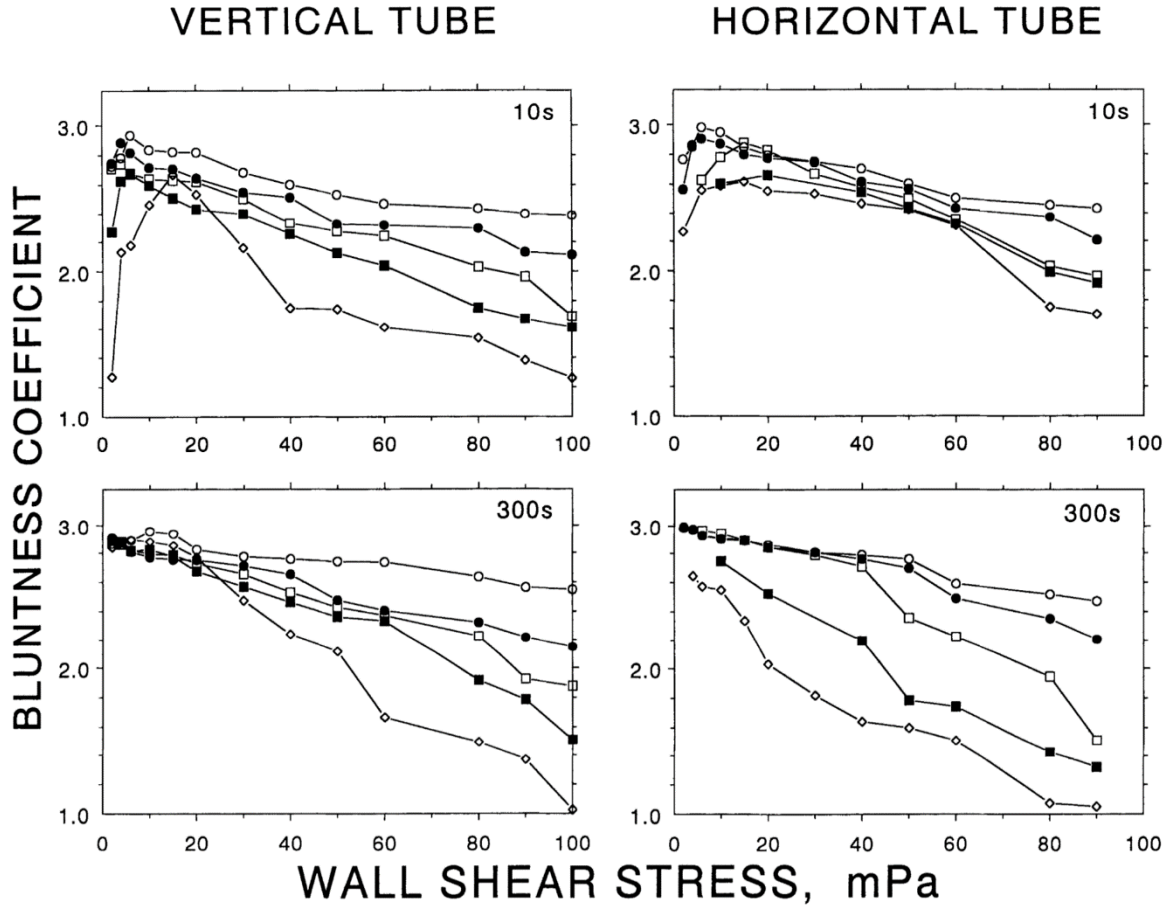


Figure 4. 9 – Evolution du « blunting » en fonction de la contrainte de cisaillement dans des micro-tubes observée par Alonso *et al.* (1995) à l'aide d'une caméra rapide et d'un microscope. L'observation a été réalisée pour des tubes horizontaux et verticaux 10s et 300s après le début de l'écoulement et ceci pour 5 diamètres de tubes différents (rond vide : $20\mu m$, rond plein : $40\mu m$, carré vide $60\mu m$, carré plein : $80\mu m$, losange : $100\mu m$). Le « blunting » fût évalué selon le « bluntness coefficient » défini par Gaetgens *et al.* (1970) qui décroît lorsque celui-ci devient plus faible. Nous pouvons voir que le « bluntness coefficient » décroît avec la contrainte de cisaillement et ceci d'autant plus que le diamètre du tube est grand. Aussi, la décroissance du « bluntness coefficient » avec la contrainte de cisaillement a une dépendance temporelle plus marquée pour le tube horizontal.

Il est concevable que l'hématocrite puisse avoir une influence sur le profil des vitesses du sang via le rôle prépondérant que jouent les globules rouges dans les effets non-Newtonien. Pourtant, peu d'études sont à répertorier dans le cas d'un simple écoulement stable de sang *in-vitro*. L'étude ayant reportée les résultats les plus significatifs fût celle de Goldsmith et Turitto (1986) déjà mentionnée plus haut. Les auteurs y montrèrent que des suspensions de globules rouges artificielles (« ghost red blood cells ») dans des micro-tubes présentaient des profils des vitesses fortement aplatis pour des fractions volumiques supérieures à 20%. Dans les études citées précédemment, Bugliarello et Hayden (1963) ont observé que le « blunting » augmentait avec l'hématocrite pour des valeurs entre 6% et 40% et dans des tubes inférieurs à 80 micromètres de diamètre. Toutefois cet effet ne fût pas quantifié par les auteurs. Dans une étude parue en 2008, Ji et Lee évaluèrent l'influence de l'hématocrite sur le profil des vitesses d'un écoulement de sang induit dans un tube de 100 micromètres de diamètre par un pousse-seringue. Un système de PIV hautement résolu fût utilisé pour mesurer le profil des vitesses de l'écoulement à l'aide de traceurs fluorescents. Trois échantillons de sang furent investigués à des hématocrites de 20%, 30% et 40%. Les mesures furent conduites à des débits de $10\mu\text{L}/\text{min}$ et de $50\mu\text{L}/\text{min}$ et un contrôle avec de l'eau fût également réalisé. A un débit de $10\mu\text{L}/\text{min}$, le système mesura une vitesse maximum de $0.71\text{mm}/\text{s}$ pour l'eau et une légère diminution de cette vitesse avec l'hématocrite avec des valeurs de $0.71\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$, $0.70\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ et $0.67\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ pour respectivement 20%, 30% et 40% d'hématocrite. A un débit de $50\mu\text{L}/\text{min}$, la vitesse maximum mesurée fût de $3.54\text{mm}/\text{s}$ pour l'eau et sa diminution avec l'hématocrite fût plus forte avec des valeurs de $3.54\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$, $3.48\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ et $3.4\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$. De plus, les auteurs

observèrent un léger effet de « blunting » pour un hématicrite de 40%. En accord avec les études présentées précédemment, le « blunting » fût plus prononcé à un débit de 10 μ L/min.

Nous pouvons donc constater que le « blunting » de l'écoulement de sang dans des tubes est un phénomène étudié de manière très disparate. Son occurrence dépend de manière complexe du diamètre du tube de mesure, du débit et du taux de cisaillement ainsi que de l'hématicrite. L'observation du phénomène est aussi fonction de la méthode de mesure utilisée et des erreurs et artefacts que celle-ci peut potentiellement induire. Nous pouvons néanmoins lister quelques observations récurrentes issues des études réalisées en grande majorité dans des micro-tubes :

- Le « blunting » augmente avec la diminution du diamètre du tube.
- Le « blunting » augmente avec la diminution du taux de cisaillement soit avec l'augmentation du débit pour un diamètre de tube donné.
- Le « blunting » semble augmenter avec l'hématicrite.

Il est à noter que le « blunting » dans les micro-tubes et la microcirculation est fortement lié à des effets inhérents à la taille de la zone d'écoulement. Notamment, la formation d'une couche périphérique de plasma pour les diamètres inférieurs à 300 micromètres (soit l'effet Fåhræus-Lindqvist) joue un rôle prépondérant (Okuda *et al.* 2003, Ji et Lee 2008). Ainsi, les observations listées plus haut sont à prendre avec précautions dans le cadre de notre dispositif expérimental, qui présente un tube avec un diamètre de 760 micromètres. Néanmoins, ces observations forment une base intéressante pour notre étude.

4.2 Travail présenté

Dans la suite de ce chapitre, nous présentons une nouvelle méthode de mesure de l'hématicrite se basant sur les altérations non-Newtoniennes du profil des vitesses du sang.

Nous montrons tout d'abord que la fréquence Doppler maximum du sang décroît avec l'hématocrite dans notre système expérimental et ceci pour une certaine gamme de débit. Pour un débit fixé, cette décroissance est caractérisée pour 6 poches de sang et jusqu'à un hématocrite de 55%. Nous démontrons alors que cette décroissance correspond à une modélisation en loi de puissance de la viscosité du sang où le paramètre n décroît linéairement avec l'hématocrite. Ce comportement est analogue à celui prédit par le modèle de Walburn et Schneck (1976) mais le coefficient γ liant l'index non-Newtonien n avec l'hématocrite est significativement plus élevé. Ensuite, nous définissons un nouvel estimateur fréquentiel qui décroît avec l'hématocrite de manière similaire à la fréquence Doppler maximum mais dont la variance plus faible peut être exploitée pour mesurer cette première. La mesure d'hématocrite est réalisée sur 3 poches de sang à partir d'une calibration du dispositif de mesure déduite de 3 autres poches. Pour finir, nous menons une discussion sur les avantages, les limites et les potentielles applications de notre méthode tout en nous basant sur les études antérieures présentées lors de l'introduction.

4.2.1 Dispositif expérimental et traitement des signaux

Le système expérimental utilisé était strictement identique aux chapitres précédents. Cette fois, les signaux ultrasonores furent acquis pendant une durée fixe de 5s. Ensuite, les signaux furent filtrés avec un filtre de Butterworth de bande passante entre $8\text{MHz}-5000\text{Hz}$ et $8\text{MHz}+5000\text{Hz}$. Les signaux furent démodulés en quadrature puis sous échantillonnés par un facteur de 2000. Un filtre de rejection fût appliqué à chaque signal pour supprimer les composantes fréquentielles en dessous de 80Hz.

Chaque signal fût ensuite segmenté en 5 signaux de 1s et la DSPD de chaque segment fût estimée. La DSPD de chaque signal fût ensuite calculée comme la médiane des DSPD des 5 segments. Enfin, un filtre médian d'ordre 40 fût appliqué à chaque DSPD pour réduire les fluctuations de son amplitude.

Également, une acquisition contrôle des densités spectrales de puissance fut réalisée avec de l'eau distillée suivant la procédure tout juste décrite. Ceci permit de vérifier l'absence effective de composantes fréquentielles non voulues en dessous du seuil de 80Hz.

4.2.2 *Influence du débit*

Comme expliqué lors de l'introduction de ce chapitre, le comportement non-Newtonien du sang est fortement influencé par ses conditions d'écoulement et donc par sa vitesse moyenne. Ainsi, nous commencerons par évaluer dans ce paragraphe l'évolution de la relation entre la fréquence Doppler maximum et l'hématocrite en fonction du débit.

4.2.2.1 Méthodes

Des échantillons de sang à des hématocrites entre 10% et 53% furent extraits d'une même poche de sang. Cinq acquisitions ultrasonores furent alors réalisées pour chaque échantillon et ceci pour un débit variant entre 0.25mL/min et 1.75mL/min. La fréquence Doppler maximum de chaque acquisition fût ensuite estimée comme dans le Chapitre 2 à l'aide du modèle de Vilkomerson *et al.* (2011).

4.2.2.2 Résultats

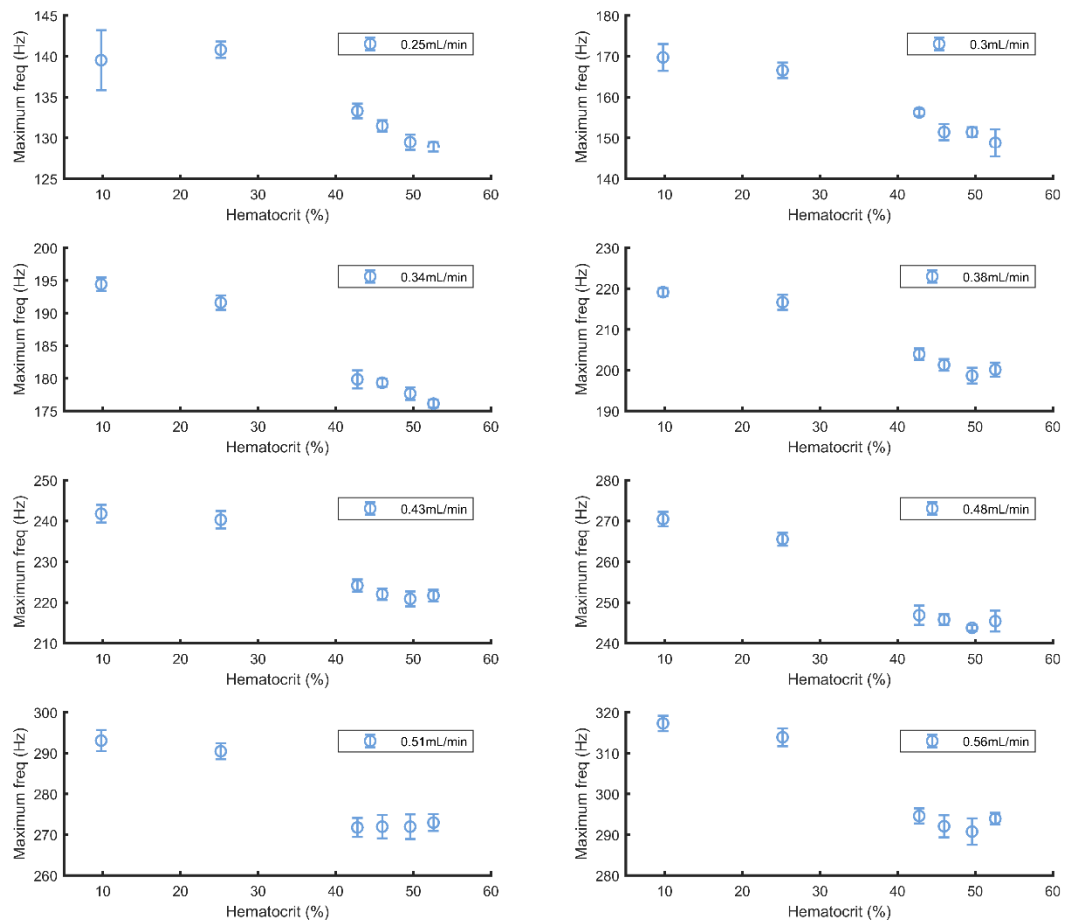


Figure 4. 10 – Evolution de la décroissance des fréquences Doppler maximum avec l’hématocrite en fonction du débit.

La Figure 4. 10 montre l’évolution de la relation entre la fréquence Doppler maximum et l’hématocrite en fonction du débit jusqu’à une valeur pour ce dernier de 0.56mL/min. De manière générale, la fréquence Doppler maximum diminue lorsque l’hématocrite augmente. Néanmoins, il peut être vu que la fréquence Doppler maximum sature à un hématocrite de 53% quand le débit dépasse 0.38mL/min. Cette saturation est ensuite présente pour tous les débits au-dessus de 0.38mL/min et semble altérer seulement les

acquisitions faites à un hémocrite supérieur à environ 40%. Ce comportement est confirmé par la Figure 4. 11 où le même effet de saturation peut être vu à un débit de 1.75mL/min.

En conséquence de ces résultats, nous nous plaçons pour la suite du chapitre à un débit de 0.25mL/min, pour lequel l'effet de saturation ne fût pas observé.

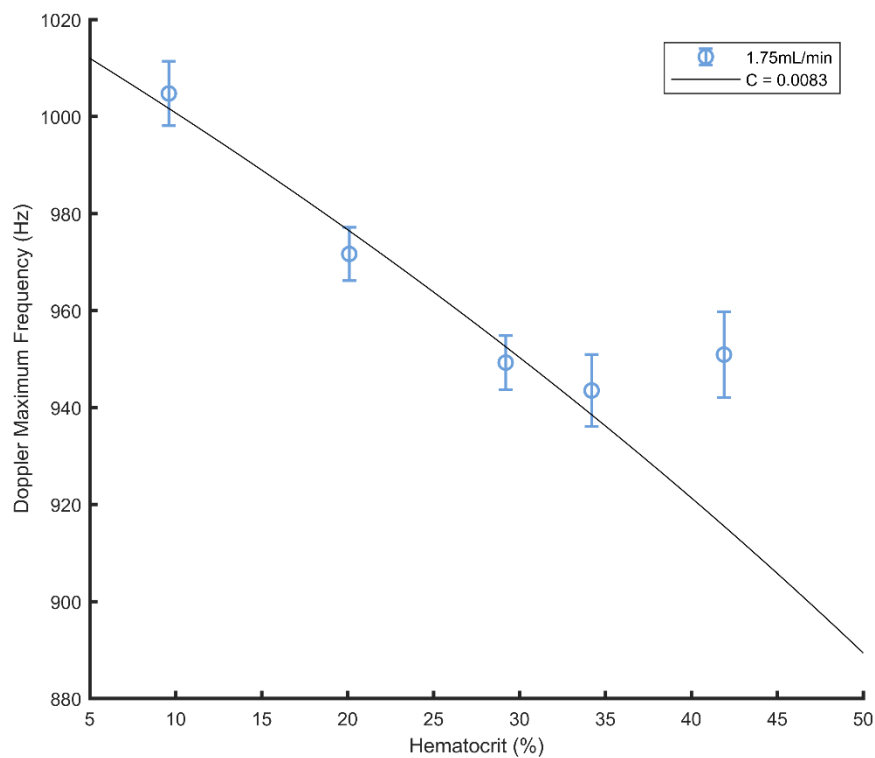


Figure 4. 11 – Décroissance des fréquences Doppler maximum avec l'hémocrite à un débit de 1.75mL/min et avec un ajustement de l'équation (40).

4.2.3 Fréquence Doppler maximum et hémocrite

Supposons que le comportement non-Newtonien du sang en écoulement dans notre système soit modélisable de manière analogue à l'équation (39) de Walburn et Schneck

(1976) établie avec un viscosimètre rotatif. Plus précisément, nous supposons que la viscosité apparente du sang suit une loi de puissance, dont l'indice non Newtonien n décroît avec l'hématocrite selon l'expression suivante ;

$$n = 1 - CH \quad (39)$$

En combinant l'équation (39) avec l'équation Doppler (4), il vient immédiatement la relation suivante entre la fréquence Doppler maximum f_{max} et la fréquence Doppler moyenne f_{mean} :

$$f_{max} = \frac{4 - 3CH}{2 - CH} f_{mean} \quad (40)$$

Nous voyons donc qu'une décroissance de la fréquence Doppler maximum peut être prédite en supposant que le sang en écoulement suit une loi de puissance dont l'exposant décroît linéairement avec l'hématocrite. Réciproquement, si l'équation (40) est vraie, alors nous avons la relation (38) entre V_{moy} et V_{max} . De plus, nous avons $v(r)$ qui est maximum au centre du tube pour $r = 0$. Également, sous l'hypothèse de non-glissement aux parois du tube, $v(r)$ est nulle pour $r = R$. Ainsi, la seule expression possible pour le profil des vitesses est l'équation (21) avec $n = 1 - CH$, qui est l'équation du profil des vitesses d'un fluide suivant une loi de puissance. Reste maintenant à savoir si l'équation (40) peut être utilisée en pratique.

Remarque : Nous pouvons voir que l'équation (40) prédit l'existence d'une fréquence Doppler à un hématocrite nul c'est-à-dire sans la présence de globules rouges dans le sang. Ce cas correspond en fait à celui d'un échantillon de sang transportant seulement des diffuseurs n'induisant pas d'effets non-Newtonien et où l'on aurait donc $f_{max} = 2f_{mean}$.

4.2.3.1 Méthodes

Six poches de sang que nous appellerons B1, B2, B3, B4, B5 et B6 issues de six donneurs différents furent utilisées. Chaque poche fût diluée dans son propre plasma afin d'obtenir un total de 31 échantillons de sang pour les 6 poches et à des hémocrites entre 9.6% et 54.6%. Dix acquisitions ultrasonores furent réalisées pour chaque échantillon et ceci à un débit de 0.25mL/min. Pour chaque acquisition, la fréquence Doppler maximum fût estimée en utilisant l'algorithme d'optimisation décrit dans le Chapitre 2. Finalement, l'équation (40) fût ajustée aux fréquences Doppler maximum estimées avec C et f_{mean} en tant que paramètres.

Aussi, une expérience de contrôle fût menée pour vérifier que la vitesse moyenne du sang restait constante lorsque l'hémocrite augmentait. Cette expérience contrôle fut réalisée avec les échantillons extraits de la poche B5. Pour chaque échantillon, le volume total de sang sorti du dispositif expérimental pendant 4min d'écoulement à 0.25mL/min (soit une vitesse moyenne théorique de 9.4 mm.s^{-1}) fut précisément mesuré à l'aide d'une micropipette (capacité de 0 à 1000 μL avec une résolution de 10 μL). Le débit correspondant fût ensuite calculé puis converti en vitesse moyenne.

4.2.3.2 Résultats

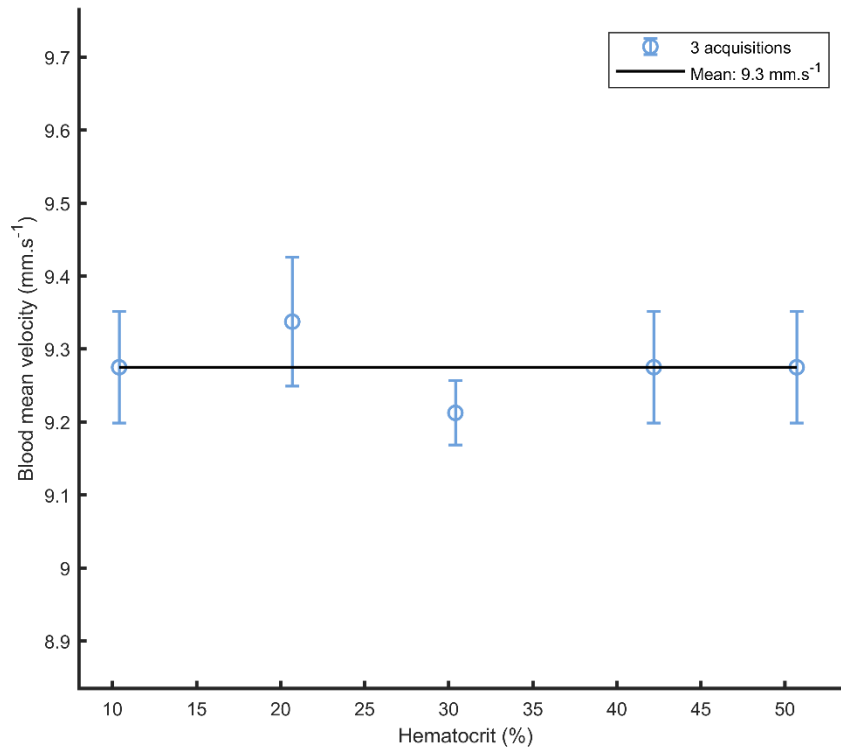


Figure 4. 12 - Evolution de la vitesse moyenne du sang à un débit de 0.25mL/min lorsque l'hématocrite augmente. La vitesse moyenne a été mesurée depuis le volume de sang éjecté à la sortie du tube.

La Figure 4. 12 montre la vitesse moyenne du sang mesurée à l'aide de la micropipette et représentant donc le débit moyen. La vitesse moyenne du sang n'est pas corrélée à l'hématocrite et reste stable lorsque cette dernière augmente. La vitesse moyennée sur tous les hématocrites et acquisitions est égale à $9.3 \pm 0.1 \text{ mm.s}^{-1}$ (pour une valeur théorique de 9.4 mm.s^{-1}).

Les spectres Doppler mesurés pour les échantillons de sang issus de la poche B2 sont montrés dans la Figure 4. 13. La décroissance de la fréquence Doppler maximum avec l'hématocrite est clairement visible.

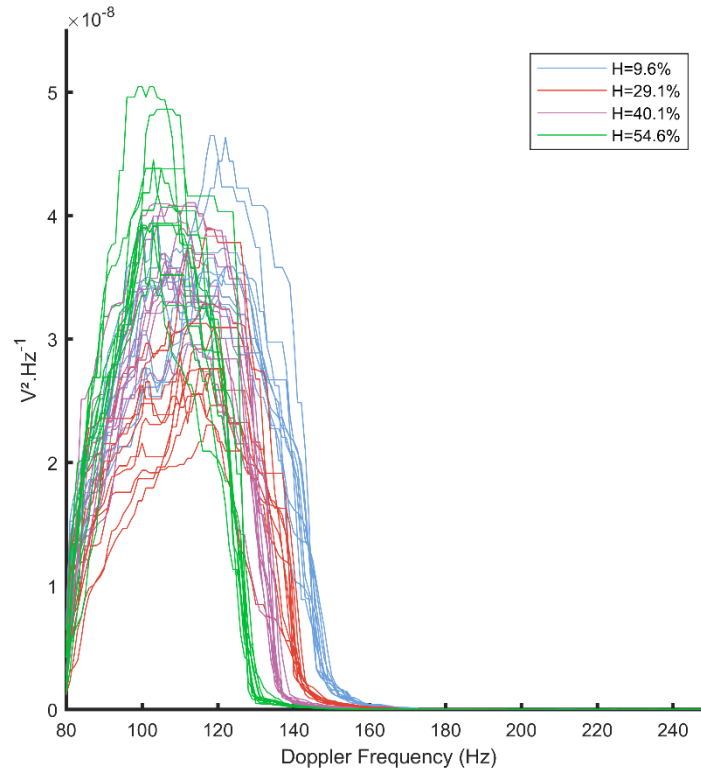


Figure 4. 13 – Variation des densités spectrales de puissance du signal Doppler avec l'hématocrite pour la poche de sang B2.

La Figure 4. 14 montre les fréquences Doppler maximum mesurées pour les 6 poches ainsi qu'un ajustement de l'équation (40) avec C et f_{mean} en tant que paramètres. La valeur de C correspondante est 0.0081 ± 0.0005 . La valeur de la fréquence Doppler moyenne f_{mean} est 73.2 ± 0.3 Hz. L'erreur quadratique moyenne de l'ajustement est de 4.8% Hct.

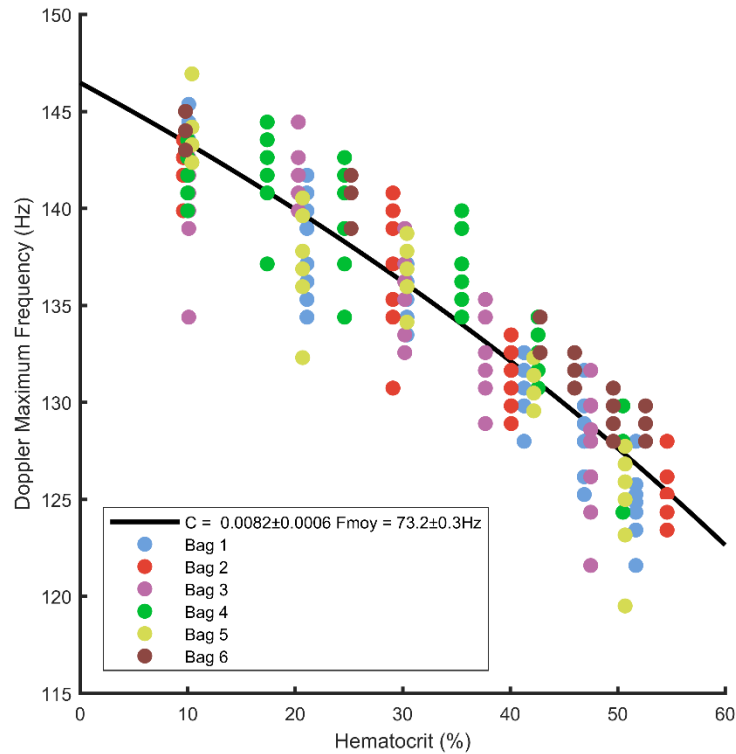


Figure 4. 14 – Ajustement de l’équation (40) avec les fréquences Doppler maximum mesurées pour les 6 poches de sang. Chaque point correspond à 10 acquisitions ultrasonores de 5s chacune.

4.2.4 Influence de la vitesse du son

Comme indiqué par l’équation Doppler (4), la fréquence Doppler à une vitesse du sang donnée est inversement proportionnelle à la vitesse du son. Or, le nombre de globules rouges et donc l’hématocrite jouent une forte influence sur la densité et la compressibilité du sang, dont dépend la vitesse du son. En conséquence, cette dernière augmente avec l’hématocrite. Ainsi, une décroissance de la fréquence Doppler maximum liée à l’augmentation de la vitesse du son devrait également prendre part lorsque l’hématocrite

augmente. Dans un article paru en 2001, Secomski *et al.* ont estimé que la vitesse du son dans le sang augmentait comme $0.9H$, où H est l'hématocrite. Dans l'espace des fréquences Doppler, ceci donne une diminution de 0.04Hz de la fréquence moyenne pour une augmentation de $1\%\text{Hct}$. Une telle diminution peut être incorporée à l'équation (40) de la manière suivante :

$$f_{max} = \frac{4 - 3CH}{2 - CH} (f_{mean(H=0)} - 0.04H) \quad (41)$$

Où $f_{mean(H=0)}$ est la fréquence Doppler moyenne du sang à un hématocrite nul. Comme précisé plus haut, cette quantité correspond en pratique à la fréquence Doppler moyenne qu'indueraient des diffuseurs transportés dans un échantillon de sang dépourvu de globules rouges. Pour un hématocrite donné, la fréquence Doppler moyenne est alors $f_{mean(H=0)} - 0.04H$.

La Figure 4. 15 montre la décroissance de la fréquence Doppler maximum en fonction de l'hématocrite avec un ajustement de l'équation (41). Il peut être constaté que la prise en compte du rôle de la vitesse du son dans la décroissance de la fréquence Doppler maximum diminue la non-linéarité de sa relation avec l'hématocrite. Le coefficient C passe de 0.0081 ± 0.0005 à 0.0069 ± 0.0005 et la fréquence Doppler moyenne à un hématocrite nul est de $73.4 \pm 0.3\text{Hz}$. L'erreur quadratique moyenne est de $4.8\%\text{Hct}$.

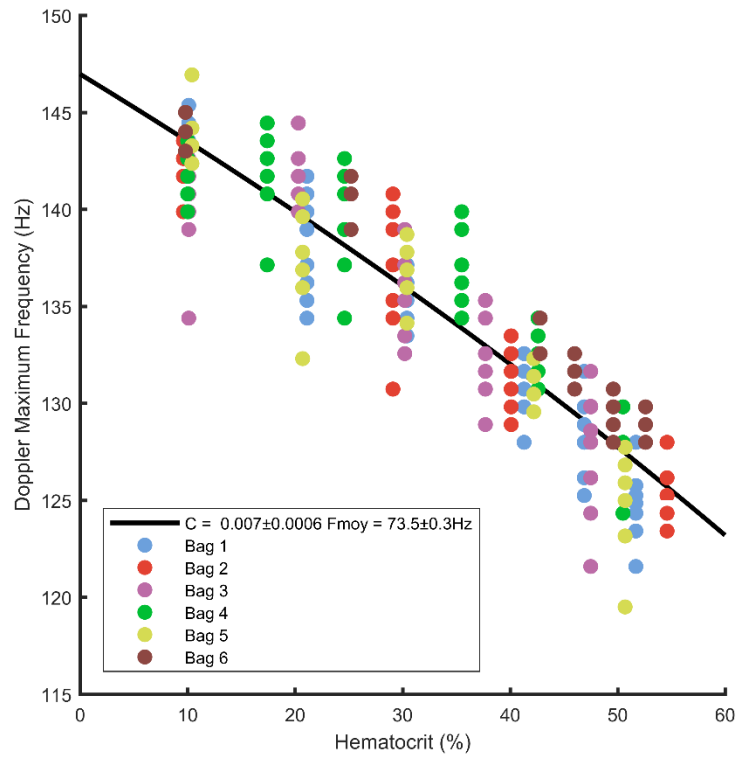


Figure 4. 15 – Ajustement de l'équation (41) avec les fréquences Doppler maximum mesurées pour les 6 poches de sang.

La Figure 4. 16 montre les équations (40) et (41) toutes deux ajustées aux fréquences Doppler maximums mesurées. Dans le but de mesurer l'hématocrite avec les fréquences Doppler maximum, l'écart entre les deux modélisations est négligeable. Par conséquent, nous considérerons l'équation (40) comme une approximation suffisante pour la suite.

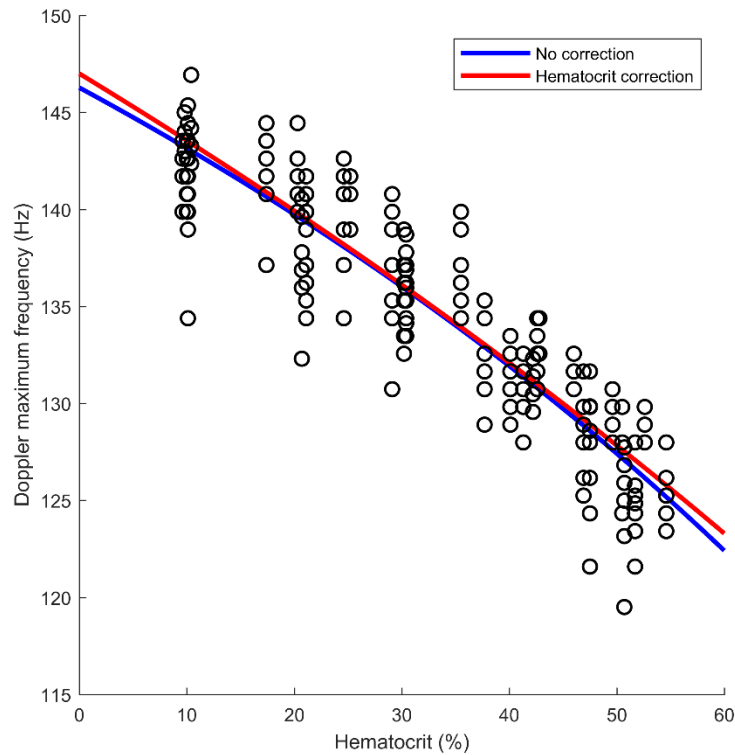


Figure 4. 16 – Ajustement des équations (40) (No correction) et (41) (Hematocrit correction) avec les fréquences Doppler maximum mesurées pour les 6 poches de sang.

4.2.5 Définition de la fréquence seuil

Nos expériences ont démontré que la fréquence Doppler maximum mesurée par notre dispositif décroît avec l'hématocrite en accord avec les propriétés non-Newtoniennes du sang. Nous allons maintenant voir comment cette décroissance peut être utilisée pour mesurer l'hématocrite.

Mais avant, il peut être vu dans la Figure 4. 14 que l'écart-type de la fréquence Doppler maximum mesurée est trop élevé pour être exploitable. Plus précisément, cet écart-type est

trop important pour permettre une mesure de l'hématocrite à partir de la fréquence Doppler maximum avec une précision acceptable (<5% Hct).

Pour rappel, l'algorithme d'optimisation du Chapitre 2 estime la fréquence Doppler maximum en exploitant le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) où cette dernière est située à la moitié de la pente descendante du spectre Doppler. Cette position de la fréquence Doppler maximum a été vérifiée sur un large échantillon d'acquisitions par les auteurs de l'article original et nous l'avons de plus exploitée avec succès dans le Chapitre 2.

Si nous regardons attentivement la Figure 4. 14, nous pouvons constater que les DSPD à un hématocrite donné présentent une variance relativement élevée vers le milieu de leur pente descendante (qui est située entre environ $1,0 \cdot 10^{-8} \text{ V}^2 \cdot \text{Hz}^{-1}$ et $1,5 \cdot 10^{-8} \text{ V}^2 \cdot \text{Hz}^{-1}$). C'est précisément cette variance qui empêche l'algorithme d'optimisation présenté au Chapitre 2 de par exemple clairement discerner les fréquences Doppler maximums des DSPD à un hématocrite à 29% de celles des DSPD à un hématocrite à 40%. Nous pouvons également observer que cette variance tend à diminuer pour les fréquences Doppler correspondant au bas de la pente descendante des DSPD. Ce constat est explicité de manière plus claire par la Figure 4. 17 qui montre à un hématocrite donné la moyenne et l'écart-type de l'amplitude de la DSPD en fonction de la fréquence Doppler et ceci pour les mêmes acquisitions que la Figure 4. 14. Cette figure montre aussi la position de la fréquence Doppler maximum telle que mesurée en ajustant le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) et moyennée sur tous les hématocrites et acquisitions. Il est clair que l'écart-type de la moyenne de l'amplitude des DSPD décroît lorsque la fréquence dépasse la fréquence Doppler maximum prédite par Vilkomerson *et al.* (2011).

Suivant ces observations, nous proposons de définir un estimateur fréquentiel permettant d’exploiter la diminution de la variance des DSPD.

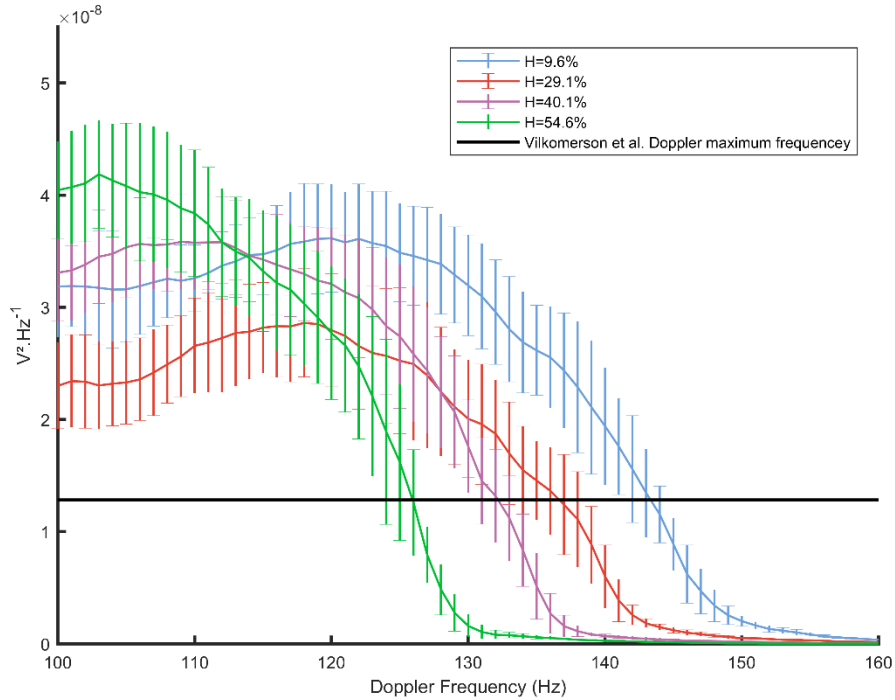


Figure 4. 17 – Moyennes et écarts-types des DSPD en fonction de la fréquence Doppler pour chaque valeur d’hématocrite de la poche B2. La ligne noire représente la position de la fréquence Doppler maximum telle que calculée en utilisant le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) et moyennée sur tous les hémotocrites.

4.2.5.1 Méthodes

La méthode suivante fût appliquée sur les 5 échantillons de sang issus de la poche B5. Tout d’abord, les DSPD de chaque acquisition furent normalisées par la moyenne de leur amplitude entre 1400Hz et 1800Hz. Cette bande fréquentielle fût choisie car elle ne contient pas de fréquences Doppler et reflète ainsi le niveau de bruit des signaux. Ensuite, pour chaque valeur d’hématocrite, il fût déterminé pour quel niveau d’amplitude l’écart-

type de la moyenne des DSPD était minimum. Ce niveau d'amplitude fut ensuite moyenné sur tous les hémocrites à une valeur que nous appellerons le niveau d'amplitude M .

Dans un second temps, le niveau d'amplitude M fût utilisé pour calculer une fréquence appelée fréquence « seuil » pour toutes les acquisitions précédemment réalisées pour les poches B1, B2, B3, B4, B5 et B6. Pour chaque acquisition, la DSPD correspondante fût normalisée selon la procédure tout juste décrite et la fréquence seuil f_{seuil} fût estimée comme la fréquence minimisant l'expression suivante :

$$\|DSPD_N(f_{seuil}) - M\|_2 \quad (42)$$

Où $DSPD_N$ désigne la DSPD normalisée par son amplitude moyenne entre 1400Hz et 1800Hz.

4.2.5.2 Résultats

La Figure 4. 18 reporte l'évolution de l'écart-type de la moyenne des DPSD en fonction de leur amplitude et ceci pour chaque valeur d'hématocrite de la poche B5. La moyenne de ces écarts-types est minimale pour un niveau d'amplitude M de 687.

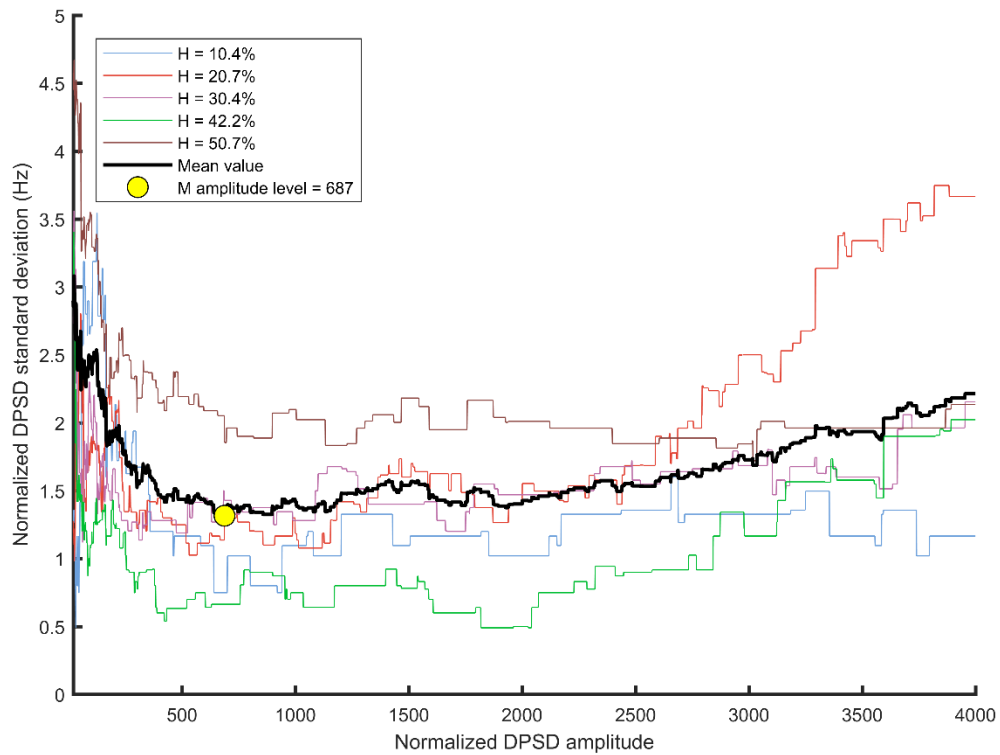


Figure 4. 18 – Evolution de l'écart-type de la moyenne des DPSD normalisées pour les 5 échantillons de sang extraits de la poche B5 en fonction de leurs amplitudes. Le niveau d'amplitude M est défini comme le minimum de la moyenne de l'écart-type pour les 5 échantillons.

La Figure 4. 19 montre les DSPD normalisées issues de la poche B4 à un hématoците de 10% et avec un affichage des fréquences Doppler maximums déterminées avec le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) ainsi que des fréquences seuils (« Threshold Frequency ») déterminées à l'aide de M . La variance de la fréquence seuil est significativement moins élevée que celle de la fréquence Doppler maximum de Vilkomerson *et al.* (2011).

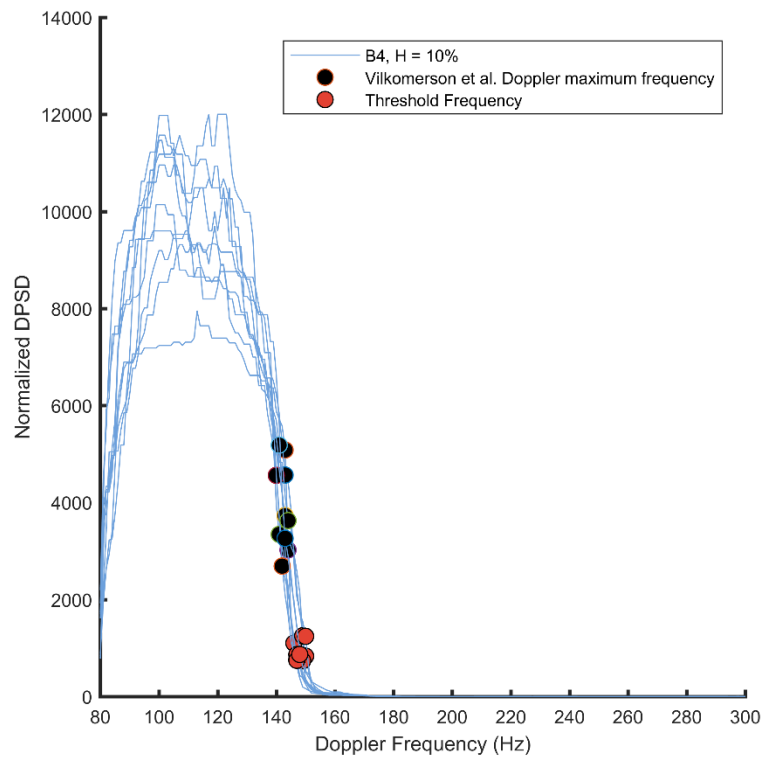


Figure 4. 19 – Fréquences seuils et fréquences Doppler maximums de Vilkomerson *et al.* (2011) pour des DSPD normalisées à un hématokrite de 10% issues de la poche B4.

Une régression linéaire entre les moyennes des fréquences seuils et les moyennes des fréquences Doppler maximums de Vilkomerson *et al.* (2011) est montrée dans la Figure 4. 20. Chaque point de la régression linéaire correspond à la moyenne des fréquences seuils estimées sur une poche de sang à un hématokrite donné en fonction de la moyenne des fréquences Doppler maximum correspondantes. Le coefficient de détermination de la régression est de 0.95 et son erreur quadratique moyenne est de 17.1Hz. Pour la poche B6, les moyennes des fréquences seuils et les moyennes des fréquences Doppler maximums ne semblent pas suivre la même relation linéaire que pour les autres poches.

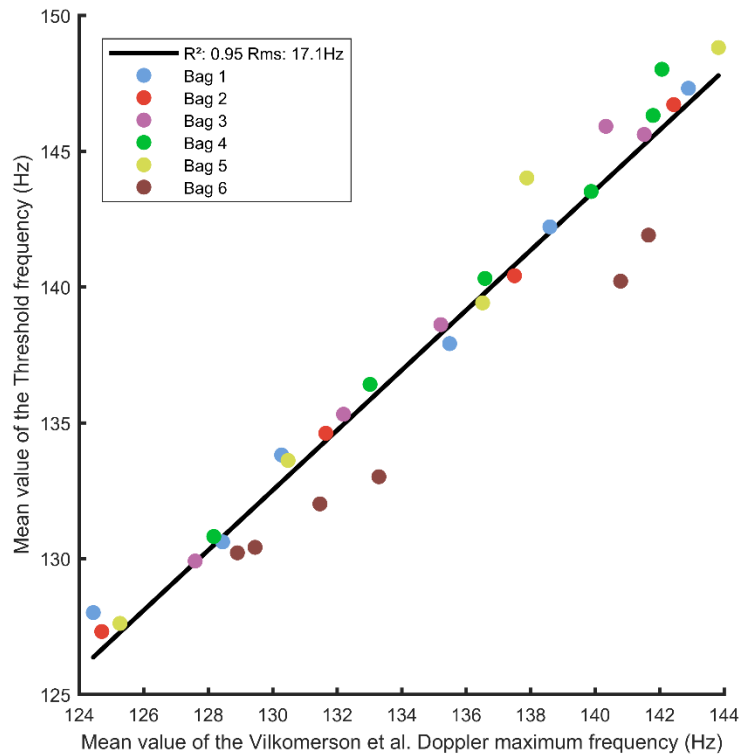


Figure 4. 20 – Régression linéaire entre les moyennes des fréquences seuils et les moyennes des fréquences Doppler maximums estimées à l’aide du modèle de Vilkomerson *et al.* (2011). Chaque point de la régression linéaire correspond à la moyenne des fréquences seuils réalisées sur une poche de sang à un hémocrite donné en fonction de la moyenne des fréquences Doppler maximum correspondantes.

La Figure 4. 21 montre les écarts-types des fréquences Doppler maximums comparés à ceux des fréquences seuils en fonction de l’hémocrite. Chaque point de la figure correspond à l’écart type des 10 acquisitions réalisées sur une poche de sang à un hémocrite donné. Les écarts-types des fréquences seuils sont en moyenne moins élevés de 0.6Hz que ceux des fréquences Doppler maximums.

La fréquence seuil de nos acquisitions est donc plus stable que la fréquence Doppler maximum estimée par le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011). De plus, les deux fréquences ont une corrélation linéaire élevée ce qui indique que la fréquence seuil sera sujette à une

décroissance selon l'hématocrite fortement similaire à celle de la fréquence Doppler maximum. Par conséquent, nous allons pouvoir nous servir de la fréquence seuil pour mesurer l'hématocrite à la place de la fréquence Doppler maximum.

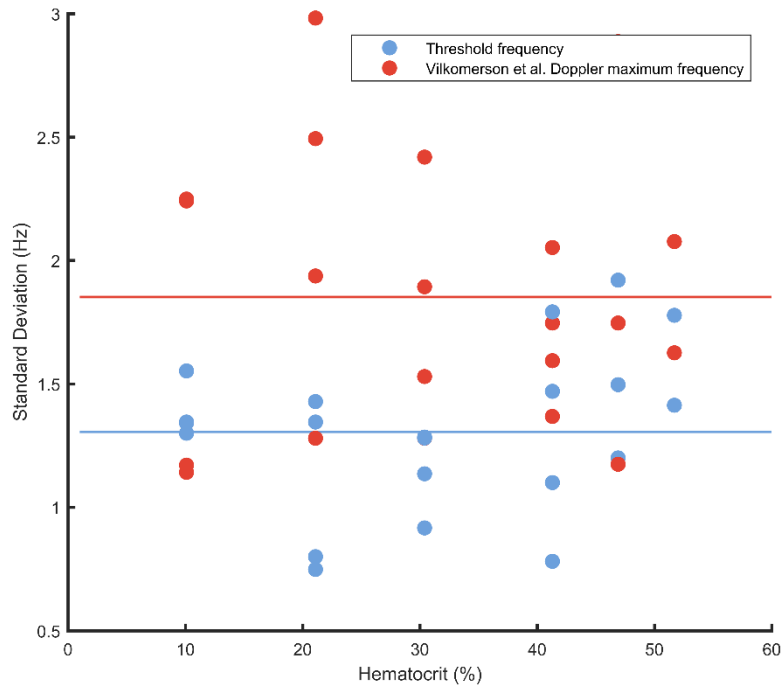


Figure 4. 21 – Ecart type de la fréquence seuil et de la fréquence Doppler maximum de Vilkomerson *et al.* (2011) en fonction de l'hématocrite. Chaque point correspond à l'écart-type des mesures réalisées sur une poche de sang à un hématocrite donné.

Il est à noter que nous pouvons voir avec la poche B6 que, parfois, la relation linéaire entre la fréquence seuil et la fréquence Doppler maximum estimée par le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011) variera. Dans ce cas précis, ceci s'explique par le rapport signal sur bruit plus élevé des acquisitions ultrasonores réalisées pour la poche B6. En effet, comme le montre la Figure 4. 22, ce rapport signal sur bruit plus élevé résulte en une amplitude de la DSPD entre 1400Hz et 1800Hz qui est en moyenne environ deux fois plus élevée pour la poche

B6 que pour les autres poches. Ainsi, les DSPD normalisées de la poche B6 présentent une amplitude moyenne environ 2 fois moins élevée que celles des autres poches, ce qui se répercute ensuite sur la détermination de la fréquence seuil à partir de l'expression (42).

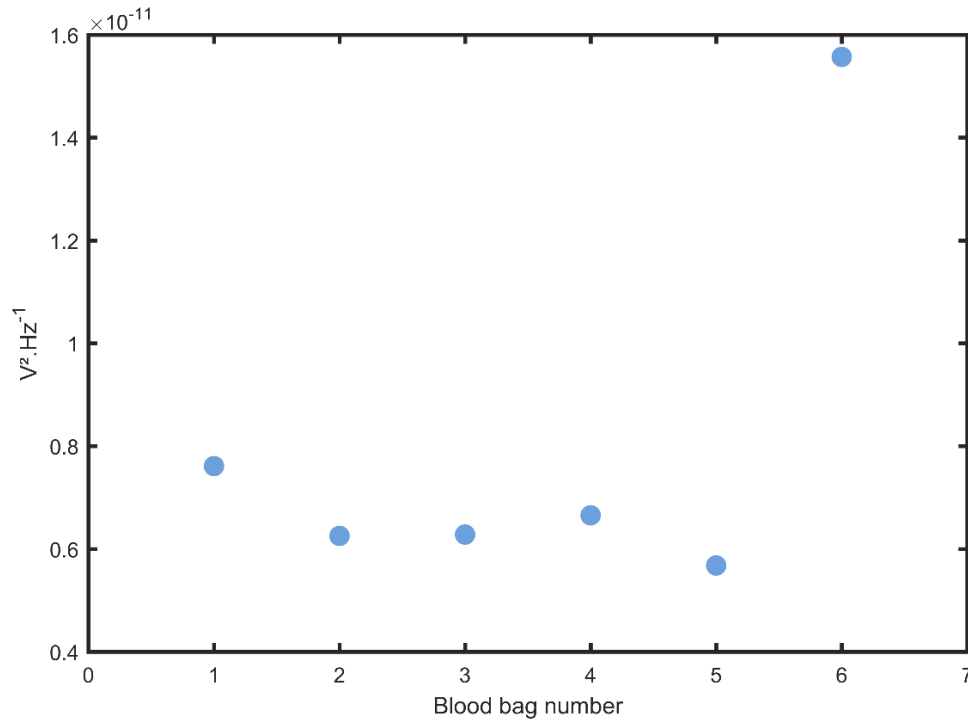


Figure 4. 22 – Amplitude moyenne de la bande fréquentielle utilisée pour normaliser les DSPD affichée pour chaque poche de sang.

4.2.6 *Mesure de l'hématocrite*

4.2.6.1 Méthodes

Afin de réaliser une mesure numérique de l'hématocrite, les poches de sang furent d'abord divisées en deux groupes : un groupe de « mesure » constitué des poches B1, B4 et B6 (16 échantillons au total) et un groupe de « calibration » constitué des poches B2, B3 et B5 (15 échantillons au total). Cette répartition fût réalisée aléatoirement excepté pour la poche B5

qui fût placée d'office dans le groupe de calibration de par son utilisation pour déterminer le niveau d'amplitude M . Des valeurs de calibration furent estimées pour le coefficient C et la fréquence Doppler moyenne f_{moy} en ajustant l'équation (40) aux fréquences seuils estimées sur les poches B2, B3 et B5. Ensuite, ces valeurs de calibration furent utilisées pour estimer l'hématocrite des poches B1, B4 et B6 par minimisation de l'expression suivante :

$$\| f_{seuil} - \frac{4 - 3C'H}{2 - C'H} f_{moy} \|_2 \quad (43)$$

Il est à noter qu'en raison de l'utilisation de la fréquence seuil à la place de la fréquence Doppler maximum, la valeur de calibration de f_{moy} ne correspondra pas tout à fait à la valeur « réelle » de la fréquence Doppler moyenne.

4.2.6.2 Résultats

Les valeurs de calibration du coefficient C et de la fréquence Doppler moyenne estimées sur les poches B2, B3 et B5 sont respectivement 0.0091 ± 0.0006 et 75.7 ± 0.6 Hz.

Le résultat de la mesure d'hématocrite est montré dans la Figure 4. 23 avec une régression linéaire entre les hématocrites mesurées à l'aide de l'équation (43) et celles mesurées par le Pentra. Le coefficient de détermination est de 0.93 et l'erreur quadratique moyenne est de 3.2% Hct. L'erreur moyenne de la mesure est de 3.8 ± 1.2 % Hct.

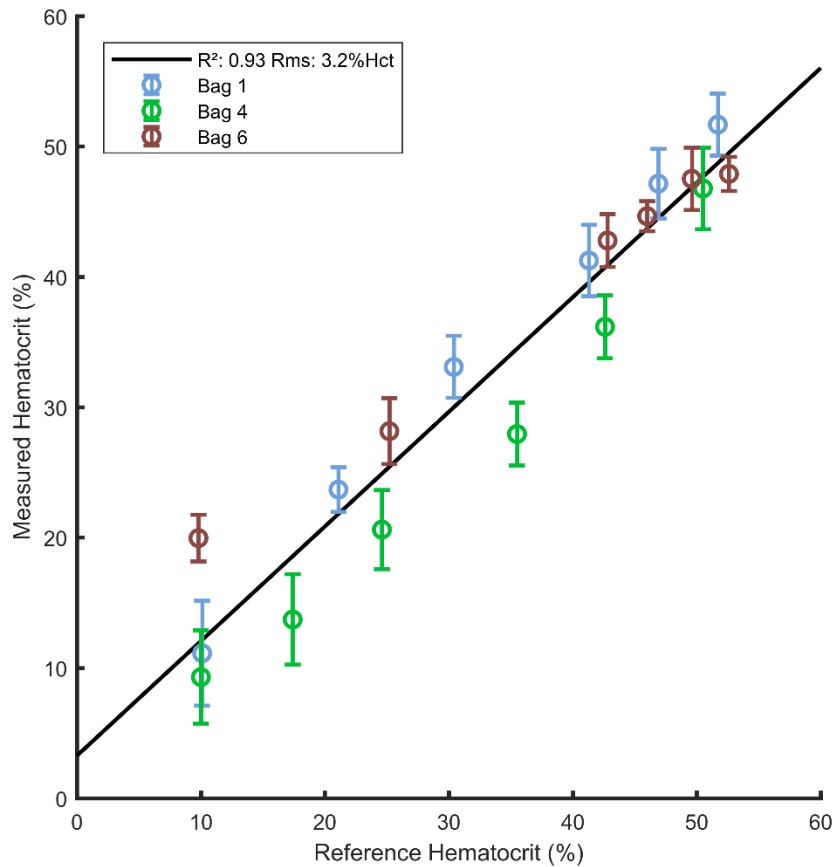


Figure 4. 23 – Mesure de l’hématocrite pour les poches de sang B1, B4 et B6.

L’erreur moyenne de mesure en fonction de la valeur de calibration du coefficient C pour une fréquence Doppler moyenne fixe est montrée en Figure 4. 24. L’erreur moyenne de mesure en fonction de la fréquence Doppler moyenne pour un coefficient C fixe est elle reportée dans la Figure 4. 25. Pour les deux figures, l’erreur augmente fortement dès que les paramètres s’éloignent de leurs valeurs optimales. A noter que les valeurs optimales ne coïncident pas tout à fait avec les valeurs de calibrations utilisées mais sans néanmoins induire de changements significatifs de la précision de la mesure.

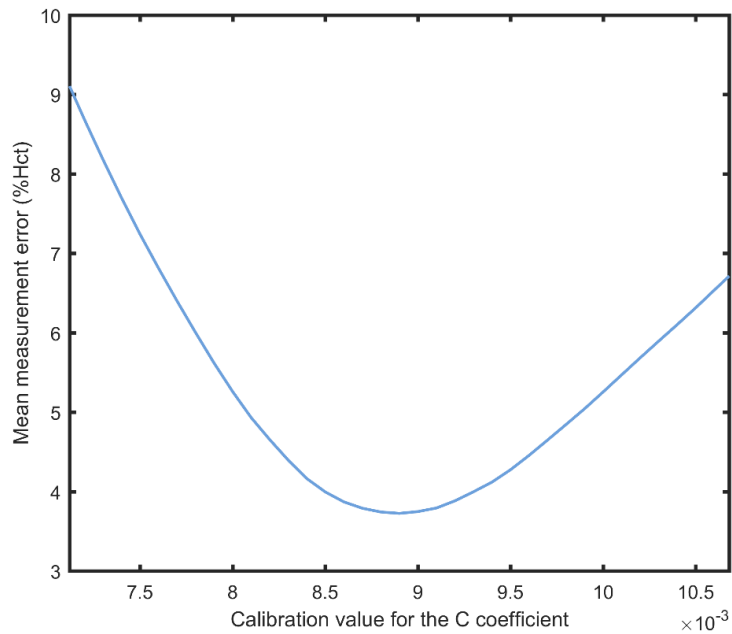


Figure 4. 24 – Erreur de mesure moyenne en fonction de la valeur de calibration utilisée pour le coefficient C.

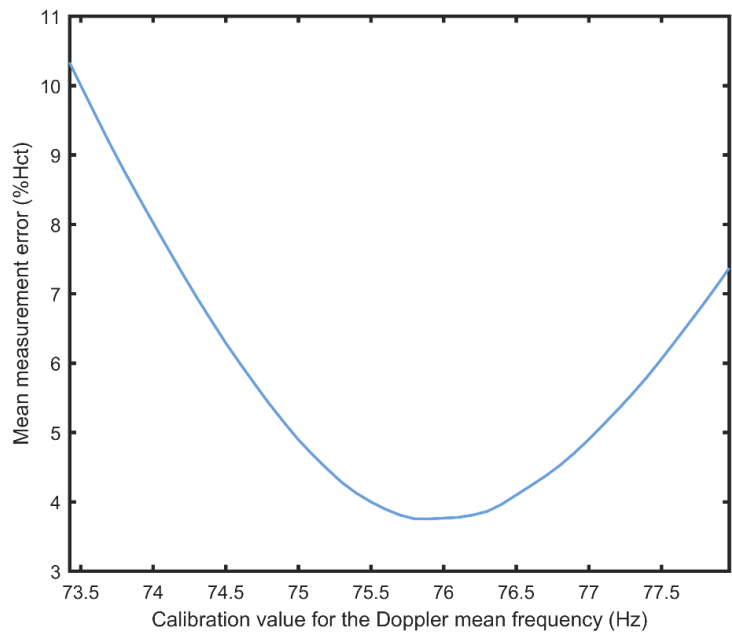


Figure 4. 25 – Erreur de mesure moyenne en fonction de la valeur de calibration utilisée pour la fréquence Doppler moyenne.

4.2.7 Discussion

Nous avons montré dans ce chapitre que le comportement non-Newtonien du sang peut être exploité afin de mesurer l'hématocrite en conditions d'écoulement. Plus précisément, notre système Doppler continu est capable de mesurer de légères diminutions de la fréquence Doppler maximum du sang induites par l'augmentation de l'hématocrite. Cette diminution est modélisable en supposant que la viscosité apparente du sang suit une loi de puissance dont l'exposant décroît avec l'hématocrite. En se basant sur cette modélisation, nous avons démontré sur plusieurs poches de sang comment notre dispositif expérimental peut être calibré afin de mesurer l'hématocrite. Ainsi, nous avons montré comment une méthode ultrasonore de mesure de l'hématocrite peut être simplement réalisée à partir d'une sonde Doppler basique.

Pour du sang s'écoulant à une vitesse moyenne constante, la décroissance de la fréquence Doppler maximum est régie par le coefficient C . Ce coefficient lie l'hématocrite et l'index non-Newtonien n du sang de manière analogue au modèle de Walburn et Schneck (1976). Même en incluant une correction pour prendre en compte les variations de la vitesse du son, la valeur de C est significativement plus élevée que celle du coefficient C_3 , provoquant une décroissance plus marquée de n avec l'hématocrite. Cet écart entre les deux coefficients n'est pas surprenant compte tenu des différences rhéologiques entre du sang dans un viscosimètre et du sang s'écoulant dans un tube. Néanmoins il sera intéressant de quantifier cet écart de manière plus précise à partir d'un échantillon de sang plus large. Pour le moment, nous nous contenterons de retenir que, dans notre dispositif, le coefficient C est suffisamment stable pour permettre une mesure de l'hématocrite.

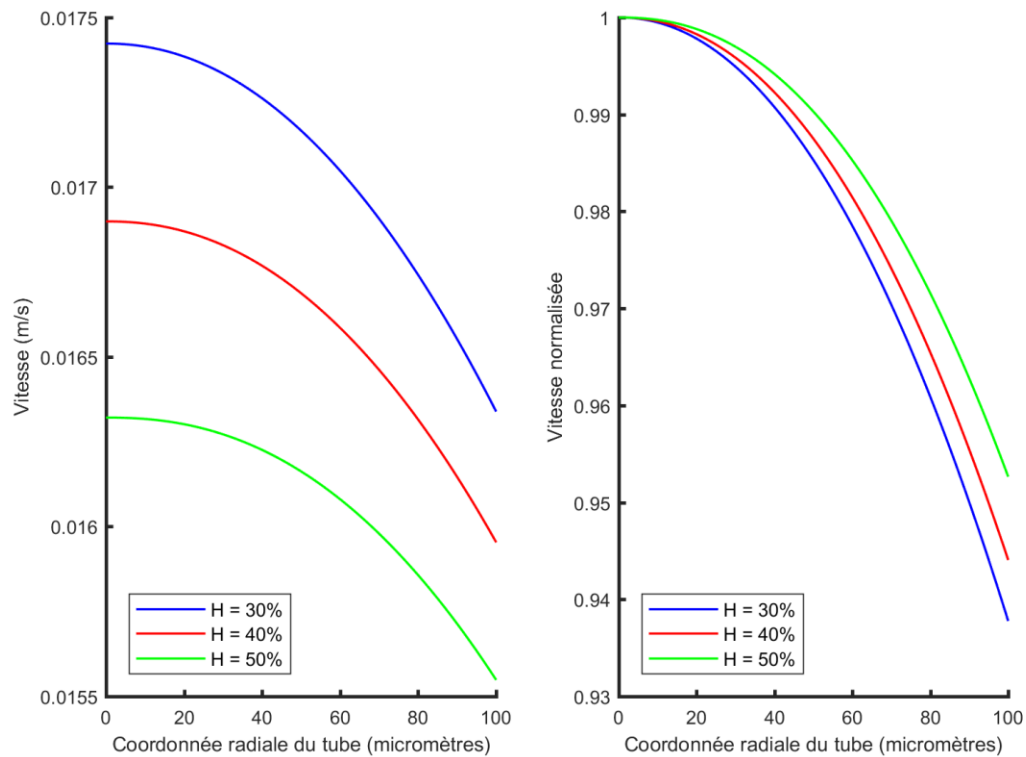


Figure 4. 24 – Evolution du profil des vitesses du sang dans le tube de mesure selon l'équation (21) avec $C = 0.0081$. Le profil des vitesses est montré tel que calculé par l'équation (21) à gauche et normalisé par la vitesse maximum à droite.

Outre le coefficient C , la relation entre la fréquence Doppler maximum et l'hématocrite dépend de la fréquence Doppler moyenne du sang. De par sa dépendance envers la vitesse du son, la fréquence Doppler moyenne décroît avec l'hématocrite mais aussi avec l'augmentation de la température (Rooney et McAlister 1978, Collings et Bajenov 1987). En imagerie ultrasonore, la valeur usuelle de la vitesse du son dans le sang est de $1570\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, ce qui correspond à du sang à un hématocrite physiologique (entre 35% et 50%) à 37°C . Cette valeur de $1570\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ injectée dans l'équation Doppler (4) donne une fréquence Doppler moyenne de 73Hz, très proche des valeurs estimées expérimentalement en utilisant le modèle de Vilkomerson *et al.* (2011). Nos expériences ayant été menées à une

température ambiante d'environ 23°C, cette correspondance est surprenante. Il n'est cependant pas exclu que la valeur de la fréquence Doppler moyenne fut altérée par des artefacts de mesure ou de post-traitement. Dans tous les cas, en pratique, un contrôle en température sera probablement nécessaire pour maintenir la fréquence Doppler moyenne à une valeur suffisamment stable durant la mesure.

En se basant sur la valeur estimée pour C dans la Figure 4. 14, nous pouvons visualiser le changement des profils des vitesses correspondant prédit par l'équation (21). Ceci est donné par la Figure 4. 24, qui montre l'évolution du profil des vitesses en fonction de l'hématocrite avec $C = 0.0081$. Le profil est montré tel qu'estimé par l'équation (21) à gauche et normalisé par la vitesse maximum à droite. L'affichage normalisé fait ressortir le « blunting » du profil des vitesses, qui devient plus prépondérant lorsque l'hématocrite augmente.

Nous n'avons pas directement observé le « blunting » de l'écoulement de sang lors de cette étude en raison du moyennage spatial induit par la largeur du faisceau ultrasonore. Néanmoins, si nous tenons entièrement compte du modèle en loi de puissance utilisé, une décroissance de la vitesse maximum du sang à une vitesse moyenne constante doit nécessairement s'accompagner d'un « blunting » du profil des vitesses. Ainsi, compte tenu du fait que le « blunting » ait déjà été observé pour des conditions d'écoulement où un débit est imposé en entrée du tube (Okuda *et al.* 2003, Ji et Lee 2008), il est concevable que plusieurs observations passées relatives au « blunting » puissent s'appliquer à notre méthode. Notamment, l'augmentation du « blunting » avec la diminution du diamètre du tube de mesure est un phénomène à considérer. En effet, une telle augmentation du « blunting » impliquerait également une augmentation du coefficient C avec la diminution

du diamètre. Cependant, comme expliqué par Gaehtgens *et al.* (1970) et par Goldsmith et Turitto (1986) le « blunting » augmente en particulier lorsque le diamètre du tube tend vers les dimensions des globules rouges. Ainsi, il est possible que cette dépendance envers le diamètre ne soit plus significative au-delà d'un certain diamètre de tube. Plus précisément, Goldsmith et Turitto (1986) ont observé qu'un « blunting » du profil des vitesses de diverses suspensions, dont des globules rouges artificiels, se produisait soit lorsque le rayon moyen des particules dépassait $1/20^{\text{ème}}$ du tube soit/ et lorsque leur concentration volumique dépassait 20%. Dans notre cas, où le diamètre du tube de mesure est bien plus gros que cette limite, la décroissance de la vitesse maximum du sang pourrait selon ces observations être attribuée seulement à l'augmentation de l'hématocrite. Pour des tubes plus gros que notre tube de mesure, les résultats de Yeleswarapu *et al.* (1997) tendent à montrer qu'un « blunting » du sang associé à une décroissance de sa vitesse maximum peut être observé dans des tubes de l'ordre de plusieurs millimètres de diamètre. Cependant il reste à voir si le « blunting » est toujours exploitable dans cette échelle. Nous pouvons notamment nous questionner sur l'effet qu'aura l'augmentation du nombre de Reynolds dans de tels tubes millimétriques, soit à l'influence accrue des effets inertiels sur les effets visqueux. En effet, mis à part l'étude de Yeleswarapu *et al.* (1997), le « blunting » a pour le moment été observé pour des écoulements de sang à basse vitesse dans des diamètres de tubes micrométriques et donc pour des conditions où les effets visqueux sont prépondérants. Il ne doit également pas être oublié que le « blunting » est inversement proportionnel au taux de cisaillement pour un diamètre de tube donné et donc au débit. Ainsi, il devra être évalué pour un tube donné pour quelle variation du débit le coefficient C devient significativement altéré.

L'interdépendance complexe du « blunting » envers le taux de cisaillement, le diamètre du tube, et l'hématocrite pourrait être la cause de l'effet de saturation observé dans le tube de mesure. A la connaissance de l'auteur, cette saturation n'a jamais été observée auparavant. Pour quantifier cette saturation en terme de cisaillement, nous pouvons utiliser un pseudo taux de cisaillement défini de la manière suivante (Reinke *et al.* 1986) :

$$\bar{u} = \frac{Q}{R^3} \quad (44)$$

Pour un diamètre de tube fixe et à un hématocrite donné, le pseudo taux de cisaillement permet d'établir une gamme approximative de débits pour lesquels notre méthode est utilisable. Ainsi, d'un point de vue pratique, les limites de notre méthode seront mises en évidence par une évaluation du pseudo taux de cisaillement maximum permettant de mesurer un hématocrite physiologique en fonction du diamètre du tube. Dans le cas de notre tube de mesure, la valeur du pseudo taux de cisaillement à ne pas dépasser afin de pouvoir mesurer un hématocrite jusqu'à une valeur de 53% est d'environ $118s^{-1}$, ce qui correspond à un débit maximum de 0,38mL/min (Figure 4. 11).

Comme montré par les Figure 4. 22 et Figure 4. 23, la calibration de notre dispositif de mesure est fine. Néanmoins les deux paramètres qu'elle fait intervenir, le coefficient C et la fréquence Doppler moyenne (légèrement décalée de sa valeur réelle de par l'utilisation de la fréquence seuil), devraient pouvoir être maintenus sans trop de difficultés à une valeur stable. En effet, le paramètre C ne dépend que des conditions et du conduit d'écoulement et pourra être précisément caractérisé pour une application donnée. De même, la fréquence Doppler moyenne ne devrait pas fluctuer pour un système d'acquisition donné et avec un contrôle de la température.

La précision moyenne de 3.8% montrée lors de cette étude est suffisante pour démontrer que les variations de la fréquence Doppler maximum avec l'hématocrite permettent de mesurer cette dernière. Bien sûr, nos échantillons de mesure et de calibrations sont trop faibles pour attribuer de manière définitive une telle précision à notre dispositif de mesure. Nous préférons ainsi considérer cette précision comme une démonstration de la faisabilité de notre approche plutôt qu'une affirmation définitive. Il est cependant important de noter que le dispositif expérimental utilisé n'a pas été conçu et optimisé pour sonder des variations aussi fines de la fréquence Doppler maximum. Ainsi, la précision démontrée ici pourra très probablement être augmentée à l'aide de diverses améliorations potentielles. Ces améliorations ont été citées lors du Chapitre 2 et sont l'augmentation de la fréquence ultrasonore, de la puissance acoustique émise, de la fréquence d'échantillonnage ainsi que du nombre de bits sur lesquels le signal est encodé. En particulier, l'augmentation de la fréquence ultrasonore permettrait d'étendre la fréquence Doppler maximum à une valeur plus élevée et donc plus facilement détectable. Ainsi, l'augmentation de la fréquence couplée à une optimisation des paramètres d'acquisition pourrait permettre de mesurer l'hématocrite via la fréquence Doppler maximum sans avoir à utiliser la fréquence seuil. En effet, le principal défaut de la fréquence seuil est sa dépendance envers le niveau de bruit des signaux Doppler. En fait, ce niveau de bruit peut être altéré par des interférences externes durant la mesure et est de plus fortement dépendant des caractéristiques du système d'acquisition à un instant t . Par conséquent, une méthode plus robuste est souhaitable.

Comme démontré par Walburn et Schneck (1976) mais aussi par Hussain *et al.* (1999), la composition du plasma joue un rôle secondaire sur les effets non-Newtonien du sang

comparé à l'hématocrite. Ceci est confirmé par nos résultats pour lesquels la prise en compte de l'hématocrite uniquement est suffisante pour modéliser la décroissance de la fréquence Doppler maximum. Ainsi, notre méthode possède à priori un avantage fondamental sur les méthodes électriques, qui nous le rappelons sont sensibles à des changements de la composition du plasma. Pour concourir avec les méthodes optiques, la précision de notre méthode devra être améliorée. Néanmoins, celle-ci possède déjà l'avantage de pouvoir être mis en place avec un système de mesure extrêmement simple et peu coûteux. Un autre aspect intéressant est que notre méthode utilise la fréquence Doppler maximum, qui est au final un indicateur très simple des phénomènes physiques complexes qui sont à l'œuvre dans le sang. Ceci n'est pas le cas des méthodes optiques qui doivent avoir recours à des capteurs plus élaborés, comme des capteurs à longueurs d'ondes multiples (Meinke *et al.* 2008, Sakota 2013, Netz *et al.* 2015), pour s'affranchir de certaines difficultés inhérentes à la diffusion de la lumière par le sang.

Les techniques de fractionnement du sang semblent être l'application la plus naturelle de notre méthode telle qu'évaluée dans cette étude. En effet, les tuyaux de petits diamètres utilisés dans ces techniques dérivées de la micro fluidique favoriseront les effets non-Newtoniens et en particulier le « blunting » du profil des vitesses. Pour une application à des techniques de circulation extracorporelle, la robustesse de notre méthode aux changements de composition du sang inhérente à ces techniques (hémodilution pour la circulation extracorporelle cardiopulmonaire, surcharge indésirable de fluide pour l'hémodialyse) devra être évaluée. Néanmoins, comme il a été suggéré dans le dernier paragraphe, la diminution de la vitesse maximum du sang devrait rester avant tout régie par l'hématocrite. En revanche, les vraies contraintes des techniques extracorporelles

seront les très hauts débits qu'elles utilisent combinés à des tuyaux de plusieurs millimètres de diamètre. En effet, il restera à voir si des effets non-Newtoniens significatifs peuvent être observés à ces échelles.

Enfin, le débitmètre du Chapitre 2 a été développé sous l'hypothèse que le sang est un fluide Newtonien ce qui se traduit par un facteur 2 fixe entre sa fréquence Doppler maximum et sa fréquence Doppler moyenne. Ici, nous avons montré que cette hypothèse devient fausse au-delà d'une certaine résolution de la mesure de la fréquence Doppler maximum. Cependant, dans une gamme d'hématocrite physiologique (entre 35% et 50%), la Figure 4. 14 nous montre que la fréquence Doppler maximum ne variera au plus que de 10Hz de par les effets non-Newtoniens ce qui donne une erreur maximum de seulement $30\mu\text{L}/\text{min}$ sur la mesure du débit par notre dispositif. Ainsi, l'hypothèse d'un écoulement de sang Newtonien nous semble raisonnable pour la gamme de débit investiguée au Chapitre 2.

4.3 Conclusion du chapitre

Nous avons présenté dans cette étude une nouvelle méthode pour estimer l'hématocrite dans des tubes médicaux. Cette méthode se base sur le comportement non-Newtonien du sang et peut être appliquée à l'aide d'un système ultrasonore très simple et peu coûteux. Notre méthode est prometteuse mais demande encore plusieurs études additionnelles avant que des applications pratiques puissent être clairement identifiées. D'un point de vue plus physique, notre étude démontre qu'un paramètre lié à la composition du sang peut être déterminé en sondant la manière dont celui-ci dévie du

comportement d'un fluide Newtonien. Ceci ouvre la voie pour de nouvelles méthodes et modèles physiques permettant de caractériser le sang depuis cette nouvelle perspective.

4.4 Références

- Alonso, C., A. R. Pries, O. Kiesslich, D. Lerche, and P. Gaehtgens. 1995. "Transient Rheological Behavior of Blood in Low-Shear Tube Flow: Velocity Profiles and Effective Viscosity." *The American Journal of Physiology* 268 (1 Pt 2): H25-32.
- Baker, Mary, and Harold Wayland. 1974. "On-Line Volume Flow Rate and Velocity Profile Measurement for Blood in Microvessels." *Microvascular Research* 7 (1): 131-43.
- Baskurt, Oguz, Bjorn Neu, and Herbert J Meiselman. 2019. *Red Blood Cell Aggregation*. Boca Raton: CRC Press.
- Benis, A. M., S. Usami, and S. Chien. 1971. "Determination of the Shear Stress-Shear Rate Relation for Blood by Couette Viscometry." *Biorheology* 8 (2): 65-69.
- Bugliarello, George, and John W. Hayden. 1963. "Detailed Characteristics of the Flow of Blood In Vitro." *Transactions of the Society of Rheology* 7 (1): 209-30.
- Charm, S., and G. S. Kurland. 1962. "Tube Flow Behavior and Shear Stress-Shear Rate Characteristics of Canine Blood." *The American Journal of Physiology* 203 (September):
- Collings, A, and N Bajenov. 1987. "Temperature Dependence of the Velocity of Sound in Human Blood and Blood Components." *Australasian Physical & Engineering Sciences in Medicine* (July): 123-27.
- Easthope, Peter Lyall, and Donald Elliott Brooks. 1980. "A Comparison of Rheological Constitutive Functions for Whole Human Blood." *Biorheology* 17 (3): 235-47.
- Gaehtgens, Peter, Herbert J. Meiselman, and Harold Wayland. 1970. "Velocity Profiles of Human Blood at Normal and Reduced Hematocrit in Glass Tubes up to 130 μ Diameter." *Microvascular Research* 2 (1): 13-23.
- Goldsmith, H. L, and J. C Marlow. 1979. "Flow Behavior of Erythrocytes. II. Particle Motions in Concentrated Suspensions of Ghost Cells." *Journal of Colloid and Interface Science* 71 (2): 383-407.
- Goldsmith, H. L., and V. T. Turitto. 1986. "Rheological Aspects of Thrombosis and Haemostasis: Basic Principles and Applications. ICTH-Report--Subcommittee on Rheology of the International Committee on Thrombosis and Haemostasis." *Thrombosis and Haemostasis* 55 (3): 415-35.
- Hussain, Mohammad A., Subir Kar, and Ram R. Puniyani. 1999. "Relationship between Power Law Coefficients and Major Blood Constituents Affecting the Whole Blood Viscosity." *Journal of Biosciences* 24 (3): 329-37.

- Ji, Ho Seong, and Sang Joon Lee. 2008. "In Vitro Hemorheological Study on the Hematocrit Effect of Human Blood Flow in a Microtube." *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 40 (1): 19–30.
- Krieger, Irvin M. 1968. "Shear Rate in the Couette Viscometer." *Transactions of the Society of Rheology* 12 (1): 5–11.
- Liepsch, D. W. 1986. "Flow in Tubes and Arteries--a Comparison." *Biorheology* 23 (4): 395–433.
- Lima, R., Takuji Ishikawa, Yohsuke Imai, and Takami Yamaguchi. 2012. "Blood Flow Behavior in Microchannels: Past, Current and Future Trends." *Single and Two-Phase Flows on Chemical and Biomedical Engineering*, 513–47.
- Meinke, Martina, Enno Ott, Ingo Gersonde, Jürgen Helfmann, Hansjörg Albrecht, Gerhard Müller, Andreas Hahn, Michael Kopitz, and Roland Hetzer. 2008. "Clinical Feasibility Tests on a Novel Optical On-Line Blood Monitoring Sensor for Cardiopulmonary Systems." *Medical Laser Application* 22 (January): 248–55.
- Netz, Uwe, Moritz Friebel, and Jürgen Helfmann. 2015. "In-Line Optical Monitoring of Oxygen Saturation and Hematocrit for Cardiopulmonary Bypass: Adjustment-Free and Bloodless Calibration." *Photonics & Lasers in Medicine* 4 (May).
- Okuda, R, Y Sugii, and K Okamoto. 2003. "Velocity Measurement of Blood Flow in a Microtube Using Micro PIV System." In *Proceedings of PSFVIPI*. Chamonix, France.
- Reinke, W., P. C. Johnson, and P. Gaehtgens. 1986. "Effect of Shear Rate Variation on Apparent Viscosity of Human Blood in Tubes of 29 to 94 Microns Diameter." *Circulation Research* 59 (2): 124–32.
- Robertson, Anne, Adélia Sequeira, and Robert G. Owens. 2010. "Rheological Models for Blood." In *Cardiovascular Mathematics*, 1:211–41. https://doi.org/10.1007/978-88-470-1152-6_6.
- Rodkiewicz, C. M., Prawal Sinha, and J. S. Kennedy. 1990. "On the Application of a Constitutive Equation for Whole Human Blood." *Journal of Biomechanical Engineering* 112 (2): 198–206.
- Rooney, J. A., and G. B. McAlister. 1978. "Temperature Dependence of the Velocity of Sound in Suspensions of Erythrocytes." *The Journal of the Acoustical Society of America* 64 (S1): S177–S177.
- Sakota, Daisuke, Yuki Kani, Ryo Kosaka, Masahiro Nishida, and Osamu Maruyama. 2013. "Simultaneous Determination of Hemolysis and Hematocrit in Extracorporeal Circulation by Plasma Surface Reflectance Spectroscopy." In *2013 35th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, 6764–67.
- Secomski, W., A. Nowicki, and P. Tortoli. 2001. "Estimation of Hematocrit by Means of Attenuation Measurement of Ultrasonic Wave in Human Blood." In *2001 IEEE Ultrasonics Symposium. Proceedings. An International Symposium*, 2:1277–80. Atlanta, GA, USA: IEEE.
- Sochi, Taha. 2013. "Non-Newtonian Rheology in Blood Circulation," June.

- Tangelder, G. J., D. W. Slaaf, A. M. Muijtjens, T. Arts, M. G. oude Egbrink, and R. S. Reneman. 1986. "Velocity Profiles of Blood Platelets and Red Blood Cells Flowing in Arterioles of the Rabbit Mesentery." *Circulation Research* 59 (5): 505–14.
- Vilkomerson, D., P. Tortoli, and S. Ricci. 2011. "Determining the Peak Velocity in a Blood Flow from Its Doppler Spectrum." In *2011 IEEE International Ultrasonics Symposium*, 276–79.
- Walburn, F. J., and D. J. Schneck. 1976. "A Constitutive Equation for Whole Human Blood." *Biorheology* 13 (3): 201–10.
- Yeleswarapu, K. K., M. V. Kameneva, K. R. Rajagopal, and J. F. Antaki. 1998. "The Flow of Blood in Tubes: Theory and Experiment." *Mechanics Research Communications* 25 (3): 257–62.

CHAPITRE 5 : CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Ce manuscrit a présenté un système Doppler ultrasonore conçu pour la mesure du débit d'un écoulement de sang *in-vitro* ainsi que de son hématicrite. Ce système fût dimensionné pour les dispositifs de fractionnement par acoustophorèse d'Aenitis ce qui implique notamment une utilisation dans des tuyaux submillimétriques. Le système Doppler avait de plus pour impératif absolu de pouvoir être utilisé sans remettre en cause la stérilité du processus de fractionnement. Nous nous sommes également attachés à donner des pistes pour étendre nos travaux au traitement *in-vitro* du sang en général et notamment aux techniques de circulation extracorporelle. Dans le Chapitre 2, nous avons démontré comment la méthode classique « Doppler continu » pouvait être exploitée d'une manière nouvelle avec un dispositif expérimental basique et afin de mesurer avec une haute précision des débits de sang de l'ordre de quelques centaines de $\mu\text{L}/\text{min}$ à quelques mL/min . Ensuite, nous avons montré dans le Chapitre 3 qu'il était possible à partir des mêmes signaux Doppler de mesurer l'hématocrite du sang dans une gamme inférieure à 8% en considérant l'énergie spectrale totale. Enfin, dans le Chapitre 4, nous avons démontré qu'une exploitation plus fine des spectres Doppler acquis par notre dispositif permet de mesurer l'hématocrite dans une gamme physiologique à l'aide des propriétés non-Newtoniennes du sang.

5.1 Développements futurs

5.1.1 Débitmètre

Les développements futurs du débitmètre se concentreront sur son implémentation dans le dispositif médical d'Aenitis. Pour cela, trouver un couplant autre que l'eau entre la sonde ultrasonore et le tube de mesure sera essentiel. Une fois qu'un couplant optimal aura été identifié, l'adaptation industrielle du débitmètre sera grandement facilitée par son instrumentation très simple mais aussi par l'algorithme d'optimisation qui permettra de le calibrer aisément. Il est à noter que l'utilisation du débitmètre ne se limite pas au sang seul puisqu'il pourra également être appliqué à d'autres suspensions de cellules, ce qui trouve de nombreuses applications dans les techniques microfluidiques destinées à la thérapie cellulaire.

5.1.2 Mesure de l'hématocrite par rétrodiffusion ultrasonore

La mesure d'hématocrite par rétrodiffusion ultrasonore est une approche limitée de par son application restreinte à un écoulement de sang dilué. Cette limitation est en grande partie due à la haute variabilité du sang en tant que milieu acoustique. Nous avons pu constater ceci via la variance importante de l'énergie spectrale Doppler lorsque l'hématocrite est supérieur à environ 13%. Néanmoins, il n'est pas exclu que cette approche puisse être appliquée avec plus de succès pour estimer la fraction volumique de cellules dans des suspensions moins denses que le sang total.

5.1.3 Mesure de l'hématocrite par effets non-Newtoniens

La mesure d'hématocrite à l'aide des effets non-Newtoniens du sang nous semble très prometteuse d'un point de vue applicatif. De manière intéressante, cette approche fait du comportement rhéologique complexe du sang une force plutôt qu'une limitation, ce qui combiné avec sa facilité d'implémentation en font une alternative intéressante aux

méthodes existantes. Les évaluations futures se concentreront sur une mise en évidence plus claire de ses limites avec en point d'orgue la question de son applicabilité à des échelles de débits et de tube plus éloignées de celles de la microfluidique.

5.1.4 *Augmentation de la fréquence d'émission ultrasonore*

En général, l'augmentation de la fréquence d'émission ultrasonore est une piste d'amélioration très intéressante pour nos travaux. En effet, si une telle augmentation permettait d'améliorer la précision de nos mesures, elle pourrait également rendre détectables par ultrasons des cellules aux dimensions inférieures à celles des globules rouges. Ceci permettrait par exemple de pouvoir caractériser les plaquettes sanguines, dont les concentrés sont un produit sanguin de première utilité. Il sera également intéressant d'évaluer les éventuelles répercussions de l'activation plaquettaire sur les signaux ultrasonores. Nous pouvons aussi nous demander si les influences conjointes des globules rouges et des plaquettes sur ces signaux peuvent être discriminées pour du sang total.

5.2 **Perspectives**

Si les techniques de fractionnement du sang n'ont pas été utilisées en tant que telles dans ce manuscrit, leur utilisation n'est pas nécessairement indépendante de la caractérisation ultrasonore. Par exemple, nous pouvons imaginer un appareil compact et entièrement en ligne où l'acoustophorèse servirait à isoler une population cellulaire donnée avant que celle-ci soit caractérisée par un dispositif ultrasonore dans le but d'effectuer un comptage cellulaire ou même un diagnostic. Ainsi, de manière plus générale, le travail présenté dans ce manuscrit pose des bases intéressantes pour les dispositifs futurs de traitement du sang *in-vitro*. Nous pouvons en effet conjecturer que de tels dispositifs seront

capables de filtrer et de fractionner le sang à l'échelle de ses principaux composants cellulaires mais aussi d'analyser ces derniers afin de pouvoir délivrer des diagnostics en temps réel. Grâce à la possibilité de réaliser toutes ces opérations en ligne, ces dispositifs s'affranchiront de plus des limitations des automates d'analyses médicales actuels. Pour aider à ce développement, les approches ultrasonores développées ici sont estimables de par l'accessibilité des techniques d'acquisitions associées mais aussi de par les modèles physiques relativement simples avec lesquels ces derniers peuvent être exploités. Mais également, l'utilisation de la méthode Doppler continu est particulièrement prometteuse de par le haut rapport signal à bruit qu'elle permet d'obtenir à moindre coût et ceci dans des échelles de mesure très fines. Lorsque l'acoustique n'est plus suffisante à elle seule nous avons montré que la physique intrinsèque de l'écoulement de sang, simplifiée par l'environnement *in-vitro*, peut-être elle aussi exploitée selon des modèles relativement basiques. Grâce à la poursuite du développement des techniques microfluidiques et « lab-on-a-chip » nous pouvons ainsi imaginer que des outils de caractérisations du sang miniaturisés hautement précis et se basant sur des physiques multiples verront prochainement le jour. Ces outils pourront s'appuyer sur la riche littérature scientifique se rapportant aux problématiques *in-vivo* et en proposer des adaptations simples afin d'analyser le sang dans des tubes médicaux ou bien dans des canaux.

Nous concluons ce manuscrit en rappelant l'importance capitale des produits sanguins labiles pour la médecine moderne. L'auteur de ce manuscrit espère ainsi que les techniques développées ici pourront un jour contribuer à la fabrication de produits sanguins d'une meilleure qualité, en permettant d'optimiser et de mieux contrôler les procédés qui y sont associés.